



USO DE ESTIMULANTE DE COLÔNIA DE GRANULÓCITOS COMO PREVENÇÃO PARA DESENVOLVIMENTO DE ENDOMETRITE BOVINA

HASAN, Jamile A.¹; DALBEM, Adeline²; SIQUEIRA, Lucas³; WOLKMER,
Patricia³.

Palavras-Chave: Patologia uterina. Imrestor. Neutrófilo.

INTRODUÇÃO

A endometrite é inflamação do endométrio, membrana interna do útero, que ocorre frequentemente como resultado de infecção por bactérias, desencadeando prejuízo na produção leiteira (ARTHUR *et al.*, 1989). O principal mecanismo de defesa responsável pelo controle da contaminação uterina em vacas após o parto é a imunidade inata, a qual atua por meio de respostas fisiológicas, fagocitárias e inflamatórias. A invasão do ambiente uterino por neutrófilos em resposta ao desafio proporcionado pela presença de bactérias é considerada a mais importante resposta fagocitária (AZAWI, 2008). Assim, suplementos ou medicamentos que possam estimular este tipo de imunidade são de grande valia na pesquisa clínica, melhorando a resposta pós-parto a quadros infecciosos.

Neste sentido o projeto tem como objetivo a utilização de citocina bovina, um fator de desenvolvimento de colônias granulocíticas, que estimulem a proliferação dos neutrófilos no pós-parto, reduzindo a contaminação bacteriana mais rapidamente. Desta forma, melhorando a saúde uterina e conseqüentemente incentivando a cadeia produtiva.

METODOLOGIA

A coleta das amostras foi realizada em uma fazenda de criação de vacas leiteiras da raça holandesa, localizada no Município de Salto do Jacuí – RS, a qual possui 290 animais em

¹ Discente do curso de Medicina Veterinária da Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ), bolsista FAPERGS 2017/2018. Email: jamylehasan@hotmail.com

² Discentes do curso de Medicina Veterinária da Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ)

³ Docentes do curso de Medicina Veterinária da Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ). Email: pwolkmer@unicruz.com.br; lusiqueira@unicruz.edu.br



lactação. Foram utilizados 2 lotes de 20 vacas holandesas prenhas (totalizando 40 animais). Um lote recebeu uma dose do Imrestor (fator estimulador de colônia granulócítica), respeitando protocolo estabelecido pelo fabricante (dose de 2,7ml, contendo 15mg de fator estimulador de colônias de granulócitos bovinos, via subcutânea) nos seguintes momentos: 7 dias antes da prevista do parto e até 24h após o parto.

Os animais selecionados para o estudo foram submetidos a 6 coletas de sangue (10 ml) via veia Coccígea, que ocorreram nas seguintes ocasiões: 7 dias antes da data prevista para o parto; no dia do parto; 7 dias pós-parto; 14 dias pós-parto; 30 dias pós-parto; 45 dias pós-parto. Destas, 4 ml do sangue foi armazenado em tubos contendo anticoagulante ácido etileno diaminotetracético (EDTA) a 10%, para realização de hemograma completo e atividade da mieloperoxidase no plasma. O restante do sangue armazenado em tubos sem anticoagulante do qual foi obtido o soro por centrifugação.

A contagem de eritrócitos, leucócitos e a concentração de hemoglobina foram determinadas através de contador celular eletrônico (ABX Micros ESV 60 Horiba Hematology Analyzer®). A contagem diferencial realizada mediante análise de 100 células por lâmina, em campo de 1000 x de um Microscópio Olympus Cx31. Desta forma foi possível avaliar o estímulo na produção de neutrófilos. A atividade da mieloperoxidase (MPO) plasmática (ng/mL) foi realizada através de protocolo bioquímico estabelecido. O teste de para análise da peroxidacão lipídica no plasma baseia-se na detecção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico – teste TBARS-MDA.

Aos 14 e 45 dias pós-parto os animais foram avaliados, quanto a saúde uterina. Os resultados foram utilizados para análise de eficácia do produto no controle de endometrite. A avaliação do útero dos animais foi baseada na técnica Sheldon *et al.* (2006), quanto ao diagnóstico de inflamações uterinas, que associa técnica citológica endometrial, vaginoscopia e ultrassonografia. Sendo que, na endometrite clínica o animal apresenta corrimento mucopurulento, endométrio espessado e presença de líquido uterino. Já a endometrite subclínica é aquela com uma quantidade maior que 5% de neutrófilos nas amostras citológicas coletadas por swab uterino, sem apresentação clínica

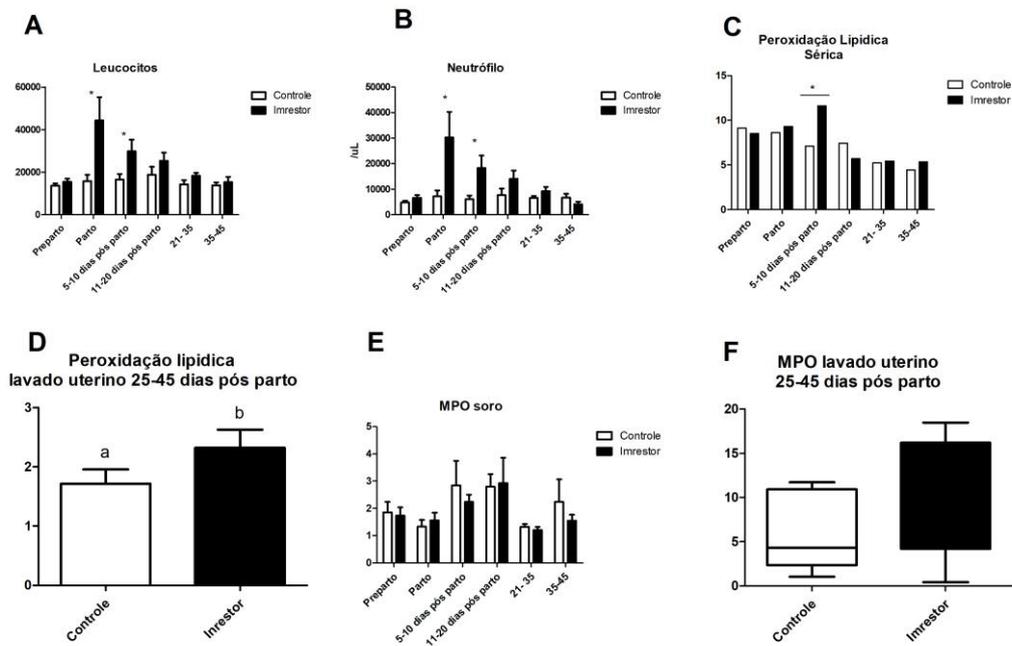
RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados estão apresentados nas Figuras 1, onde fica demonstrado que a utilização da citocina (Imrestor) foi capaz de elevar o número de leucócitos, devido ao aumento no



número de neutrófilo (Figura 1 A e B), melhorando assim a imunidade inata dos bovinos. Porém, esse elevado número de neutrófilos podem ter resultado em inflamação local, o que gera estresse oxidativo, e este pode ser um dos principais mecanismos subjacentes de estímulo na produção de citocinas pró-inflamatória, além da ação direta no dano celular oxidativo aumentando a peroxidação lipídica (avaliada via TBARS), como observado na Figura 1 C e D. Tanto na circulação como no útero.

Figura 1A: Contagem total de leucócitos sanguíneos; B: Contagem neutrófilos sanguíneos; C Peroxidacão Lipídica sérica; D: Peroxidacão Lipídica uterina (lavado); E: Mieloperoxidase (MPO) plasmática; F1E: Mieloperoxidase (MPO) uterino (lavado) em diferentes tempos (preparto, parto e pós-parto) de bovinos leiteiros da raça Holandesa que receberam (Grupo Imrestor) ou não (Grupo Controle) fator estimulador de colônia granulocítica (n=10/grupo).



Contudo, não observamos alteração significativa na enzima MPO (Figura 1D e E), está é abundante nos neutrófilos, possui uma proteína lisossomal armazenada nos seus grânulos, e liberada após a ativação de neutrófilos em processos fagócitos e inflamatórios, contribuindo para a imunidade inata. Porém, quando elevada, devido sua ação com o peróxido de hidrogênio forma radicais livres e substâncias oxidantes que podem causar danos oxidativo no tecido.

Além disso, observamos que dos 20 animais que receberam o produto (Imrestor) 6 apresentaram endometrite, enquanto o grupo controle 4/20 animais apresentaram endometrite.



Estes dados preliminares apontam que o produto não parece ser eficaz no controle de endometrite em bovinos de leite.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados prévios apontam que, a utilização do fator de desenvolvimento de colônias granulocíticas em bovinos leiteiros estimula a proliferação dos neutrófilos no pós-parto. Entre tanto, este efeito não parece resultar em efeitos benéficos quanto à saúde uterina, pois desencadeou maior dano oxidativo no útero após o parto, além de não ser capaz de reduzir o número de casos de endometrite no grupo que recebeu o tratamento. Mais estudos estão sendo realizados para compreender esta resposta.

REFERÊNCIAS

ARTHUR, G.H.; NOAKES, D.E.; PEARSON; H. Veterinary Reproduction and Obstetrics. 6th ed. Baillière Tindall, Philadelphia, PA. 1989.

AZAWI, OI. Postpartum uterine infection in cattle. Anim Reprod Sci, v.105, p.187-208, 2008.

SHELDON IM, LEWIS GS, LEBLANC S, GILBERT RO,: Defining postpartum uterine disease in cattle. Theriogenology v.65, p. 1516–1530, 2006.