

## Implantação e avaliação do método de multicateterização em ovinos

### Implantation and evaluation of the mult catheterization method in lambs

Gilberto Vilmar Kozloski<sup>I</sup> Lisiane Dorneles de Lima<sup>II</sup> Giovani Fiorentini<sup>II</sup>  
Carla Joice Härter<sup>II</sup> Alceu Gaspar Raiser<sup>III</sup> Alexandre Mazzanti<sup>III</sup>

#### - NOTA -

#### RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o método de multicateterização utilizado para estudar o metabolismo visceral em ruminantes. Quatro ovinos Ideal × Texel (peso vivo (PV) médio de  $35 \pm 2,5$ kg) foram implantados com cateteres permanentes nas veias mesentérica, porta e hepática. Sangue arterial foi acessado através de cateteres temporários implantados na carótida. A estimativa de fluxo de sangue portal e visceral foi feita com o uso do indicador paraminohipurato. Todos os cateteres mantiveram-se viáveis durante um período de no mínimo 45 dias. O fluxo de sangue visceral foi em média de  $1471 \text{ h}^{-1}$  ou  $4,21 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1}$  de PV, similar ao obtido em outros estudos com ovinos. Contudo, os dados de fluxo de sangue portal obtidos na maioria dos animais foram negativos e irrealis, provavelmente devido a problemas relacionados à posição da ponta do cateter e à inadequada mistura do indicador no sangue portal. A medida do fluxo de metabólitos pelo sistema visceral utilizando animais multicateterizados pode constituir-se em uma ferramenta adicional útil para avaliar o valor nutricional dos alimentos e o metabolismo dos ruminantes. No entanto, os procedimentos de implantação dos cateteres, assim como o desenho e o protocolo experimental deste tipo de estudo, necessitam ser aperfeiçoados para aumentar a precisão e confiabilidade dos dados.

**Palavras-chave:** fígado, fluxo de sangue, metabolismo, paraminohipurato, sistema portal.

#### ABSTRACT

This study was aimed at evaluating the mult catheterization method, used to study visceral metabolism

in ruminants. Four Polwarth × Texel lambs ( $35 \pm 2.5$ kg mean live weight (LW)) were surgically fitted with chronic indwelling catheters in a mesenteric, the portal and a hepatic vein. Arterial blood samples were withdrawn from the carotid artery using temporary catheters. Paraminohippurate was used as indicator to estimate portal and visceral blood flow. All catheters were patent throughout a 45 days period. Mean visceral blood flow was  $4.21 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1}$  of LW, similar to that obtained in others studies with sheep. However, almost all portal blood flow values were negative and unreal. The explanation for these results is not clear, but it was likely due to problems associated to portal catheter tip positioning into the vessel and poor indicator mixing in portal blood. Despite of this, the measurement of the net visceral flux of metabolites using mult catheterized animals may represent a useful tool to evaluate the nutritional value of feedstuffs and ruminant metabolism. The procedures for catheter implantation, however, as well as the experimental design and protocol, need to be improved to enhance data precision and reliability in these studies.

**Key words:** liver, blood flow, metabolism, paraminohippurate, portal system

A eficiência econômica e ambiental dos sistemas de produção de ruminantes depende, dentre outros fatores, de um manejo nutricional adequado, em que as exigências dos animais sejam supridas e um mínimo de resíduos seja excretado. Para tal, é necessário conhecer detalhadamente o valor nutricional dos alimentos, os processos de digestão e o metabolismo

<sup>I</sup>Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil. Email: kozloski@smail.ufsm.br. Autor para correspondência.

<sup>II</sup>Departamento de Zootecnia, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

<sup>III</sup>Laboratório de Cirurgia Experimental, UFSM, Santa Maria, RS, Brasil.

dos animais. Vários métodos laboratoriais e com uso de animais têm sido utilizados. Entre estes, foi desenvolvido uma metodologia que permite estudar o metabolismo visceral (que inclui as vísceras drenadas pela veia porta e fígado) *in vivo*, a qual envolve a utilização de animais multicateterizados e a infusão contínua na veia mesentérica de um marcador de fluxo sanguíneo, normalmente o paraminohipurato (PAH) (KATZ & BERGMAN, 1969). Embora utilizada há vários anos em outros países, esta metodologia foi adaptada e utilizada no Brasil, em alguns experimentos com bovinos (KOZLOSKI et al., 1996; KOZLOSKI et al., 2003) e ovinos (MOURO et al., 2006). Desse modo, aspectos práticos do seu uso, relativos à implantação e manutenção dos cateteres, assim como das medidas do fluxo sanguíneo e de nutrientes, necessitam ser mais bem estabelecidos. O objetivo deste trabalho foi implantar e avaliar o método de multicateterização em ovinos.

Quatro ovinos Ideal × Texel (peso vivo médio de  $35 \pm 2,5$ kg) foram implantados cirurgicamente, sob anestesia geral, com cateteres permanentes nas veias porta, hepática e mesentérica, de acordo com método adaptado de KATZ & BERGMAN (1969). Os cateteres portal e hepático, com 30 e 35cm de comprimento, respectivamente, foram feitos de túbulos de teflon (1,5mm diâmetro interno (di) × 2,3mm diâmetro externo (de)) cobertos com tubos de silicone de diâmetro interno levemente inferior ao diâmetro externo do túbulo de teflon. Para tal, o tubo de silicone foi submerso durante aproximadamente 30 minutos em tolueno, que promove dilatação do silicone, introduzido sobre o cateter e colocado em estufa a 60°C para secagem. A seguir, a cobertura de silicone da ponta do cateter a ser introduzida nos vasos sanguíneos (5cm no cateter portal e 6cm no hepático) foi retirada, a ponta foi cortada reta e alisada, os cateteres foram lavados em água corrente, secados em estufa e mantidos pelo menos 24 horas antes da intervenção cirúrgica em frasco fechado contendo formalina. Após a implantação nos respectivos vasos sanguíneos, um pequeno cateter intravenoso (16G, 1,7mm d.e. e 5cm comprimento, Nipro Medical Ltda, Sorocaba, SP, Brasil) foi acoplado na ponta externa dos cateteres. Na veia mesentérica, foi implantado um catéter de Vialon (16G, 1,7mm d.e. e 61cm comprimento, Becton Dickinson, Utah, USA) também coberto com tubo de silicone, como descrito acima, sendo introduzidos no vaso sanguíneo 8cm do cateter. Para coleta de sangue arterial, uma das carótidas foi dissecada e superficializada até o tecido subcutâneo, na região média do pescoço. Após a implantação, os cateteres foram perfundidos com solução salina contendo 200UI mL<sup>-1</sup> de heparina (Parinex, Hipolabor,

MG), 8mg mL<sup>-1</sup> de ampicilina (Bipencil, Biochimico, RJ) e 10ul mL<sup>-1</sup> de etanol (Belga Química, RS), aplicada a cada três dias. Externamente, foram protegidos com tiras largas de esparadrapo aderidas à pele com adesivo comercial (3M, SP).

Os animais foram mantidos confinados em gaiolas metabólicas, no interior de um galpão de alvenaria coberto, alimentados com feno de capim arroz (*Echinochloa sp.*) picado (partículas de 10-15cm) e fornecido duas vezes ao dia (08h e 17h). Ao longo de um período de 40 a 50 dias após as intervenções cirúrgicas, que inclui um período prévio de recuperação, foram feitas quatro medidas de fluxo de sangue portal e visceral em cada animal, a intervalos de sete a nove dias. Na manhã de cada um dos dias de medida do fluxo de sangue foi implantado um cateter (18G, 1,3mm d.e. e 4,8cm comprimento, Becton Dickinson, MG, Brasil) temporário na carótida, acoplado a uma extensão com uma torneira de três vias. O feno foi oferecido e mantido disponível aos animais durante 60 minutos. Após este tempo, as sobras foram retiradas, pesadas, e o fluxo portal e hepático de sangue foi medido pela aplicação na veia mesentérica de 10mL (*primed*), seguida de infusão contínua (1mL minuto<sup>-1</sup>) de uma solução de paraminohipurato (PAH) a 3% (p/v), pH 7,4, com auxílio de uma bomba peristáltica. Após 30 minutos do início da infusão do indicador, oito amostras simultâneas de sangue arterial, hepático e portal foram coletadas em seringas heparinizadas a intervalos de uma hora. Entre os intervalos de amostragem, os cateteres foram mantidos heparinizados com solução fisiológica contendo 20UI mL<sup>-1</sup> de heparina. Imediatamente após a coleta, as amostras de sangue foram colocadas em tubos contendo fluoreto de sódio (NaF) (em torno de 1,5mg mL<sup>-1</sup> sangue) e mantidos em gelo. A seguir, uma alíquota foi retirada para medir o volume celular (microcentrífuga Centimicro Mod. 211, FANEM, SP, Brasil). O restante do sangue foi centrifugado (1000 × g, 20 minutos) e o plasma congelado para posterior análise. O teor de PAH do plasma foi determinado colorimetricamente conforme metodologia descrita por HUNTINGTON (1982).

O fluxo de sangue portal (FSP) e visceral (FSV) foi estimado conforme KATZ e BERGMAN (1969), usando a seguinte fórmula:

$$\text{FSP ou FSV (litros hora}^{-1}\text{)} = \text{GI}_{\text{pah}} / (\text{Pou} - \text{H} - \text{A}),$$

na qual  $\text{GI}_{\text{pah}}$  = grau de infusão do PAH (mg h<sup>-1</sup>); P = concentração de PAH no sangue portal (mg litro<sup>-1</sup>); H = concentração de PAH no sangue hepático (mg litro<sup>-1</sup>) e A = concentração de PAH no sangue arterial (mg litro<sup>-1</sup>).

Ao final do experimento, dois animais foram sacrificados para avaliar o posicionamento do cateter

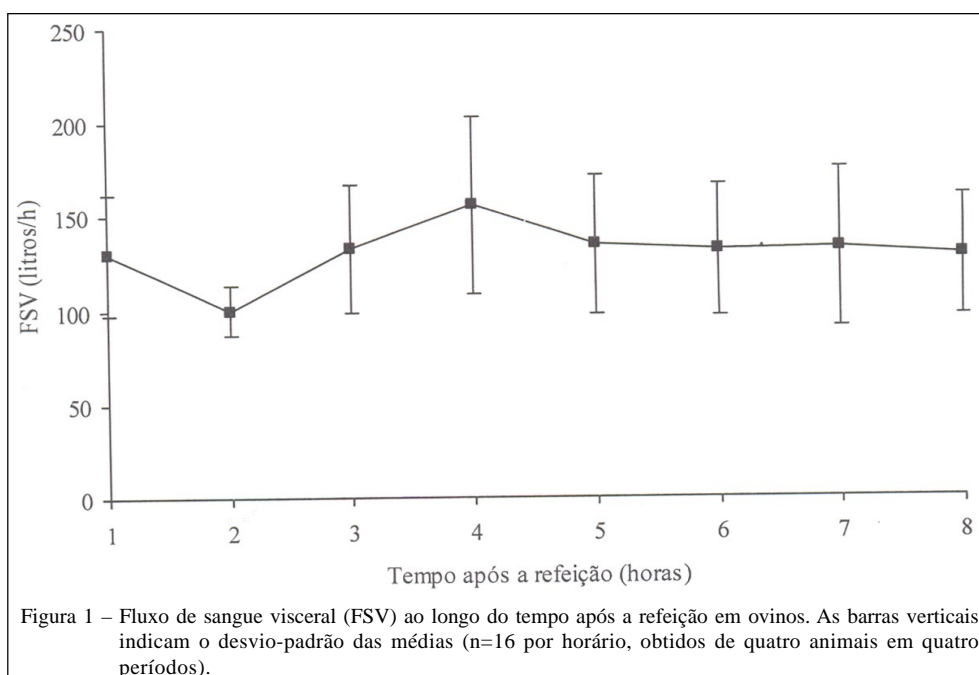
no interior dos vasos e a reação dos tecidos. Foi analisada a variância dos dados de fluxo de sangue utilizando-se o PROC GLM do programa estatístico SAS (2002).

Não foi verificado nenhum problema clínico associado às cirurgias ou à rejeição à presença dos cateteres, que mantiveram-se viáveis ao longo de um período mínimo de 45 dias. Contudo, diferentemente do esperado, as concentrações portais de PAH foram em geral menores que as arteriais em todos os animais, resultando em fluxos portais de sangue negativos e irrealis, os quais não são apresentados. É provável que o indicador não tenha se misturado completamente com o sangue entre o ponto de infusão no ramo mesentérico e o de coleta de amostra na veia porta. Nos animais sacrificados após o final do experimento, observou-se que a ponta do cateter portal foi inserida muito internamente em um dos pequenos ramos no interior do fígado. Isso provavelmente contribuiu para a insuficiente mistura do indicador com o sangue no ponto de coleta. Com base nessa observação, foi feita nova abordagem cirúrgica em um dos animais cateterizados, retraindo-se o cateter portal em torno de 2cm. Foi feita nova infusão de PAH e foram obtidos valores positivos de fluxo de sangue portal. Isso indica que o posicionamento da ponta desse cateter é um fator importante a ser considerado durante a cirurgia de implantação do mesmo.

De outra forma, embora não haja um método padrão de medida de fluxo de sangue que possa ser utilizado para comparação, os resultados de FSV

obtidos no presente estudo (Figura 1), assim como o seu grau de variação, são similares aos obtidos em outros estudos com ovinos (KATZ & BERGMAN, 1969; ORTIGUES et al., 1994). Não foi observada uma variação regular de FSV ao longo do tempo após a refeição, e os desvios-padrão em cada tempo foram relativamente altos. Isso se deve ao fato de que o grau de fluxo de sangue nesses tecidos é dinâmico e é influenciado por vários fatores, como pela condição fisiológica de cada animal, pelo tipo e pela qualidade da dieta, pelo nível de consumo e pelo tempo após a refeição (HUNTINGTON, 1999). Dessa maneira, para melhorar a precisão de estudos desta natureza, seria necessário maior número de animais e de intervalos de avaliações. No entanto, isso pode ser limitado pela quantidade total de sangue possível de ser extraída dos animais em cada período de coleta, a qual não deve comprometer a volemia, nem exceder a capacidade de reposição das células sanguíneas dos animais. Além disso, o aumento do número de coletas implica também aumento significativo dos custos com PAH.

A medida do fluxo de metabólitos pelo sistema visceral utilizando animais multicateterizados pode constituir-se em uma ferramenta adicional útil para avaliar o metabolismo dos ruminantes. No entanto, os procedimentos de implantação dos cateteres, particularmente do cateter portal, assim como o desenho e o protocolo experimental deste tipo de estudo, necessitam ser aperfeiçoados para se aumentar a precisão dos dados.



**AGRADECIMENTOS**

Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro concedido para o desenvolvimento do estudo.

**REFERÊNCIAS**

- HUNTINGTON, G.B. Portal blood flow and net absorption of ammonia-nitrogen, urea-nitrogen, and glucose in nonlactating holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v.65, 1155-1162, 1982.
- HUNTINGTON, G.B. Sources of variation in splanchnic blood flow in steers. **Journal of Animal Science**, v.77, p.3031-3036, 1999.
- KATZ, M.L.; BERGMAN, E.N. Simultaneous measurements of hepatic and portal venous blood flow in the sheep and dog. **American Journal of Physiology**, v.216, p.946-952, 1969.
- KOZLOSKI, G.V. et al. Potential nutritional assessment of dwarf elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum. Mott) by chemical composition, digestion and net portal flux of oxygen in cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v.104, n.1-4, p.29-40, 2003.
- KOZLOSKI, G.V. et al. Net portal flux of metabolites following a meal in calves fed a grain-rich diet supplemented with urea or meat meal. **Canadian Journal of Animal Science**, v.76, p.393-399, 1996.
- MOURO, G.F. et al. Fontes de carboidratos e ionóforo em dietas contendo óleo vegetal para ovinos: digestibilidade, balanço de nitrogênio e fluxo portal de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.2144-2153, 2006.
- ORTIGUES, I. et al. Use of para-amino hippuric acid to measure blood flows through portal-drained-viscera, liver and hindquarters in sheep. **Journal of Agricultural Science**, v.122, p.299-308, 1994.
- SAS. **Statistical Analysis System**. Software, Version 9. Cary, 2002. (CD-Rom).