

COBRE SÉRICO E ENZIMAS RELACIONADAS AO SEU METABOLISMO EM OVINOS NO RIO GRANDE DO SUL

SERUM COPPER AND COPPER RELATED LIVER ENZYMES IN SHEEP OF RIO GRANDE DO SUL

U. REZLER^{1*}, L. A. O. RIBEIRO², C.T.DREYER², C. M. LEHUGEUR², S. CARNESELLA², M. CECIM¹

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi identificar as concentrações séricas de cobre e enzimas aspartatoaminotransferase (AST) e gamaglutamiltransferase (GGT), tanto em ovinos preparados para exposição e alimentados com concentrados como criados a campo, a fim de contribuir para a formação de valores de referência e auxiliar no prognóstico da saúde desses animais. Colheram-se 120 amostras de sangue de animais de exposição e 110 de animais de campo, independente de sexo, raça e idade. Os níveis séricos médios de cobre, AST e GGT dos animais de exposição e a campo foram iguais a $66,14 \pm 9,76$ e $62,01 \pm 16,36$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($P < 0,0357$); $85,01 \pm 40,02$ e $65,58 \pm 16,19$ UI ($P < 0,0001$); $41,02 \pm 10,61$ e $41,91 \pm 9,49$ UI ($P > 0,05$), respectivamente. Em conclusão, a concentração de cobre em ovinos preparados para exposição mostraram-se dentro dos valores de referência e as de alguns animais mantidos a campo abaixo do intervalo fisiológico. Os níveis séricos de AST aumentados no grupo exposição parecem estar relacionados com o acúmulo hepático de cobre.

PALAVRAS CHAVE: Aspartatoaminotransferase, Gamaglutamiltransferase, Intoxicação Crônica por Cobre, Ovino.

SUMMARY

The aim of this work was to determine serum copper levels, aspartate aminotransferase (AST) and gamma-glutamyl transferase (GGT) activity in purebred show sheep fed concentrate and field sheep raised on natural pastures of Rio Grande do Sul, the southernmost State of Brazil. Blood samples of 120 show sheep and 110 field raised animals were collected independently of age, sex and breed. Mean serum levels of copper found on purebred and field sheep were 66.14 ± 9.76 and 62.01 ± 16.36 $\mu\text{g}/\text{dl}$ ($P < 0.0357$), respectively. AST activity was higher in show sheep than in field animals (85.01 ± 40.02 vs. 65.58 ± 16.19 IU, $P < 0.0001$). GGT activity levels found were 41.02 ± 10.61 and 41.91 ± 9.49 IU, with no significant differences between groups. It is concluded that serum copper levels of purebred show sheep group were within international reference values for the species, whereas in the grass grazed group, the level of this mineral was below the lower limit in several individuals. Enhanced AST serum activity in blood samples of show sheep examined appear to be related to copper liver levels detected in these animals.

KEYWORDS: Aspartate Aminotransferase, Chronic Cooper Poisoning, Gamma-Glutamyl Transferase, Sheep.

¹Universidade Federal de Santa Maria, autor para correspondência: birarezler@gmail.com

²Universidade Federal do Rio Grande do Sul

INTRODUÇÃO

No Rio Grande do Sul (RS), após a crise da lã dos anos 70, a criação de ovinos com aptidão carne cresceu acentuadamente, tornando-se comuns doenças de origem metabólica e nutricional, destacando-se a Intoxicação Crônica por Cobre (ICC). Segundo Soli (1980), os ovinos são mais vulneráveis a essa alteração do que outras espécies de produção. Essa sensibilidade é atribuída ao mecanismo de excreção de cobre pelo sistema biliar dessa espécie menos eficiente (FIGHERA, 2001).

Casos de ICC vêm sendo descritos no RS, quase sempre, em ovinos estabulados e alimentado com concentrados (RIBEIRO, 1985; RIET-CORREA et al., 1989). A primeira referência dessa intoxicação, no Brasil, foi em 1966 em ovinos preparados para Exposição no RS. Os autores apontaram dietas com altos níveis de cobre, estresse e mudança de ambiente como fatores desencadeantes (GALVÃO & WILLIAMS, 1966).

Mais recentemente, Möllerke & Ribeiro (2005) pesquisaram por dois anos consecutivos, o teor de cobre em rações comerciais oferecidas a ovinos de uma feira agropecuária do RS. Os valores médios situaram-se entre 11,3 e 16,3 mg/kg. Conforme Wells et al. (2000), esses valores encontram-se acima dos tolerados pela espécie ovina, que seriam de 10mg/kg.

Mensurações dos níveis séricos das enzimas AST e GGT, além do cobre, vêm sendo estudadas a fim de auxiliar no diagnóstico e tratamento dessa doença. Möllerke & Bernhard (2002), citam que o nível sérico dessas enzimas está diretamente relacionado ao tempo de exposição dos animais ao cobre. Lemos et al. (1997) monitoraram grupos de ovinos, submetidos a dieta diária contendo entre 15 e 120 mg/kg de cobre através da mensuração dos níveis séricos de GGT e AST. Foi detectada elevação dos níveis de GGT entre duas e três semanas antes do surgimento dos sinais clínicos de ICC, sendo que os níveis de AST elevaram-se somente durante ou imediatamente antes da crise hemolítica. Foi sugerindo que a avaliação dos níveis séricos de GGT seria o melhor parâmetro para avaliação prévia da lesão hepática.

Devido às divergências existentes na literatura sobre os níveis séricos fisiológicos de cobre, AST e GGT e pela pouca informação dos valores de referência locais, foi conduzido o presente trabalho, tendo por objetivo verificar os níveis séricos de cobre e enzimas AST e GGT em ovinos preparados para exposição e criados a campo, a fim de contribuir para a formação de valores de referência, detectar possíveis deficiências e auxiliar no prognóstico da saúde dos animais dessa espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente experimento foi dividido em dois grupos. O primeiro grupo, denominado grupo exposição consistiu na colheita de amostras de sangue de ovinos criados para exposição e presentes na 29ª edição da Exposição Internacional de Animais,

Máquinas, Implementos e Produtos Agropecuários do Rio Grande do Sul (29ª Expointer), em Esteio, RS, entre agosto e setembro de 2006, e o segundo, denominado grupo campo, na colheita de amostras de sangue de ovinos criados extensivamente no município de Pantano Grande, RS, em outubro de 2006.

Ambos os grupos foram selecionados ao acaso, independente de raça, sexo ou idade. Do grupo exposição, 120 animais, com idade variando entre um e dois anos, foram submetidos à colheita. Esses animais permaneciam em baias individuais, recebiam água *ad libitum* e alimentação baseada em ração comercial, feno e pastagem. Do grupo campo foram submetidos à colheita 110 animais. Esses animais recebiam água *ad libitum* e sua alimentação baseada apenas em pastoreio de campo nativo.

As amostras de ambos os grupos foram colhidas através de punção da veia jugular, usado tubos vacutainer (Becton-Dickinson, Rutherford, NJ, USA) de 10 mL, sem anticoagulante. Foram centrifugadas a 2500 rpm por 15 minutos e o soro armazenado em tubos de 1,5 mL do tipo *eppendorf*, identificados e congelados a -20°C para posterior análise, que foi realizada em período não superior a duas semanas.

A concentração sérica de AST e GGT foi determinada através de *kit* comercial (Labtest, Minas Gerais, Brasil), e do cobre sérico através de espectrofotometria de absorção atômica (Espectrofotômetro GBC 932 AA, modo de absorção com chama de ar + acetileno), conforme técnica descrita por Fick et al. (1980). A estatística constou de uma análise de variância ANOVA, sendo a comparação entre médias feita pelo teste “t” de Student.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios de cobre, AST e GGT séricos estão reunidos na Tabela 1. Os níveis séricos de cobre dos dois grupos, na sua grande maioria, ficaram dentro dos padrões sugeridos por Kaneko et al. (1997) e Underwood & Suttle (1999), de 58 a 160 µg/dL. A análise dos dados, por outro lado, mostrou que quase a metade dos animais do grupo campo (33/72) e alguns animais do grupo exposição (24/106) revelaram níveis séricos de cobre abaixo do nível mínimo para a espécie mencionado. Esses resultados são mostrados graficamente na Figura 1. Valores normais de cobre no soro de ovinos criados a campo no RS não são disponíveis na literatura, sendo os dados aqui apresentados a primeira referência. Casos de carência ou mesmo intoxicação por esse elemento em ovinos criados a campo não sido registrado em nosso meio. Os níveis de cobre verificados em pastagens do RS por Gaviolon & Quadros (1976) de 5,3 mg/kg, parecem suprir as necessidades da espécie. Entretanto, os mesmos autores encontraram níveis de molibdênio no pasto de 0,1 mg/kg, o que, estaria nos valores limítrofes necessários para interferir com a absorção do cobre. Finalmente, Kaneko et al. (1997) e Underwood & Suttle (1999) citam valores de cobre sérico entre 126 e 158 µg/dL como zona potencialmente hemolítica

Tabela 1. Concentrações séricas médias do elemento cobre e enzimas AST e GGT de ovinos machos e fêmeas preparados para exposição e criados a campo na depressão central do Estado do Rio Grande do Sul.

	COBRE (58-160 µg/dL)*	AST (0-90 UI)*	GGT (20-52 UI)*
Exposição	66,14 ± 9,76 ^a	85,01 ± 40,02 ^a	41,02 ± 10,61 ^a
Campo	62,01 ± 16,36 ^b	65,58 ± 16,19 ^b	41,91 ± 9,49 ^a

AST = aspartatoaminotransferase; GGT = gamaglutamiltransferase;
 Letras diferentes na coluna indicam diferença significativa P < 0,05.

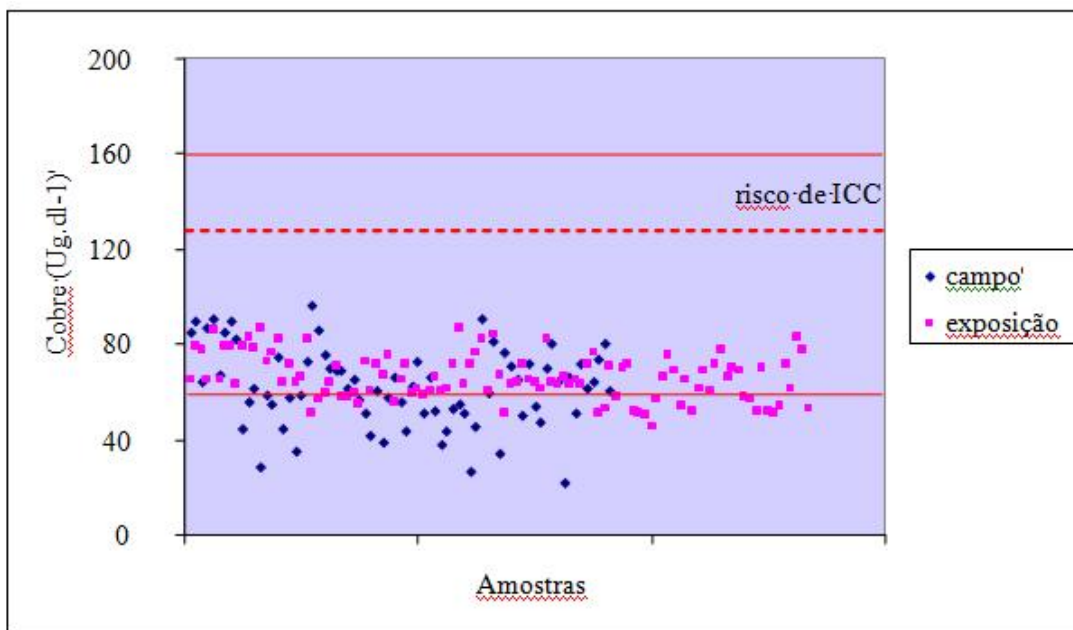


Figura 1 - Concentrações séricas de cobre de ovinos machos e fêmeas criados no Rio Grande do Sul

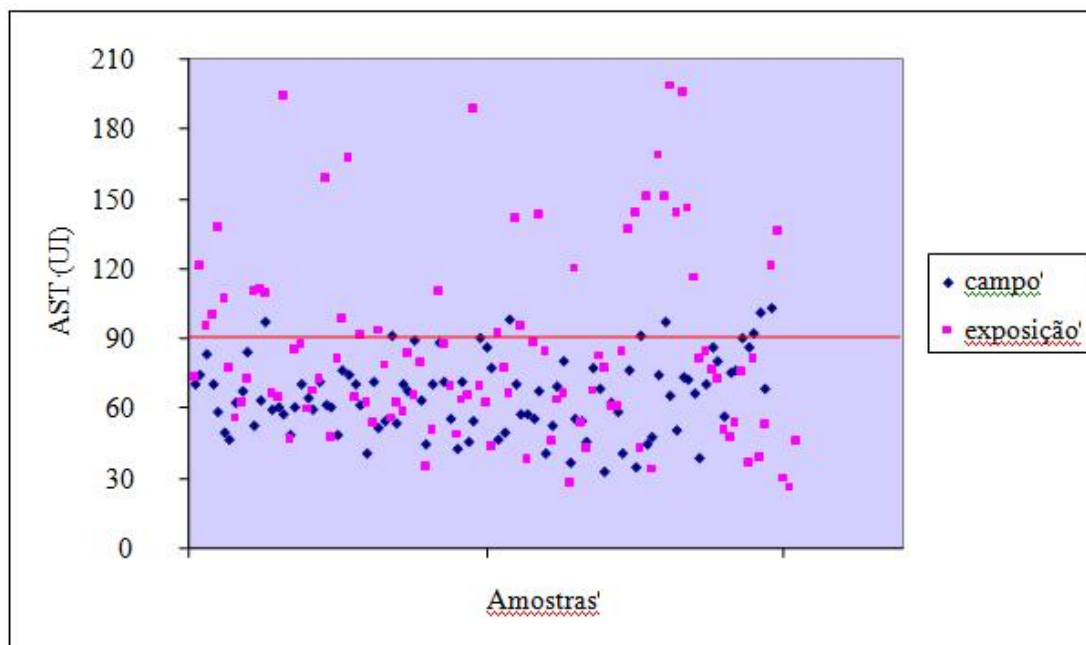


Figura 2 - Concentrações séricas da enzima AST de ovinos machos e fêmeas criados no Rio Grande do Sul

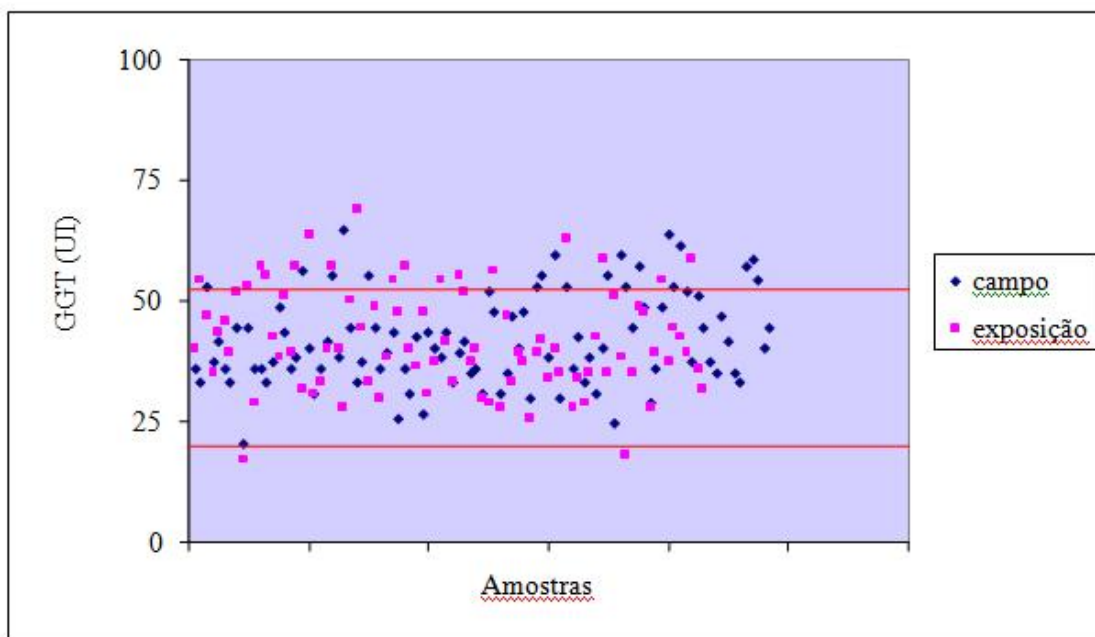


Figura 3 - Concentrações séricas da enzima GGT de ovinos machos e fêmeas criados no Estado do Rio Grande do Sul

para a espécie ovina. Tomando por base esses dados aqui apresentados, nenhum animal de ambos os grupos está dentro da zona de risco sugerida.

Os animais com níveis séricos de cobre abaixo do mínimo indicado por Kaneko et al. (1997) podem estar sofrendo de carência do mineral ou aporte maior de minerais quelantes do cobre em sua alimentação. Conforme citado anteriormente, uma pesquisa realizada em pastagens do RS mostrou que essas forragens não sofrem nem de excesso nem de carência de cobre. Foi, entretanto, identificada uma leve carência de molibdênio na pastagem, mineral que obstaculiza a absorção de cobre. A falta de molibdênio para obstaculizar o maior aporte de cobre causado pelo uso de concentrado poderia ser responsável pelos níveis séricos de cobre mais altos encontrados nas amostras dos animais do grupo exposição (66,14 µg/dL) comparado com grupo campo, que foi de 62,01 µg/dL ($P < 0,001$). Animais do grupo campo consomem forragens com quantidade adequada de cobre e com leve carência de molibdênio, o que não implica no aumento dos níveis séricos de cobre. Enquanto isso, os animais do grupo exposição consomem maior quantidade de cobre, sem o aumento proporcional da ingestão de molibdênio, o que resulta no aumento do cobre sérico.

Os valores séricos de AST nos grupos estudados são mostrados na Tabela 1 e na Figura 2. É possível identificar que a grande maioria dos animais de ambos os grupos (162/198) está dentro dos padrões fisiológicos sugeridos para a espécie por Kaneko et al. (1997). Alguns animais do grupo campo (5/97) têm seus níveis séricos de AST acima dos padrões fisiológicos. Dos animais do grupo exposição, um terço deles (34/101) está com os níveis de AST acima do proposto pelos mesmos autores. Os valores sérico

médio de AST encontrados em ovinos no RS criados em pomares de macieiras e de videiras adubadas com cama aviária foram respectivamente 274 e 172 UI (RIBEIRO et al. 1995; RIBEIRO et al. 2007). Nesses casos, os animais estavam submetidos à dieta com valores elevados de cobre, ocasionando a morte desses animais. Möllerke & Bernhard (2002), estudando níveis de AST em ovinos expostos em feira internacional, encontraram valores entre 274 e 339 UI, bem acima dos aqui relatados, mas também nesse caso os animais recebiam concentrado, o que poderia elevar o aporte de cobre. Assim, o valor médio da concentração sérica de AST encontrado no grupo campo pode ser tomado como valores normais para ovinos em pastoreio no RS.

Contrariamente do que foi observado para os níveis séricos de AST, os níveis de GGT não revelaram diferença entre os dois grupos. Os valores encontrados para essa enzima estão dentro da normalidade da espécie e bem abaixo dos considerados de risco de intoxicação crônica por cobre, conforme mostram os dados da Tabela 1 e Figura 3.

CONCLUSÕES

As variáveis cobre e gamaglutamiltransferase (GGT) estiveram dentro dos parâmetros fisiológicos, concluindo que os animais testados estavam fora da zona de risco de intoxicação crônica pelo cobre. A diferença na aspartatoaminotransferase (AST) pode estar relacionada com o maior desafio hepático dos animais do grupo exposição em virtude da alimentação a que esses animais são submetidos previamente ao certame, além do estresse causado pelo transporte e ao longo da feira.

REFERÊNCIAS

- FICK, K. R., McDOWELL, L. R., MILES, P. H., WILKINSON, N. S., FUNK, J. D., CONRAD, J. H., DAYRELL, M. de S. ROSA, I. V. **Métodos de análises de minerais em tecidos de animais e de plantas**. 2 ed. Gainesville, Universidade da Florida, 1980. 79p.
- FIGHERA, R. A. **Anemia em medicina veterinária**. Santa Maria: Pallotti, p. 98-103, 2001.
- GALVÃO, A. S., WILLIAMS, B. M. Sobre casos de envenenamento crônico pelo cobre em ovinos. **Boletim do Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor**, v.3, p.41-44, 1966.
- GAVILLON, O., QUADROS, A. T. F. O cobre, o molibdênio e o sulfato inorgânico em pastagens nativas do rio grande do sul. **Anuário Técnico Instituto de Pesquisas Zootécnicas Francisco Osório -IPZFO**, Porto Alegre, n.3, p.423-453, julho, 1976.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L.: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 5. ed. **Academic Press. San Diego**, California, 932p. ,1997.
- LEMO, R. A. A., RANGEL, J. M. R., OSÓRIO, A. L. A. R., MORAES, S. S., NAKAZATO, L., SALVADOR, S. C., MARTINS, S. Alterações clínicas, patológicas e laboratoriais na intoxicação crônica por cobre em ovinos. **Ciência Rural**, v.27, n.3, p.457-463, 1997.
- MOLLERKE, R. O.; BERNHARD, E. A. Valor da aspartato transaminase no diagnóstico precoce da intoxicação crônica por cobre em ovinos. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.9, n.2, p.110-113, 2002.
- MÖLLERKE, R. O.; RIBEIRO, L. A. O. Aspectos epidemiológicos da intoxicação crônica por cobre em ovinos preparados para exposição. **Veterinária em foco**, v.2, n.2, p.183-192, 2005.
- RIBEIRO, L. A. O. . Intoxicação crônica pelo cobre em ovinos. **A Hora Veterinária**, v.2, p.4-5, 1985.
- RIBEIRO, L. A. O., SIMÕES PIRES NETO, J. A., RODRIGUES, N. C., FALLAVENA, L. C. B. Intoxicação crônica por cobre em ovinos mantidos em pomar de macieiras. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.15, n.1, p.15-17, 1995.
- RIBEIRO, L. A. O., RODRIGUES, N. C., SMIDERLE, W. A. Intoxicação crônica por cobre em ovelhas pastoreadas em pomar de videiras adubado com cama aviária. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.44, n.3, p.208-211, 2007.
- RIET-CORREA, F ; OLIVEIRA, J. A. ; GIESTA, S. ; SCHILD, A. L. ; MOTTA, A. . Intoxicação crônica por cobre em ovinos no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.9, n.3/4, p.51-54, 1989.
- SOLI, N. E. Chronic copper poisoning in sheep. a review of the literature. **Nordisc Veterinary Medicine**, n.32, p.75-89, 1980.
- UNDERWOOD, E. J., SUTTLE, N. F. **The mineral nutrition of livestock**. 3ed. CABI Publishing Wallingford, UK, 1999.
- WELLS, N. H.; HALLFORD, D. M.; HERNANDEZ, J. A.; BOLLINGER, M. K.; PETERSEN, M. K.; MCELYEA, U. Serum profiles in ewe lambs fed commercial feed with accidentally elevated copper and treated with calcium sulfate. **Western Section, American Society of Animal Science**, v.51, 2000.