

INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO MEDICAMENTOSO EM CADELAS COM PIOMETRA NA VIA DE BIOSÍNTESE DA PROSTAGLANDINA E₂

Thaís Gomes Faustino

Roberto Rodrigues da Rosa Filho

Camila Infantsi Vannucchi

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo

thais.faustino@usp.br

Objetivos

O objetivo deste estudo é identificar a principal via de modulação hemodinâmica da artéria uterina após diferentes intervenções medicamentosas na piometra canina, seja pela produção do óxido nítrico ou pela biossíntese da prostaglandina E₂.

Métodos e Procedimentos

Um total de 17 cadelas, de peso e raças variadas, com idade superior a 6 anos e com diagnóstico de HEC-Piometra, foram alocadas em 3 grupos experimentais, de acordo com a modalidade de tratamento:

- Grupo Controle (n=7): fêmeas submetidas à ovário-histerectomia logo após o diagnóstico,
- Grupo Aglepristone (n=5): cadelas submetidas à terapia com aglepristone 10 mg/Kg, SID, SC, nos dias 1, 2 e 8 após o diagnóstico e, posteriormente, à ovário-histerectomia,
- Grupo Associação (n=5): cadelas submetidas à terapia com Aglepristone, associada à administração de prostaglandina sintética 1 µg/kg, SID, IM, por 7 dias e, posteriormente, à ovário-histerectomia,

Ao início do tratamento (dia 0), após 3 dias (dia 3) e em momento pré-cirúrgico (dia 8), amostras de sangue foram colhidas para a realização do hemograma completo, perfil hepático e função renal. Para o Grupo Controle, as avaliações laboratoriais foram

realizadas somente no momento pré-cirúrgico. Todas as cadelas foram submetidas a ovário-histerectomia (OHE), a partir da qual foram coletados fragmentos de aproximadamente 1 cm das artérias uterinas esquerda e direita. As amostras foram submetidas a congelamento por *snap frozen* em nitrogênio líquido (Cook et al., 2013) e, em seguida, armazenadas à -80°C. A dosagem indireta de óxido nítrico foi realizada por meio da determinação da concentração de nitratos e nitritos presentes no tecido arterial, baseando-se na reação de Griess (Sun et al., 2003). A dosagem tecidual de prostaglandina E₂ foi realizada por imunoensaio enzimático por marcação competitiva com anticorpo específico para prostaglandina E₂ utilizando kit comercial de prostaglandina E₂ canina (Cat#EKC31877, Biomatik®).

A comparação estatística entre grupos foi realizada por contraste ortogonal, considerando as seguintes comparações: Contraste 1 – comparação entre fêmeas não tratadas (Grupo Controle) e fêmeas tratadas (Grupo Aglepristone + Associação) e Contraste 2 – comparação entre modalidades de tratamento (Grupo Aglepristone vs. Associação). À comparação entre todos os grupos experimentais (Grupo controle vs. Grupo Aglepristone vs. Grupo Associação), utilizou-se o teste LSD. O nível de significância utilizado foi de 5%

Resultados

Para as avaliações subsidiárias, a contagem de leucócitos totais no leucograma foi superior ($P=0,04$) no Grupo Controle, em comparação aos grupos tratados. As concentrações séricas de uréia foram superiores ($P=0,01$) nas fêmeas não tratadas, comparando-se aos grupos tratados. Comparando-se os distintos grupos experimentais, a concentração da enzima hepática ALT foi superior no Grupo Associação, em comparação ao Grupo Controle, porém, sem diferença com o Grupo Aglepristone (figura 1).

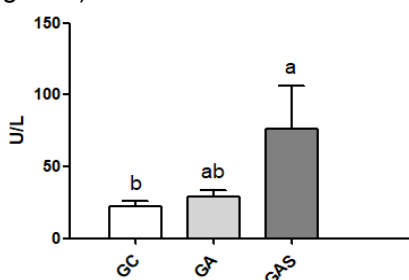


Figura 1: Média e erro padrão da concentração sérica de ALT nos grupos experimentais Controle (GC), Aglepristone (GA) e Associação (GAS). ^{a-b} indicam diferença significativa entre os grupos experimentais.

A concentração de óxido nítrico na artéria uterina das fêmeas dos grupos tratados foi superior ($P=0,02$) ao Grupo Controle (figura 2). Entretanto, não houve diferença significativa entre a concentração de óxido nítrico das cadelas submetidas ao tratamento associativo ou Grupo Aglepristone.

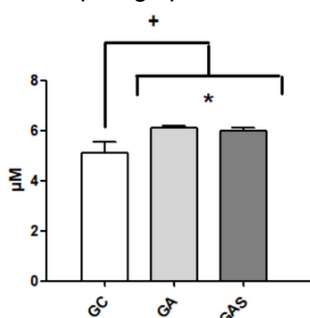


Figura 2: Média e erro padrão da concentração de óxido nítrico na artéria uterina de fêmeas nos grupos experimentais Controle (GC), Aglepristone (GA) e Associação (GAS). + indica diferença estatística na comparação entre Grupo Controle e grupos tratados

(C1; $P=0,02$); *representa comparação entre as modalidades de tratamento (C2; $P=0,83$).

Não foi possível observar diferença significativa da concentração de prostaglandina E_2 na artéria uterina de fêmeas submetidas ou não a tratamento medicamentoso para a piometra, bem como entre as distintas modalidades de tratamento.

Conclusões

A ação do óxido nítrico e da prostaglandina E_2 na artéria uterina de cadelas com piometra não determina mudanças hemodinâmicas (vasodilatação ou maior velocidade de fluxo sanguíneo). Entretanto, o tratamento medicamentoso para a piometra canina modula a concentração de óxido nítrico na artéria uterina, possivelmente por efeito oxidativo e não propriamente hemodinâmico. Portanto, para a piometra canina, o óxido nítrico pode ser considerado um marcador de estresse oxidativo vascular.

Referências Bibliográficas

- COOK, J. L.; SHALLOW, M. C; ZARAGOZA, D. B.; ANDERSON, K. I. ONLSON, D. M. Mouse placental prostaglandins are associated with uterine activation and the timing of birth. **Biology of Reproduction**, v. 68, n. 2, p. 579-587, 2003.
- SUN, J.; ZHANG, X.; BRODERICK, M.; FEIN, H. Measurement of nitric oxide production in biological systems by using Griess reaction assay. **Sensors**, v. 3, n. 8, p. 276-284, 2003

EFFECT OF PYOMETRA MEDICAL TREATMENT ON PROSTAGLANDIN E₂ AND NITRIC OXIDE PATHWAYS IN BITCHES

Thaís Gomes Faustino

Roberto Rodrigues da Rosa Filho

Camila Infantsi Vannucchi

School of Veterinary Medicine and Animal Science/University of São Paulo

thais.faustino@usp.br

Objectives

The aim of this research is to identify the main hemodynamic modulatory pathway of the uterine artery of pyometra bitches after different medical interventions, through nitric oxide synthesis or prostaglandin E₂ pathway.

Materials and Methods

A total of 17 HEC-Piometra bitches of different body weight and breeds, ageing over 6 years, were assigned to 3 experimental groups according to the mode of treatment:

- Control Group (n=7): bitches subjected to ovariectomy soon after pyometra diagnosis,
- Aglepristone Group (n =5): bitches subjected to therapy with 10 mg/Kg aglepristone, SID, SC, on days 1, 2 and 8 after pyometra diagnosis and, subsequently, to ovariectomy.
- Association Group (n=5): bitches subjected to aglepristone therapy coupled by administration of 1 µg/kg synthetic prostaglandin, SID, IM, for 7 days and, subsequently, ovariectomy was performed on day 8.

At the beginning of treatment (day 0), after 3 days (day 3) and before surgery (day 8), blood samples were obtained in order to perform a complete blood count, along with hepatic and renal function. For the Control Group, subsidiary exams were performed only before

surgery. All bitches were subjected to ovariectomy, by which approximately 1 cm fragments of the left and right uterine arteries were obtained. The samples were subjected to *snap frozen* using liquid nitrogen (Cook et al., 2013) and stored at -80°C until analysis. The indirect nitric oxide assay was performed by determining the arterial tissue concentration of nitrates and nitrites, based on the Griess reaction (Sun et al., 2003). Tissue assay for prostaglandin E₂ was performed by enzyme immunoassay by competitive labeling with specific antibody for prostaglandin E₂ using commercial canine prostaglandin E₂ kit (Cat#EKC31877, Biomatik®).

Statistical comparison among groups was done by an orthogonal contrast taking into account the following comparisons: Contrast 1 – comparison between treated (Aglepristone + Association Group) and non-treated bitches (Control Group) and Contrast 2 – comparison between modes of therapy (Aglepristone Group vs. Association Group). The comparison among all experimental groups was performed by LSD test with a level of significance of 5%.

Results

For the subsidiary exams, the total white blood cell count of leukogram was higher (P=0.04) in the Control Group compared to treated groups. Blood urea concentrations were higher (P=0.01) in untreated females compared to treated groups. Comparing the different

experimental groups, the concentration of liver ALT enzyme was higher in the Association Group compared to the Control Group, the later not different from the Aglepristone Group (figure 1).

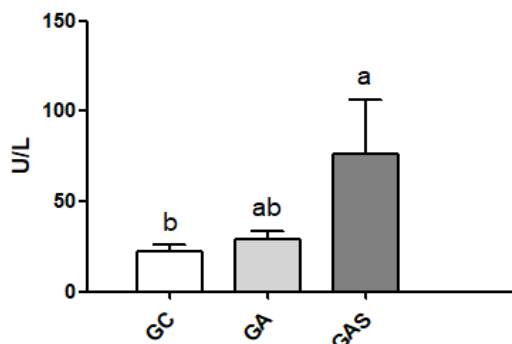


Figure 1: Mean and standard error of blood concentration of ALT in experimental groups Control (GC), Aglepristone (GA) and Associative (GAS). ^{a-b} indicate significant difference between experimental groups.

Uterine artery nitric oxide concentration of treated bitches was higher ($P=0.02$) than the Control Group (figure 2). On the other hand, there was no significant difference between the concentration of nitric oxide of both modes of treatment (Associative and Aglepristone).

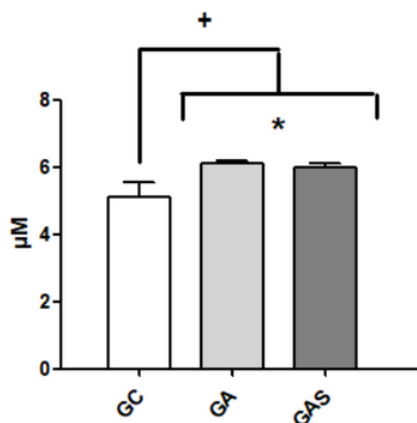


Figure 2: Mean and standard error of nitric oxide concentration in the uterine artery of females in experimental groups Control (GC), Aglepristone (GA) and Associative (GAS). + indicate statistical difference between treated and non-treated bitches ($C1$; $P=0.02$); *indicate comparison between modes of treatment ($C2$; $P=0.83$).

No significant difference was observed in the concentration of prostaglandin E_2 in the uterine arteries of females submitted or not to medical treatment for pyometra, as well as between modes of therapy.

Conclusions

The action of nitric oxide and prostaglandin E_2 in the uterine artery of bitches diagnosed with pyometra does not provoke hemodynamic changes (vasodilation or increased blood flow velocity). However, medical treatment for canine pyometra modulates the concentration of nitric oxide in the uterine artery, possibly due to an oxidative effect, rather than a direct vascular effect. Therefore, nitric oxide can be considered a marker of vascular oxidative stress for canine pyometra.

References

- COOK, J. L.; SHALLOW, M. C; ZARAGOZA, D. B.; ANDERSON, K. I. ONLSON, D. M. Mouse placental prostaglandins are associated with uterine activation and the timing of birth. **Biology of reproduction**, v. 68, n. 2, p. 579-587, 2003.
- SUN, J.; ZHANG, X.; BRODERICK, M.; FEIN, H. Measurement of nitric oxide production in biological systems by using Griess reaction assay. **Sensors**, v. 3, n. 8, p. 276-284, 2003