

XVIII

CIC

XI ENPOS
I MOSTRA CIENTÍFICA



Evoluir sem extinguir:
por uma ciência do devir



EFEITOS DA INDUÇÃO DE HIPOCALCEMIA SOBRE OS PARÂMETROS METABÓLICOS EM OVINOS

MONTAGNER, Paula¹, HOFFMANN, Dustin André Chaves¹; LIMA, Márcio Erpen¹; FAROFA, Tiago dos Santos¹; SCHNEIDER, Augusto²; SCHMITT, Eduardo³; DEL PINO, Francisco Augusto Burkert⁴; BIANCHI, Ivan⁵; CORRÊA, Marcio Nunes⁵.

¹ Graduando em Medicina Veterinária - UFPel

² Médico Veterinário, Doutorando em Biotecnologia - UFPel

³ Médico Veterinário, Doutorando em Veterinária - UFPel;

⁴ M.C. Dr. Professor Adjunto – Departamento de Bioquímica - UFPel

⁵ M.C. Dr. Professor Adjunto – Departamento de Clínicas Veterinária - UFPel

Universidade Federal de Pelotas

Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC)

Campus Universitário – 96010 900 - Pelotas/RS - www.ufpel.edu.br/nupeec

E-mail: nupeec@ufpel.edu.br - Tel: (53) 3275 7295

1. INTRODUÇÃO

O Cálcio (Ca) é um macroelemento essencial na formação do esqueleto, na coagulação sanguínea, na regulação do ritmo cardíaco, na contração muscular, controlando a liberação de trifosfato de adenosina (ATP) no sistema actina miosina. Serve como co-fator enzimático, atua na alteração do potencial de membrana, entre outras importantes funções (GONZÁLEZ & SILVA, 2006). O Ca encontra-se no plasma na forma ionizada (45%), ligado a proteínas como a Albumina (aproximadamente 45%) e o restante ligado a ácidos orgânicos (SANTOS, 2006)

A manutenção da normocalcemia é vital para a sobrevivência e a homeostase de vários processos funcionais, para proporcionar tal condição vários mecanismos são empregados, destacando-se o papel regulador de hormônios, que atua na absorção ou reabsorção de Ca (ORTOLANI *et al.*, 2006). O organismo animal apresenta atividade intensa para manter as concentrações de Ca principalmente no período de puerpério, devido à produção de colostro e posteriormente de leite, que predis põem ao quadro de hipocalcemia (GONZÁLEZ & SILVA, 2006).

A manifestação da hipocalcemia ocorre, quando as demandas diárias de Ca pela glândula mamária, sobrepõem a capacidade do PTH e vitamina D de manter a homeostase da calcemia, ocorrendo graves problemas para o organismo animal (SANTOS, 2006). Levando a alteração na ativação de proteínas fosforiladoras, devido ao Ca⁺⁺ atuar como mensageiro celular necessário para o potencial de membrana requerido para acionar a secreção de insulina (NELSON & COX, 2002).

A utilização do ácido dietilenodiaminotetracético dissódico (EDTA) é um modelo experimental para indução de quadro clínicos de hipocalcemia em bovinos

(MELLAU *et al*, 2001), devido ao poder de quelação com o Ca ionizável. O EDTA também é empregado para inibir a coagulação sanguínea, pois o Ca é necessário na cascata de coagulação, e quando este ligado ao EDTA os eventos responsáveis pelo fenômeno da coagulação sanguínea são paralisados(LOPEZ *et al.*, 2007).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o protocolo experimental de indução hipocalcêmica em ovinos, com solução injetável de EDTA.

2. MATERIAIS E METODOS

O experimento foi realizado no pavilhão de ovinos localizados nas dependências do Hospital de Clínicas Veterinárias da UFPEL. Foram utilizados durante o experimento 15 animais da espécie ovina, sendo estes fêmeas multíparas, todas híidas e encontrando-se no final da gestação. As ovelhas eram de raça não definida, com peso médio de 39 Kg.

Durante o período de adaptação e do experimento os animais foram mantido em semi-confinamento, recebendo diariamente feno, 300 kg de concentrado comercial, o qual era oferecido duas vezes ao dia e pastagem de *Pennisetum glaucum* (milheto), *ad libitum*, durante seis horas diárias.

Os animais foram sorteados ao acaso, sendo dividido em dois grupos, Grupo Controle (GC) com sete animais e Grupo Indução (GI) com oito animais. A indução foi realizada entre 6 a 12 horas após o parto com solução de EDTA a 5%, com pH ajustado com cloreto de sódio. A solução foi injetada através de cateter intravenoso, na veia jugular externa, a concentração de 0,25mmol/kg/min. O GC não recebeu solução fisiológica devido ao fato que volume administrado seria muito pequeno.

Foram realizadas coletas de sangue em todos os animais nos dia 1, 2, 3, 4 e 5, após o parto, antes da alimentação, através da venopunção da veia jugular, distribuindo o sangue em dois tubos. Um tubo contendo anticoagulante(EDTA) e inibidor da via glicolítica (Fluoreto de Potássio 12%) e o segundo tubo sem solução. Após a coleta o sangue foi submetido a centrifugação durante 15 minutos a 3000rpm para separação da série vermelha, obtendo assim o plasma (tubo com EDTA) e soro (tubo sem solução), sendo armazenado em eppendorffs identificados e mantidos resfriados a 4°C durante a realização das análises sanguíneas.

Os níveis séricos de Ca, Glicose, Magnésio (Mg) e Gama Glutamil-transferase (GGT) e Fósforo, foram analisados por colorimetria utilizando Kits enzimáticos (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil) utilizando para leitura o espectrofotômetro de luz visível (FEMTO® 700 Plus).

A análise estatística foi realizada pelo programa SAS, pelo método de medidas repetidas por análise de variância, usando-se o teste de Turkey-Kramer.

3. RESULTADOS E DICUSSÃO

A Tabela 1 apresenta as médias obtidas durante o experimento para os dois grupos, podendo-se observar que os grupos diferem nas variáveis bioquímicas de fósforo ($p < 0,05$) e Ca ($p < 0,09$).

Tabela 1: Níveis Séricos (mg/dl) para Grupo Controle e Grupo Tratamento

Variáveis	Grupo Controle		Grupo Indução	
	mg/dl	SE	mg/dl	SE

Glicose	58,30	3,4221	53,03	3,1819
Ca	9,45 ^a	0,3340	8,62 ^b	0,314
Mg	19,37	0,2974	24,85	0,2814
GGT	123,81	13,3600	94,13	94,1266
Fósforo	39,19 ^c	0,5691	56,56 ^d	0,5426

Letras sobrescritas diferentes na mesma linha diferem significativamente em ^{cd} ($p < 0,05$) e tendenciosamente em ^{ab} ($p < 0,09$)

O EDTA após ser infundido no sangue troca seus dois cátions (Na^+) por dois átomos de Ca^{++} , formando com este elemento uma forte ligação tornando o Ca^{++} inativo para realizar suas funções no organismo (MELLAU *et al.*, 2001). Em comparação os valores de Mg se mantiveram semelhantes entre os dois grupos, fato apresentado por CESCO *et al.*, (2004) devido a menor afinidade que este possui em relação ao Ca^{++} . O Mg é um cátion bivalente, assim como o Ca^{++} , que se quela ao EDTA, o fato do peso molecular do Ca ser maior que o peso molecular do Mg, pode ter induzir a maior afinidade do EDTA pelo Ca, não apresentando diferenças entre os grupo para a variável Mg.

Os teores de fósforo apresentaram diferença significativa entre os grupos, sendo menor no GI, entretanto em vacas com hipocalcemia é comum a ocorrência de hipofosfatemia, devido à menor reciclagem de fósforo no trato digestivo destes animais e maior excreção renal (SANTOS, 2006). MELLAU *et al.*, (2001) sugere que a elevação dos teores de fósforo pode estar relacionada com tremores musculares, aumentado a demanda de consumo de energia com transformação de ATP em ADP e liberação de fosfato na corrente sanguínea.

A atividade da enzima GGT apresenta-se acima do fisiológico nos dois grupos, fato característico no período puerpério, decorrente do aumento no metabolismo animal (GONZÁLEZ & SILVA, 2006). No entanto, não houve diferenças entre os dois grupos, indicando que não ocorreu agravamento das lesões hepáticas decorrentes da infusão do EDTA.

Os níveis glicêmicos, demonstrados no gráfico 1, apresentaram diferença para dia ($p < .005$) e para dia e grupo ($p < .04$). A glicose manteve-se elevada no dia 1 nos dois grupos. Este fato pode estar ligado ao estresse do parto, onde este provoca a liberação de cortisol, o qual estimula a gliconeogênese com rápida liberação de glicose (CESCO *et al.*, 2004).

Níveis séricos de Glicose

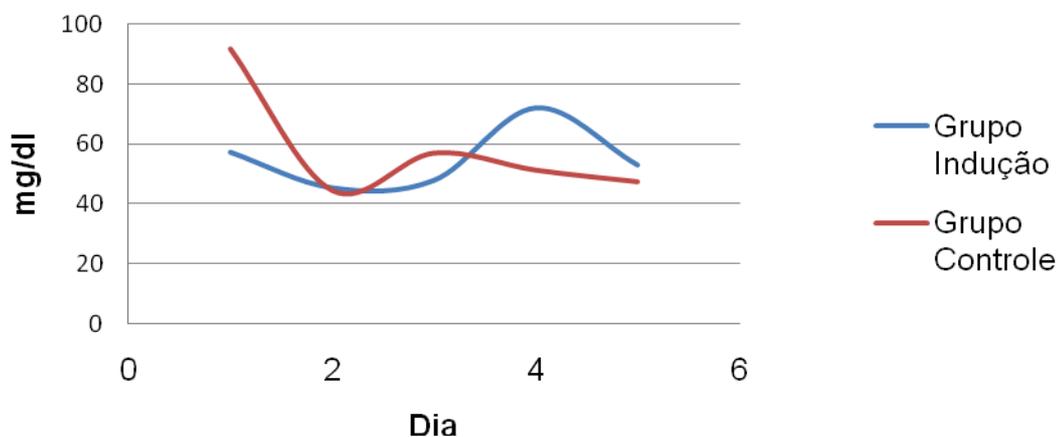


Gráfico 01: Variação dos níveis séricos de glicose observados durante a indução.

O GI apresentou menores níveis séricos de glicose no dia 1 com $p < .005$, em relação ao GC e ao dia 2 para o próprio grupo. A entrada de Ca^{++} no citosol de células β pancreáticas provoca diferença no potencial de membrana necessário para a liberação de insulina (NELSON & COX, 2002). Com a infusão de EDTA o Ca^{++} deixa de ser biologicamente ativo, levando a menores níveis circulante de glicose, fato observado por SCHLUMBOHM & HARMEYER (2003).

4. CONCLUSÃO

Concluiu-se que a quantidade administrada de EDTA foi suficiente para diminuir o nível sérico de Ca, acarretando com isto a diminuição dos níveis circulante de glicose.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CESCO, F. T. R. S.; FAGLIARI, J.J.; SILVA, S. L.; MARTINS FILHA, L.P. Contribuição ao modelo experimental de hipocalcemia em vacas induzidas pela infusão intravenosa de Na_2EDTA . ARS Veteriária, v. 20, n. 2, p. 180-184, 2004.

GONZÁLEZ F. H. D.; SILVA S. C.; Introdução a bioquímica clínica veterinária, 2ª edição; Porto Alegre: Editora da UFGRS, 2006.

LOPES, S. T. A.; BIONDO A. W.; SANTOS, A. P. Manual de Patologia Clínica Veterinária - 3. ed. – Santa Maria: UFSM/Departamento de Clínica de Pequenos Animais, p107, 2007.

MELLAU, L, S. B.; JORGENSEN, R. J.; ENEMARK, J.M.D. Plasma calcium, inorganic phosphate and magnesium during hypocalcaemia induced by a standarzid EDTA infusion in cows. Acta Veterinary Scandinavian, V. 42, p. 251-260, 2001.

NELSON, D.L. & COX M. M. Lehninger Princípios da Bioquímica, Editora Sarvier-SP, 4ª edição, 2002.

production in hyperketonemic sheep. J. Dairy Sci., v. 86, p1953–1962, 2003.

SANTOS, J. E. P. 2006, Distúrbios Metabólicos; In: BERCHIELLI T. T.; PIRES, A. V.; OLIVEIRA, S. G; Nutrição de Ruminantes, Jaboticabal/ FUNEP, 583 p.

SCHLUMBOHM, C.; HARMEYER, J. Hypocalcemia reduces endogenous glucose

STATISTIX®, Statistix for Widows user's manual. ED. Analytical software. Tallahassee, Fl. 2003.