



AVALIAÇÃO OXIDATIVA DO LAVADO UTERINO DE BOVINOS DE LEITE COM ENDOMETRITE

GARLET, Natalia;¹ DA SILVA, Rúbia;² WOLKMER, Patricia;³ SIQUEIRA, Lucas
Carvalho;³

Palavras-Chave: Inflamação. Endométrio. Útero. Pós parto.

INTRODUÇÃO

São vários os fatores que afetam a eficiência reprodutiva dos rebanhos leiteiros, sendo as patologias uterinas consideradas causas importantes de baixa fertilidade, responsável pelo aumento no intervalo entre partos, com reflexo negativo na rentabilidade da atividade, pelo aumento no custo de produção. Entre as doenças que afetam esse sistema cita-se a endometrite, inflamação do endométrio, a membrana mucosa interna do útero, que ocorre frequentemente como resultado de infecção por bactérias. A característica marcante da endometrite é a alta concentração de neutrófilos no lúmen uterino, na tentativa de fagocitar e impedir a proliferação bacteriana. Esse acúmulo de neutrófilo gera secreção purulenta, característica da endometrite clínica (LEBLANC et al., 2002). As espécies reativas de oxigênio (ROS) são produzidas, essencialmente, durante a fosforilação oxidativa e por ativação de células fagocíticas durante uma explosão oxidativa. A produção excessiva de ROS pode levar ao dano em lipídeos, proteínas, membranas e ácidos nucleicos e também serve como um importante sinalizador intracelular que amplifica respostas inflamatórias.

O objetivo deste trabalho é avaliar a inflamação uterina de bovinos e o dano oxidativo no uterino através de marcadores da peroxidação lipídica (TBARS) no lúmen uterino de vaca holandesas apresentando endometrite sub clínica e clínica. Analisar a atividade de enzimas antioxidantes no lavado uterino em vacas apresentando endometrite sub-clínica e clínica.

¹ Discente do curso de Medicina Veterinária da Unicruz, estagiária bolsista PIBIC/UNICRUZ pelo Laboratório de Patologia Clínica. E-mail: nataliagarlet@hotmail.com.

² Discente do curso de Medicina Veterinária da Unicruz, estagiária bolsista PROBITE/FAPERGS. E-mail: ruschalle@gmail.com.

³ Docentes do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Cruz Alta. E-mail: lusiqueira@unicruz.edu.br wolkmer@unicruz.edu.br



MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados bovinos com 25-45 dias pós parto em fazenda de criação de vacas leiteiras da raça holandesa localizada no COREDE Alto Jacuí – Rs. Estes animais foram submetidos a exame clínico completo, avaliação ginecológica (combinação de avaliação da secreção uterina, palpação uterina transretal e ultrassonografia) e citológica uterina. Isso permitiu a classificação dos animais em 3 grupos: animais saudáveis (n=10); animais com endometrite clinica (n=10) e animais com endometrite subclínica (n=10) técnica que combina palpação, ultrassonografia.

Para avaliação bioquímica do perfil oxidativo as amostras do conteúdo uterino foram obtidos através do lavado uterino de baixo volume. Resumidamente: a região da vulva e do períneo são limpas e a de infusão de plástico estéril inserido na vagina até ser posicionado intrauterino. Após, 20 mL de solução estéril de cloreto de sódio a 0,9% foi introduzido no útero via pipeta de infusão. O útero é massageado suavemente durante cerca de 10s e parte do fluido infundido aspirado através da mesma pipeta de infusão. O fluido recolhido foi transferido para um tubo de plástico estéril, refrigerado transportado para o laboratório para posterior processamento (dentro de 4 h). As amostras foram homogeneizadas no vortex e posterior centrifugadas, sendo o sobrenadante utilizado para determinação do perfil oxidativo.

A peroxidação lipídica foi determinada por meio do teste de formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), em espectrofotômetro a 535nm. Os níveis de TBARS serão expressos em nmol de MDA/g de proteína. A atividade da catalase (CAT) foi determinada por decomposição do H₂O₂ e leitura realizada em espectofotometria a 240nm pelo método de Nelson e Kiesow (1972). A atividade será expressa como x10⁻⁹ moles/mg de proteína. Os níveis de glutathiona (GSH) foram avaliados por espectofotometria por método descrito por Beutler et al., 1963 e expressa em ug/ mg de proteína.

Análise estatística foi realizada por análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey. Os dados foram considerados significativamente diferentes com uma probabilidade (P) menor que 5%.

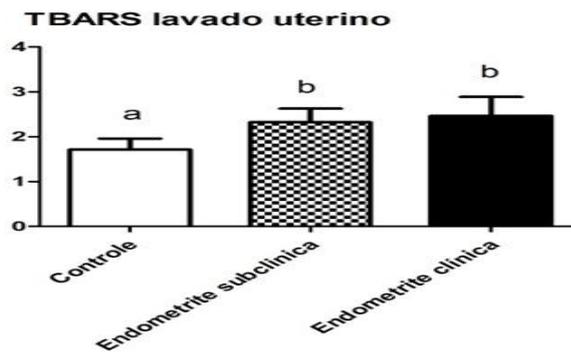
RESULTADOS E DISCUSSÕES

Pode ser observado que o processo inflamatório desencadeado pela endometrite tanto clinica quanto subclínica aumenta a peroxidação lipídica, avaliada via TBARS quando comparado com animais saudáveis (Figura 1). As TBARS são comumente medidas como um



marcador indireto de estresse oxidativo. São formadas a partir de produtos de degradação durante a oxidação de ácidos graxos insaturados (peroxidação lipídica), por ataque de ROS. Na presença de patógenos no útero, os neutrófilos são as células de defesa recrutadas mais rapidamente da circulação sanguínea para o ambiente uterino. Posteriormente, macrófagos também auxiliam na remoção dos patógenos (SHELDON; DOBSON, 2004). Caso a infecção/inflamação permaneça, ocorre a endometrite com presença dos neutrófilos os quais produzem ROS, as quais são essenciais para a destruição dos microrganismos fagocitados. Contudo sua produção constante e elevada de ERO no ambiente uterino resulta em efeitos deletérios, com danos celulares, desencadeado a peroxidação lipídica.

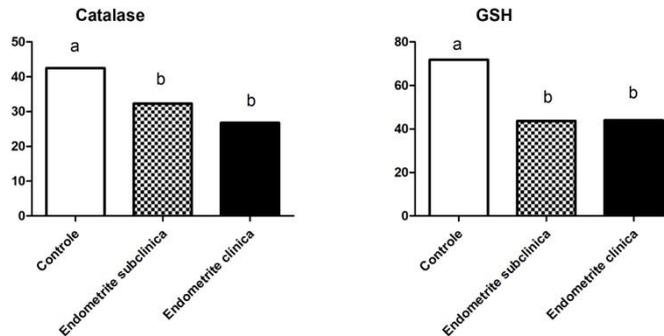
Figura 1: Peroxidação Lipídica no lavado uterino, avaliada pelos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), bovinos da raça Holandesa apresentando endometrite clínica e subclínica, avaliadas entre 25-45 dias pós parto ($P < 0.05$, Tukey's) ($n=10$ /grupo).



Para atenuar a evolução de danos às moléculas biológicas, existe um organizado sistema antioxidante e detoxificador formado por antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. O Sistema não enzimático glutatona reduzida (GSH) e glutatona oxidada (GSSG) assume papel importante nesse cenário. Como observada na Figura 2 e 3, ocorreu redução na atividade das enzimas antioxidantes analisadas. Sob condições de excesso de agentes oxidantes, tal qual condicionado na infecção experimental, haverá diminuição da atividade da catalase (componente enzimático) e desequilíbrio entre o consumo de glutatona reduzida (GSH) e a produção de glutatona oxidada (GSSG) (JONES, 2006). Já em situações em que o sistema de oxirredução estivesse íntegro, haveria recuperação da GSH. A análise indireta do estresse oxidativo, feita por meio da concentração destas enzimas, pode fornecer informações importantes sobre o desequilíbrio redox.



Figura 2: Avaliação antioxidantes no lavado uterino de bovinos apresentando endometrite clínica e subclínica A) Catalase (CAT) B) Glutathiona reduzida (GSH) Bovinos da raça Holandesa, avaliadas entre 25-45 dias pós parto ($P < 0.05$, Tukey's) ($n=10$ /grupo).



CONSIDERAÇÕES FINAIS

As patologias uterinas são muito comuns no rebanho leiteiro, sendo a endometrite a principal delas, acometendo vacas no pós parto, onde se encontram mais suscetíveis. A endometrite resulta em um processo inflamatório e consequentemente um desequilíbrio redox. Sendo que as alterações observadas, provavelmente contribuem para a lesão endometrial que ocorre durante a patologia.

REFERÊNCIAS

- JONES, D. P. Redefining oxidative stress. **Antioxidants & redox signaling**, v. 8, n. 9-10, p. 1865-1879, 2006.
- LEBLANC, S. J. et al. Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 9, p. 2223-2236, 2002.
- NELSON, Dennis P.; KIESOW, Lutz A. Enthalpy of decomposition of hydrogen peroxide by catalase at 25 C (with molar extinction coefficients of H₂O₂ solutions in the UV). **Analytical biochemistry**, v. 49, n. 2, p. 474-478, 1972.
- SHELDON, Iain Martin; DOBSON, H. Postpartum uterine health in cattle. **Animal reproduction science**, v. 82, p. 295-306, 2004.