ALINE ALBERTI MORGADO

**Ação preventiva de fármacos antiácidos e potenciais
biomarcadores para úlcera abomasal decorrente do uso de
fenilbutazona em ovinos adultos**

São Paulo

2017

ALINE ALBERTI MORGADO

**Ação preventiva de fármacos antiácidos e potenciais biomarcadores para
úlcera abomasal decorrente do uso de fenilbutazona em ovinos adultos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências

Departamento:

Clínica Médica

Área de concentração:

Clínica Veterinária

Orientador:

Prof.^a Dr.^a Maria Claudia Araripe Sucupira

São Paulo

2017

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3583
FMVZ

Morgado, Aline Alberti

Ação preventiva de fármacos antiácidos e potenciais biomarcadores para úlcera abomasal decorrente do uso de fenilbutazona em ovinos adultos / Aline Alberti Morgado.
– 2017.
83 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2018.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientador: Profa. Dra. Maria Cláudia Araripe Sucupira.

1. Omeprazol. 2. Pepsinogênio. 3. pH abomasal. 4. Ranitidina. 5. Ruminantes. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Diagnóstico e tratamento para a úlcera de abomaso em ruminantes adultos", protocolado sob o CEUA nº 6205040214, sob a responsabilidade de **Maria Cláudia Araripe Sucupira e equipe; Aline Alberti Morgado** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMZV) em reunião de 15/10/2014.

We certify that the proposal "título em inglês", utilizing 18 Ovinos (18 males), protocol number CEUA 6205040214, under the responsibility of **Maria Cláudia Araripe Sucupira and team; Aline Alberti Morgado** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes (or teaching) - it's in accordance with Law 11.794, of October 8 2008, Decree 6899, of July 15, 2009, with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the University of São Paulo (CEUA/FMZV) in the meeting of 10/15/2014.

Vigência da Proposta: de 01/2016 a 12/2016

Área: Clínica Médica Veterinária

Procedência: Animais provenientes de estabelecimentos comerciais

Espécie: Ovinos

sexo: Machos

idade: adultos (>1ano) N: 18

Linhagem: N/A

Peso: 50kg

Resumo: Úlceras abomais acarretam expressiva perda econômica, que não é facilmente estimada. Há poucas informações quanto ao seu diagnóstico e tratamento, em especial em ruminantes adultos. Ainda não foram relatados preditores da enfermidade. Nesse experimento será estudado o papel de algumas proteínas de fase aguda (haptoglobina, amilóide A e fibrinogênio), do pepsinogênio sérico e da gastrina plasmática como possíveis preditores. O tratamento comumente utilizado para úlceras consiste em reduzir a produção de ácido gástrico através do uso de fármacos bloqueadores dos receptores H2 ou bloqueadores das bombas de prótons, cujos principais representantes são a ranitidina e o omeprazol, respectivamente. Para ruminantes domésticos adultos, no entanto, não há protocolos de administração estabelecidos e tampouco há comprovação da eficácia dos fármacos supracitados nos animais com úlcera abomais, o que incita e valida a execução do estudo. Serão utilizados 18 ovinos machos, adultos, e hípidos, providos de cânula no abomaso. A úlcera abomais será induzida com o uso de antiinflamatório não esteroidal por até 12 dias e os animais serão distribuídos em três grupos, cujos tratamentos são: 2mg de ranitidina/kg de peso vivo, via intravenosa (IV), a cada doze horas; 0,4mg/kg de omeprazol, IV, uma vez ao dia; e 4mg/kg de omeprazol, via oral, uma vez ao dia até o restabelecimento da lesão da mucosa abomais.

São Paulo, 30 de dezembro de 2015

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Roseli da Costa Gomes

Secretaria Executiva da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

São Paulo, 18 de maio de 2016
CEUA N 6205040214

Ilmo(a). Sr(a).

Responsável: Maria Cláudia Araripe Sucupira

Área: Clínica Médica Veterinária

Profa Dra Maria Cláudia Araripe Sucupira (orientador)

Título da proposta: " Ação preventiva de fármacos antiácidos e potenciais biomarcadores para úlcera abomasal decorrente do uso de fenilbutazona em ovinos adultos."

Parecer Consubstanciado da Comissão de Ética no Uso de Animais FMVZ/USP

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, no cumprimento das suas atribuições, analisou e **APROVOU** a Notificação (versão de 05/janeiro/2016) da proposta acima referenciada.

Resumo apresentado pelo pesquisador: "Após realização do piloto houve necessidade de adequação do desenho experimental e, portanto alteração do número de animais e dos tratamentos, conforme os dois documentos anexados à seguir".

Comentário da CEUA: "Aprovado.".

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretária Executiva

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

São Paulo, 23 de novembro de 2017
CEUA N 6205040214

Ilmo(a). Sr(a).

Responsável: Maria Cláudia Araripe Sucupira

Área: Clínica Médica Veterinária

Profa Dra Maria Cláudia Araripe Sucupira (orientador)

Título da proposta: " Ação preventiva de fármacos antiácidos e potenciais biomarcadores para úlcera abomasal decorrente do uso de fenilbutazona em ovinos adultos."

Parecer Consubstanciado da Comissão de Ética no Uso de Animais FMVZ/USP

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, no cumprimento das suas atribuições, analisou e **APROVOU** a Alteração do cadastro (versão de 07/novembro/2017) da proposta acima referenciada.

Resumo apresentado pelo pesquisador: "Adequação do título devido à conclusão do trabalho e apresentação de um título mais específico."

Comentário da CEUA: "Foi alterado o título de Diagnóstico e tratamento para a úlcera de abomaso em ruminantes adultos » para : Ação preventiva de fármacos antiácidos e potenciais biomarcadores para úlcera abomasal decorrente do uso de fenilbutazona em ovinos adultos."

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes

Secretária Executiva

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: MORGADO, Aline Alberti

Título: **Ação preventiva de fármacos antiácidos e potenciais biomarcadores para úlcera abomasal decorrente do uso de fenilbutazona em ovinos adultos**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Quatro anos é tempo suficiente para que várias pessoas entrem em nossas vidas e para que outras, tão importantes, partam desta jornada.

À minha mãe, Rejane, ao meu avô Antônio e ao tio Pedrinho. Palavras não são suficientes para descrever a dor nem o amor que percebi que sinto por vocês.

DEDICATÓRIA

Dedico este hercúleo trabalho aos principais personagens dessa história, meus amados carneiros:

Aos doces **Gerson** e **Nerson**, sempre curiosos e conquistadores;

Ao pacífico **Gustavo Lima**, carneiro cuja única arma era seu despretenso pisão. Gugão, para os íntimos, mantinha 90 e tantos quilos de pura bondade.

Ao surpreendente **Bolinha**, que no início era “carneirificação” da brutalidade, mas que com o passar do tempo revelou-se totalmente dengoso, cuja cauda balançava ao mais suave toque;

Ao guloso e sem-vergonha **Godofredo**, carneiro em corpo de bode e com comportamento de cão vira-lata;

Ao assustado e arisco **Pafúncio**, que me conquistou ao continuamente me desafiar a tentar ganhar sua confiança; obtive pouco sucesso, mas acredito ter evoluído na arte de lidar com os animais graças a esse olhar sempre desconfiado;

Ao astuto **Reco-reco**, que dentre outras peripécias, rapidamente aprendeu que se pulasse se soltaria da amarra que eu costumava fazer.

Ao glutão **Tibúrcio**, pequeno devorador!

Ao inconformado **Azeitona**, que quando não pateava, fugia; quando não fugia, pateava.

Ao pouco compreendido **Branquinho** e à amedrontada **Alda**, que não participaram do experimento, mas sendo companheiros de galpão também me ensinaram muito sobre como tratar estes queridos seres (muito) animados.

AGRADECIMENTOS

Para realizar trabalho mergulhei em muitos mares de águas inicialmente obscuras. Sou muito grata a diversos “mergulhadores profissionais”, que com paciência e precisão guiaram meus caminhos até que eu me sentisse segura a ponto de ter coragem de soltar a mão para seguir deslizando por mim mesma em cada uma dessas porções de oceano, explorando as novidades e me encantando com as belezas que as profundezas oferecem. A ordem em que cito cada nome aqui é aquela em que cada pessoa apareceu para a concretização deste projeto, nada diferente disso.

A primeira pessoa a quem agradeço é a que me orienta desde os meus primeiros passos na produção de Ciência, **Prof.^a Maria Claudia**, a Macau. Pessoa que me ofereceu diversas oportunidades desde o primeiro ano de graduação, que pacientemente escutou e sanou minhas dúvidas desde então, sempre me estimulando e me encorajando a voar. Você tem influenciado minha formação não apenas de forma direta, professora, mas também indiretamente quando observo sua postura íntegra, sua entrega total à docência, seu carisma e sua didática ao lecionar. Doze anos de orientação e parceria, mas mais que isso, doze anos de amor, pois o vínculo que temos vai além do profissional. Muito obrigada por sempre acreditar em meu potencial! Nunca serei capaz de agradecer o suficiente por tudo o que você já fez por mim, mas tenha certeza de que farei o meu melhor para jamais te decepcionar. Eu te amo!

Outro mentor que tenho o privilégio de ter e a quem quero agradecer é ao **Prof. Stefano**. Muito perspicaz e provocativo, sempre me estimulou e me ensinou a analisar as situações em escala macro. Obrigada por sempre estar por perto!

Agradeço à **Alessandra Lima** por ter possibilitado na Eurofarma a doação do omeprazol injetável utilizado durante o experimento.

Agradeço ao senhor **José Carlos da Silva** e à Usimor pela doação da estrutura de baias individuais do primeiro ambiente em que os carneiros foram instalados.

Agradeço aos médicos veterinários **Júlio Spagnolo**, **Geni Patricio** e **Douglas Alonso** e aos enfermeiros **Cícero** e **Henrique** pela realização dos procedimentos cirúrgicos para canulação dos ovinos. Sem a parceria de vocês tudo teria sido infinitamente mais difícil.

Agradeço às colegas **Camila Batista** e **Kamila Reis** por terem me ensinado a manejar o endoscópio. Lembrarei sempre, Camila, que você foi extremamente solícita ao cruzar a cidade no dia 29 de dezembro para me ajudar a solucionar um problema (bem simples, por sinal) com o qual me deparei durante os exames no primeiro dia de biopsias.

Agradeço ao **Prof. Luis Claudio** pelo treinamento das biopsias abomasais e pela ajuda nas primeiras soluções de problemas com as fístulas.

Agradeço a todos os envolvidos no Setor de Cirurgia de Grandes Animais por tornarem possível a utilização do gravador de imagens endoscópicas.

Agradeço ao **Dinho** por toda dedicação, comprometimento, cuidado e carinho com os animais e por toda ajuda durante os períodos experimentais.

Agradeço ao **Agnaildo** pelo cuidado com os animais e auxílio durante os períodos experimentais.

É impossível fazer um experimento desta magnitude sozinha, sendo necessário contar com uma equipe competente para garantir a qualidade dos resultados. Meu agradecimento especial às pessoas que muito se comprometeram e se dedicaram para a concretização deste longo experimento: **Priscilla Nascimento, Débora Carvalho, Marcel Grunwald e Ronald Carvalho**. Agradeço também a ajuda da **Marcela Faria**.

Agradeço ao meu amado **Lázaro Rocha** por estar presente em todas as fases deste doutoramento. Obrigada por ter me ajudado a administrar os medicamentos noturnos e por ter me acordado em muitas das madrugadas dos períodos experimentais. Obrigada pelos valiosos apontamentos na escrita da tese e por todo o suporte psicológico nos momentos mais difíceis.

Agradeço ao meu pai, **Cláudio Morgado**, que me ajudou quando Lázaro não pôde ir e que me incentivou, aconselhou e me apoiou.

Agradeço à **Prof.^a Lilian Sá** por ter aceitado ser nossa parceira na análise histopatológica, tendo realizado a leitura de todas as lâminas.

Agradeço ao **Luciano Bugalho** por ter paternalmente me acalmado e ter seccionado todos os blocos de parafina ao perceber minha insegurança por causa da delicadeza do nosso material. E também por ter me encorajado a tentar e ter me mostrado que eu conseguiria!

Agradeço à **Clara Mori** e à **Claudia Stricagnolo** por toda ajuda com os procedimentos laboratoriais. Vocês são ímpares.

À **Vanessa Storillo** pela parceira nas análises do pepsinogênio e da lisozima e por ter me ajudado a encontrar supervisor para realizar o almejado intercâmbio.

Agradeço ao **Prof. Paulo Mazza** por partilhar seus conhecimentos sobre estatística, por sanar minhas incontáveis dúvidas e me incentivar. O senhor sempre será meu guru no universo estatístico!

Agradeço ao **Prof. Preet Singh** por ter me proporcionado a oportunidade de trabalhar com outros tópicos, espécies e metodologias durante o período do intercâmbio.

Agradeço à **FAPESP** pela concessão da bolsa de estudo no país (processo 2014/00759-0) e à **CAPES** pela concessão da bolsa de estudo institucional (demanda social) no primeiro mês do doutoramento e pela concessão da bolsa de estudo do Programa de Doutorado Sanduiche no Exterior (88881.134888/2016-01), que viabilizou os oito meses de intercâmbio.

Durante todo esse período, tão importante quanto o apoio técnico foi o apoio emocional que recebi.

Agradeço aos **meus pais** por terem batalhado tanto por mim e por meu irmão. Agradeço pelo incentivo e suporte durante todos meus anos de estudo. **Pai**, meu desejo é que sejamos cada vez mais unidos. Eu te amo!

Lázaro Rocha, meu companheiro para tudo, é um privilégio sem tamanho poder partilhar minha vida com você! Eu te amo!

Às minhas queridas **famílias Alberti, Morgado e Rocha**, pelo carinho em todos os momentos, especialmente nos mais difíceis.

Às minhas amadas amigas de infância **Renata Rodovalho, Denise Moroto, Karen Tamura**, minhas cúmplices, minhas conselheiras, minhas parceiras. E também ao **Fernando Gherini**.

À iluminada **Ingrid Moghrabi**.

À amiga **Marta Barros**.

À minha madrinha **Laudice Rebouças** e à **Verônica Rebouças**.

Ao amigo **Rodolfo Souto**.

Ao **Peter Turner**.

Aos amigos do “Disaster group”, **Adelbert De Clercq** e **Joana Chagas**.

Agradeço pelo carinho, pela torcida, pelo apoio, pela paciência, pelas conversas, pelos ensinamentos, pela troca de experiências... Obrigada por fazerem parte da minha vida e por tornaram meus dias mais leves e coloridos!

“Resiliência é a capacidade de se recuperar de situações de crise e aprender com elas. É ter a mente flexível e o pensamento otimista, com metas claras e a certeza de que tudo passa.”

Autor desconhecido

RESUMO

MORGADO, A. A. **Ação preventiva de fármacos antiácidos e potenciais biomarcadores para úlcera abomasal decorrente do uso de fenilbutazona em ovinos adultos.** [Preventive action of antacid drugs and potential biomarkers for abomasal ulcer due to phenylbutazone use in adult sheep]. 2017. 83 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

Úlceras abomasais acarretam diminuição do bem-estar e da produção de leite e carne, porém informações quanto a sua etiopatogenia, diagnóstico, prevenção e tratamento ainda são insuficientes, em especial quando acometem ruminantes adultos. Os protocolos utilizados para prevenção e tratamento desta enfermidade são extrapolados dos determinados para a lesão estomacal em monogástricos, havendo ainda incertezas sobre o efeito dos princípios ativos, doses e vias de administração mais adequados para ruminantes. Com o intuito de testar a capacidade da ranitidina e do omeprazol prevenirem o aparecimento de úlcera abomasal realizou-se administração dos antiácidos concomitantemente ao uso de fenilbutazona por sete dias (4,4 mg/kg, duas vezes ao dia, pela via intravenosa). Oito ovinos hígidos e canulados em abomaso foram distribuídos em dois quadrados latinos 4x4 e tratados com 2 mg de ranitidina/kg de peso vivo, pela via intravenosa, a cada doze horas; 0,4 mg/kg de omeprazol, pela via intravenosa, uma vez ao dia; 4 mg/kg de omeprazol em pasta, via oral, uma vez ao dia; ou nenhum medicamento antiácido (controle). Omeprazol administrado pela via intravenosa desencadeou flebite e maior número de animais apresentou lesões na mucosa abomasal. Omeprazol em pasta não foi eficaz na prevenção de úlcera do tipo 1a. Embora sem diferença entre os grupos, a ranitidina revelou o menor número de animais com lesões confirmadas pelo exame histológico; no entanto, este antagonista H₂ ocasionou aumento da frequência cardíaca. O pH e a acidez do conteúdo abomasal, as concentrações séricas do pepsinogênio e da lisozima, bem como a pesquisa de sangue oculto fecal não se mostraram válidos para o diagnóstico da úlcera de abomaso do tipo 1a em ovinos adultos.

Palavras-chave: Omeprazol. Pepsinogênio. pH abomasal. Ranitidina. Ruminantes.

ABSTRACT

MORGADO, A. A. **Preventive action of antacid drugs and potential biomarkers for abomasal ulcer due to phenylbutazone use in adult sheep.** [Ação preventiva de fármacos antiácidos e potenciais biomarcadores para úlcera abomasal decorrente do uso de fenilbutazona em ovinos adultos]. 2017. 83 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

Abomasal ulcers reduce welfare and production of milk and meat, but information about their etiopathogenesis, diagnosis, prevention and treatment is still insufficient, especially for adult ruminants. Protocols used for prevention and treatment of this disease are extrapolated from those determined for gastric lesions in monogastric animals. However, there are still uncertainties about the preventive effect of these drugs, the used doses and best route of administration to ruminants. The preventive action of ranitidine and omeprazole on the development of abomasal ulcers was tested. The antacid drugs were administered concomitantly to phenylbutazone over seven days (4.4 mg/kg twice a day, intravenously). Eight healthy sheep, cannulated in abomasum, were distributed in two 4x4 Latin squares and treated with 2 mg/kg of ranitidine every 12 hours; 0.4 mg/kg of omeprazole, administered intravenously once a day; 4 mg/kg of omeprazole paste, administered orally once a day; or no antacid drug (control). Intravenously administered omeprazole caused phlebitis and a higher number of animals had lesions in the abomasal mucosa. Omeprazole paste was not effective in the prevention of type 1a ulcer. Although there was no difference between groups, ranitidine showed the lowest number of animals with lesions diagnosed by histological examination; however, this H₂ antagonist caused an increase in heart rate. Measurements of pH and acidity of abomasal contents, serum pepsinogen and lysozyme concentrations, as well as fecal occult blood screening were concluded not to be valid biomarkers for type 1a abomasal ulcers in adult sheep.

Keywords: Abomasal pH. Omeprazole. Pepsinogen. Ranitidine. Ruminants.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Pregas da mucosa fúndica normal de ovino visualizadas ao exame endoscópico - São Paulo – 2017.....	48
Figura 2 - Pregas da mucosa fúndica de abomaso de ovino após sete dias de tratamento com fenilbutazona, Hematoxilina eosina, x20 – São Paulo – 2017.....	48
Figura 3 – Código QR para visualização da evolução das imagens endoscópicas das lesões induzidas por fenilbutazona em região pilórica de abomaso ovino - São Paulo – 2017.....	49
Figura 4 – Úlcera tipo 1a em mucosa pilórica de ovino após sete dias de tratamento com fenilbutazona. Hematoxilina eosina, x 20 - São Paulo – 2017.....	50
Figura 5: Cirurgia para implantação de cânula abomasal com auxílio da laparoscopia - São Paulo, 2014.....	71
Figura 6: Sequência do pós-operatório da cirurgia para implantação de cânula abomasal por laparoscopia em ovino - São Paulo, 2014.....	71
Figura 7: Sequência das imagens obtidas por meio de laparoscopia para abomasopexia e implantação de cânula - São Paulo, 2015.....	72
Figura 8: Sequência do procedimento cirúrgico para implantação de cânula abomasal utilizando-se a técnica de laparoscopia - São Paulo, 2015.....	73
Figura 9: Animal saudável e com a ferida cirúrgica cicatrizada cinco dias após a cirurgia - São Paulo, 2015.....	74
Figura 10: Processo inflamatório verificado 14 dias após a canulação em decorrência do uso de sonda de material rígido - São Paulo, 2015.....	74
Figura 11: Fístula abomasal cicatrizada após substituição da seringa rígida por sonda de material flexível - São Paulo, 2015.....	74
Figura 12: Retirada da sonda Pezzer do interior do abomaso com auxílio da endoscopia abomasal - São Paulo, 2015.....	75
Figura 13: Animal canulado com sonda Foley - São Paulo, 2015.....	76
Figura 14: Eventração de abomaso canulado - São Paulo, 2015.....	77

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Valores médios, erro padrão da média e probabilidades dos contrastes do consumo efetivo de feno (% de peso vivo) de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017.....38
- Tabela 2 - Valores médios, erro padrão da média e probabilidades das variáveis que compõem o exame físico de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017.....38
- Tabela 3 - Valores médios, do erro padrão das médias e das probabilidades das variáveis que compõem o hemograma de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017.....40
- Tabela 4 - Valores médios, do erro padrão das médias e das probabilidades das variáveis bioquímicas de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017.....42
- Tabela 5 – Frequência de animais acometidos e probabilidades das variáveis que compõem a avaliação microscópica das biopsias abomais de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017.....51

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Valores médios diários da frequência cardíaca de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017.....	39
Gráfico 2 – Valores médios diários do volume globular (%) de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017.....	40
Gráfico 3 – Valores médios diários da concentração plasmática do fibrinogênio (g/L) de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017.....	41
Gráfico 4 – Valores médios diários da atividade sérica de AST (a 30°C) de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos – 2017.....	42
Gráfico 5 – Valores médios diários da concentração sérica de proteína total de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017.....	43
Gráfico 6 – Valores médios diários da concentração sérica de albumina de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos – 2017.....	43
Gráfico 7 – Valores médios diários do potássio sérico de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017.....	44
Gráfico 8 – Valores médios diários da concentração plasmática de glicose de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017.....	44
Gráfico 9 – Valores médios diários do pH abomasal de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017.....	45
Gráfico 10 – Valores médios diários da acidez titulável do conteúdo abomasal de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017.....	46
Gráfico 11 – Valores médios diários da concentração sérica de pepsinogênio de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017.....	46

Gráfico 12 – Valores médios diários da variação das absorbências da lisozima sérica de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017.....	47
Gráfico 13 – Ocorrência de úlcera em região pilórica do abomaso de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017.....	49

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	20
2. REVISÃO DE LITERATURA	22
3. MATERIAL E MÉTODOS	29
3.1 Procedimento para canulação	29
3.2 Adaptação e instalação.....	30
3.3 Delineamento experimental.....	30
3.3.1 Alimentação.....	31
3.3.2 Acompanhamento do estado geral.....	31
3.3.3 Coleta e processamento das amostras de fluido abomasal	32
3.3.4 Coleta e processamento das amostras de sangue	32
3.3.5 Coleta e processamento das amostras de fezes.....	34
3.3.6 Acompanhamento macroscópico e histopatológico das lesões abomasais	34
3.4 Análise estatística	35
4. RESULTADOS.....	37
4. DISCUSSÃO	52
5. CONCLUSÕES	63
REFERÊNCIAS.....	64
APÊNDICES	69

1. INTRODUÇÃO

É inegável que a importância do agronegócio tem crescido com o aumento da população mundial. Em se tratando da pecuária, para atender a demanda do mercado consumidor e tornar a atividade o mais rentável possível, os atuais sistemas intensivos de criação requerem o máximo desempenho de seus animais quanto à produção de carne ou leite. Essa elevada exigência metabólica, associada à grande quantidade de concentrado energético na dieta podem predispor ao aparecimento de transtornos gastrointestinais, como rumenites, meteorismo, acidose láctica ruminal, bem como deslocamento e úlcera de abomaso.

Dentre as enfermidades supracitadas, a úlcera abomasal merece destaque pelas profundas lacunas ainda existentes em relação a sua etiopatogenia, diagnóstico, prevenção e tratamento, especialmente quando acomete animais adultos.

Para demonstrar o quão restrito é o panorama sobre o tema realizou-se em outubro de 2017 a procura por trabalhos indexados pelas palavras “abomasal ulcers” nas principais bases de dados de ciências biológicas. A base *Embase* revelou 55 resultados; *Medline*, 69; *The Animal Health and Production Compendium*, 81; *Pubmed*, 93; e *Web of Science*, 100 resultados.

Detalhando os resumos apresentados pela *Web of Science*, temos que quase metade dos artigos (47%) aborda a doença em bezerros ou cordeiros; 14% dos resumos apresentados não são diretamente ligados ao tema e 3% não têm nenhuma relação com o assunto; 28% compõem relatos de casos que tratam da etiologia, patomorfologia, tratamento ou achados clínicos em animais adultos; apenas 3% versam sobre a ocorrência da doença em ruminantes adultos; outros 3% testam ferramentas laboratoriais para o diagnóstico da enfermidade; para finalizar, 2% são artigos do tipo revisão.

Com base no exposto, este projeto foi delineado com a finalidade de tentar responder algumas das incógnitas que abarcam a úlcera de abomaso em ruminantes adultos. Visando padronizar ao máximo as condições do estudo para

permitir autênticas comparações entre os grupos experimentais optou-se por estabelecer um modelo para indução das lesões em ovinos saudáveis. Para isso os animais foram expostos à elevada dose de fenilbutazona, pois o uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) é um dos fatores predisponentes da doença.

Objetivou-se, portanto, comparar o efeito dos fármacos antiácidos mais empregados em espécies monogástricas na prevenção de lesões induzidas com AINE e verificar se a mensuração do pH e acidez abomasais, do sangue oculto fecal e da concentração sérica do pepsinogênio e da lisozima poderiam atuar como biomarcadores para o diagnóstico da doença.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Em decorrência do conhecimento ainda insuficiente sobre o assunto tem-se que as perdas econômicas implicadas pelas lesões abomasais em geral não podem ser estimadas com precisão; entretanto já foi comprovado que diminuição no bem-estar e na produção de leite, menor consumo de alimentos e menor ganho de peso são consequências dessa enfermidade (WALLACE; REECY; WILLIAMS, 1994; RADOSTITS et al., 2007).

Relata-se que as úlceras abomasais ocorrem principalmente em bovinos (BORGES; MOSCARDINI, 2007; RADOSTITS et al., 2007; FRANCOZ; GUARD, 2015), contudo, estudos sobre a ocorrência da doença em ruminantes adultos não são tão comuns e versam, principalmente, sobre a inspeção no abate apenas de bovinos (BRAUN; EICHER; EHRENSPERGER, 1991; HUND; BEER; WITTEK, 2016) ou sobre levantamentos de casuísticas hospitalares em locais cujo número de pacientes é majoritariamente da espécie bovina (PALMER; WHITLOCK, 1983; BRAUN; BRETSCHER; GERBER, 1991; SILVA FILHO et al., 2012). Com estes dados, portanto, não parece totalmente adequado assegurar que ocorra menor incidência em pequenos ruminantes. É provável que tal afirmação decorra apenas da escassez de estudos nestas espécies, pois no século passado eram raros relatos de lesão em ovinos (ANGUS; BANNATYNE, 1970); no entanto a enfermidade tem sido descrita com maior frequência na última década (HAJIMOHAMMADI et al., 2010; JASSIM; YOUSIF; KSHASH, 2014; KHODAKARAM-TAFTI; HAJIMOHAMMADI; AMIRI, 2015).

As lesões abomasais resultam do desequilíbrio dos mecanismos de defesa da mucosa gástrica, cuja origem pode ser primária ou secundária e variar de acordo com a faixa etária animal. Aponta-se que excesso de pepsina; traumas diretos decorrentes do tipo de alimentação ou da presença de parasitas; distensão abomasal; presença de linfoma; indigestão vagal; deslocamento ou impactação de abomaso; algumas doenças virais (diarreia viral bovina, vírus da peste bovina e febre catarral maligna); algumas infecções bacterianas (*Clostridium perfringes* tipo A ou D, *Eschereichia coli*) ou fúngicas; hiperacidez decorrente do excesso de ácidos

graxos de cadeia curta; estresse e o uso prolongado de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) são possíveis desencadeadores da doença (SMITH; BECHT; WHITLOCK, 1992; HUNGERFORD, 2001; OGILVIE, 2005; BORGES; MOSCARDINI, 2007; RADOSTITS et al., 2007; FECTEAU; WHITLOCK, 2009; FRANCOZ; GUARD, 2015).

De acordo com a etiologia, Borges e Moscardini (2007) qualificam as lesões abomasais como não pépticas ou pépticas. As primeiras fazem referência às lesões secundárias a traumas, neoplasias ou infecções, enquanto as úlceras pépticas são desencadeadas pela ação de algum ácido na mucosa fragilizada, em especial o ácido clorídrico.

A classificação mais utilizada, no entanto, foi descrita pela primeira vez por Whitlock, em 1980, e se baseia na extensão e profundidade da lesão, bem como no comprometimento clínico do animal. As lesões são graduadas em quatro estágios: úlceras não perfuradas não sangrantes (tipo I), lesões caracterizadas por incompleta penetração da parede do órgão com mínimo grau de hemorragia local, espessamento focal da parede ou serosite local; úlcera não perfurada com elevada perda de sangue (tipo II), semelhante à lesão do tipo I, mas com acometimento de importante vaso sanguíneo, resultando em hemorragia; úlcera perfurada associada à peritonite local (tipo III) ou à peritonite difusa (tipo IV), casos em que ocorre comprometimento de toda a espessura da parede do abomaso, com extravasamento de seu conteúdo (SMITH, BENTCH, WHITLOCK, 1992; RADOSTITS et al., 2007).

As úlceras do tipo I podem ainda ser subdivididas de acordo com definição de Braun, Eiher e Ehrensperger (1991), a saber: erosões com mínimos defeitos e descoloração da mucosa, em que se observam edema, necrose, perda do epitélio superficial ou redução das células caliciformes (tipo Ia); lesões até a submucosa, de aparência bem definida, com necrose aguda no centro da lesão e associadas à hemorragia local (tipo Ib); lesão que atinge a camada submucosa e apresenta tecido de granulação em sua base (tipo Ic); ou úlcera com redução do número de glândulas e de células em proliferação nas glândulas e fibrose (tipo Id).

A partir da descrição das características das lesões é possível perceber que as manifestações clínicas variam drasticamente dependendo da gravidade da úlcera (BRAUN; EICHER; EHRENSPERGER, 1991; BRAUN, 2005; BORGES;

MOSCARDINI, 2007; FECTEAU; WHITLOCK, 2009). Na forma mais amena (tipo I) os animais podem apresentar moderada dor abdominal localizada na região ventral direita, hiporexia, diminuição da motilidade ruminal e meteorismo ruminal mediano, mas em muitos casos não demonstram seu desconforto. As fezes podem aparecer em quantidade reduzida ou normal e, às vezes, com aspecto rançoso devido ao maior tempo de trânsito (FRANCOZ; GUARD, 2015).

Na úlcera hemorrágica (tipo II) costuma-se verificar anorexia e estase ruminal associados à dor abdominal, taquicardia, taquipneia e queda na produção. Pode ocorrer palidez das mucosas e choque hemorrágico dependendo do grau de anemia causado pela perda de sangue (RADOSTITS *et al.*, 2007; FRANCOZ; GUARD, 2015). Relata-se ainda aparecimento de bruxismo periódico e apetite caprichoso (OGILVIE, 2000), além de aumento da ingestão hídrica (BORGES; MOSCARDINI, 2007). As fezes costumam ser escuras e escassas, havendo ocasionalmente surto de diarreia. Diz-se que a manifestação de melena é sinal quase patognomônico da doença, no entanto, o excremento em geral apresenta-se com essa característica apenas durante quatro a seis dias, depois dos quais o animal inicia sua recuperação ou recai em estágio de ulceração crônica, sem evidência direta de presença de sangue nas fezes. Nestes casos o teste do sangue oculto fecal é considerado ferramenta de grande ajuda para o diagnóstico da enfermidade (RADOSTITS *et al.*, 2007).

Em úlceras do tipo III ocorre extravasamento agudo de conteúdo abomasal, que é detido por fibrina, fazendo com que surjam aderências entre o órgão e o peritônio parietal e/ou omento (REBHUN, 2000). É comum haver desidratação moderada e bruxismo. Ao exame do hemisfério abdominal direito pode-se diagnosticar distensão abomasal, sendo possível identificar som de “chapinhar na água” em resposta à sucussão e manifestação de dor após palpação profunda do órgão na região caudal da apófise xifoide. O animal pode apresentar febre intermitente, ausência de motilidade ruminal e moderado meteorismo. Neste tipo de úlcera raramente há sangramento nas fezes (RADOSTITS *et al.*, 2007; FRANCOZ; GUARD, 2015).

As úlceras perfuradas que ocasionam grande extravasamento de conteúdo resultam em peritonite difusa aguda (tipo IV). Seu curso geralmente é rápido e em

24 horas há desenvolvimento de choque séptico. O animal se apresenta anorético, desidratado, febril, taquicárdico, com pulso filiforme e com atonia do trato gastrointestinal. O aumento abdominal pode ser evidente como consequência do meteorismo ruminal ou do acúmulo de fluido peritoneal. Evidencia-se dor através de gemidos expiratórios e/ou de bruxismo. As extremidades e a pele ficam frias e o animal geralmente se posiciona em decúbito (REBHUN, 2000; FRANCOZ; GUARD, 2015).

Vale ressaltar que a anamnese detalhada e o exame físico minucioso são de suma importância quando há suspeita de lesão abomasal, pois, como ainda não foram relatados biomarcadores específicos para a enfermidade, o diagnóstico é baseado apenas nas manifestações clínicas e nos relatos do proprietário. Não é raro, no entanto, o animal não apresentar nenhuma alteração quando acometido pelas úlceras do tipo I, fazendo com que tais lesões sejam identificadas apenas nos abatedouros ou sala de necropsia (BRAUN; EICHER; EHRENSPERGER, 1991; BORGES; MOSCARDINI, 2007).

Uma vez estabelecido o diagnóstico deve-se indicar o tratamento. Para iniciar o processo de cicatrização da ferida preconiza-se não apenas a neutralização do ácido clorídrico, mas a interrupção de sua liberação, de forma a permitir que o muco protetor recubra a lesão na mucosa. Sabe-se que o HCl abomasal é secretado por meio da ação da acetilcolina, da gastrina e da histamina (ARGENZIO, 2006; HALL, 2011), sendo que a inibição de apenas uma dessas substâncias ou de um de seus receptores é capaz de reduzir consideravelmente a secreção ácida (DOWLING, 1995).

Sendo assim, a forma mais eficiente para tratar e prevenir úlcera de abomaso fundamenta-se em impedir a secreção de HCl pelas células parietais. Para isso podem ser utilizados fármacos antagonistas dos receptores H_2 ou fármacos inibidores das bombas de prótons.

Cimetidina, ranitidina, famotidina e nizatidina são os antagonistas dos receptores H_2 comercializados atualmente. Estes medicamentos são caracterizados por promoverem a redução da secreção gástrica pelas células parietais de maneira reversível e competitiva, pois atuam nos mesmos receptores dos agonistas histaminérgicos (BOOTHE, 2003; FRANCOZ; GUARD, 2015).

O uso da cimetidina foi preterido em decorrência da elevada quantidade de efeitos colaterais apresentados pelo fármaco (GRANT; LANGTRY; BROGDEN, 1989). A famotidina e a nizatidina são medicamentos ainda pouco empregados em medicina veterinária devido ao elevado custo. A ranitidina, portanto, é o fármaco de escolha desta categoria.

Este medicamento tem sido utilizado no tratamento de doenças gastrointestinais de várias espécies há décadas graças à ausência de reações adversas graves (BERTACCINI; SCARPIGNATO, 1982; MALFARÁ; SOUZA; QUEIROZ, 2005), por pouco influenciar o metabolismo hepático de outras substâncias (HENRY et al., 1980; GRANT; LANGTRY; BROGDEN, 1989) e por não alterar a atividade androgênica, como ocorria com o uso da cimetidina (GRANT; LANGTRY; BROGDEN, 1989). Seu efeito já foi comprovado em humanos (GRANT; LANGTRY; BROGDEN, 1989), cães, gatos, equinos e até mesmo em ruminantes (SPINOSA, 2011). Devido à sua conhecida eficácia e tolerabilidade, alguns autores afirmam que a ranitidina deveria ser priorizada quando a supressão de HCl é indicada (GRANT; LANGTRY; BROGDEN, 1989; BOOTHE, 2003; XAVIER; RIGHI; BERNARDI, 2011).

Os fármacos inibidores das bombas de prótons (IBP) foram introduzidos no mercado a partir de 1989 e, desde então, têm sido considerados os medicamentos mais efetivos no tratamento de úlceras gástricas por serem capazes de impedir a etapa final da formação do HCl (WOLFE, 2003). Os atuais representantes da categoria são omeprazol, lansoprazol, pantoprazol, rabeprazol, esomeprazol, dexlansoprazol e tenatoprazol. Dentre todos, o omeprazol é o mais utilizado em medicina veterinária em decorrência do custo do tratamento. Ele é específico, potente e de longa duração, característica importante por facilitar o manejo (AHMED; CONSTABLE; MISK, 2005).

Os IBP são denominados pró-fármacos, pois sua ação ocorre apenas após a conversão em seus metabólitos ativos quando a substância entra em contato com pH ácido. O pH de ativação depende da molécula, mas em geral varia de 4 a 5. O fármaco ativado, conhecido como sulfenamida tiofílica, se liga de forma covalente ao grupo sulfidril de cisteínas da membrana celular das bombas de prótons H^+K^+ -ATPase, impedindo a secreção de H^+ por estes canais que substituem íons

hidrogênio por íons potássio na superfície secretória da célula parietal (WOLFE, 2003; CONSTABLE et al., 2006; BRAGA; SILVA; ADAMS, 2011).

As células parietais são as únicas células do organismo com pH citoplasmático ácido, portanto constituem sítio de ação específico para os fármacos desta categoria. É preciso garantir, porém, que a substância seja absorvida no intestino delgado antes de ser ativada, do contrário torna-se inábil para adentrar a célula parietal e cumprir sua função (LINDENBERG et al., 1986). Em monogástricos os IBPs são, portanto, mais efetivos após período prolongado de jejum, momento em que há grande quantidade de bombas H^+K^+ -ATPase inativas e, conseqüentemente, o pH estomacal está mais elevado, permitindo melhor absorção do fármaco (WOLFE, 2003).

A meia-vida plasmática dos IBPs varia em torno de uma a duas horas apenas, mas graças à forte ligação com os receptores o efeito sobre a secreção ácida pode durar até 24 horas, sendo necessários, porém, no mínimo 3 dias de tratamento para a inibição da maior parte das bombas de prótons (BRAGA; SILVA; ADAMS, 2011).

Trabalhos envolvendo a farmacocinética e farmacodinâmica do omeprazol foram delineados em camelídeos adultos (CHRISTENSEN et al., 2001; POULSEN et al., 2005), porém se faz mister a realização de estudos em ruminantes verdadeiros. No trabalho de Christensen et al (2001), doses de 0,2; 0,4 e 0,8 mg/kg de peso vivo foram administradas por via intravenosa em lhamas adultas e saudáveis, concluindo-se haver efeito farmacocinético não linear dose dependente, com semelhante redução na produção de ácido clorídrico para as doses de 0,4 e 0,8 mg/ kg de peso vivo.

Poulsen et al. (2005) estudaram os parâmetros farmacocinéticos de lhamas após recebimento de quatro a 12mg/kg de omeprazol em pasta, via oral, durante seis dias. Com base nas concentrações plasmáticas observadas, os autores concluíram que a absorção do fármaco quando fornecido por esta via de administração provavelmente não seja satisfatória para a prevenção ou tratamento de úlcera; os efeitos diretos no conteúdo abomasal, no entanto, não foram mensurados.

O uso do omeprazol pela via oral ainda é considerado controverso para ruminantes, pois alguns autores suspeitam que possa ocorrer diluição do fármaco nos pré-estômagos, havendo lenta liberação no abomaso e, conseqüentemente, baixa eficácia do tratamento (FRANCOZ; GUARD, 2015). Não obstante, recente estudo com o uso do medicamento envolto por cápsula gastroresistente em bovinos acometidos por úlcera revelou diminuição da presença de sangue oculto nas fezes dos animais tratados em comparação aos que não receberam o antiácido (VILLA FILHO, 2014). A avaliação do fármaco sob apresentação comercial na forma de pasta, porém, ainda se faz necessária.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, sob protocolo nº 6205042014.

Oito carneiros adultos castrados, sem raça definida, hígidos, desparasitados e providos de cânula abomasal foram aleatoriamente distribuídos em dois Quadrados Latinos 4x4 contemporâneos, casualizados e balanceados, perfazendo 32 unidades experimentais (UE); oito UE para cada tratamento.

3.1 Procedimento para canulação

As cirurgias foram realizadas nas dependências do HOVET da FMVZ/USP, setor de Cirurgia de Grandes Animais. As cânulas foram implantadas na curvatura maior do abomaso, segundo procedimento cirúrgico descrito por Haskell (2004). Os animais foram sedados com cloridrato de xilazina a 2% na dose de 0,1 mg/kg por via intramuscular. Após 10 minutos foram administrados cloridrato de cetamina a 10% na dose de 2,0 mg/kg e propofol na dose de 2,6 mg/kg, ambos por via intravenosa. Os animais foram mantidos em plano anestésico com isoflurano vaporizado em oxigênio a 80%, conforme protocolo anestésico do Departamento de Cirurgia da FMVZ-USP. No pós-operatório os animais receberam anti-inflamatório não esteroidal à base de flunixin meglumine na dose de 1,1 mg/kg por via intravenosa durante três dias e duas doses de 20.000 UI/kg de penicilina benzatina por via intramuscular para terapia antibiótica profilática.

Após alguns testes (pormenorizados no Apêndice 1, seção 2.2) optou-se por utilizar como cânulas sondas Foley de número 22 ou 24, dependendo do diâmetro da fístula.

3.2 Adaptação e instalação

Para que houvesse controle do consumo da dieta fornecida, os ovinos foram alojados em baias individuais teladas, que permitiam contato visual e olfativo entre os animais. Durante todo o período experimental os animais permaneceram nas dependências do Centro de Estudos em Doenças Nutricionais e Metabólicas do Departamento de Clínica Médica (FMVZ/USP).

O interregno entre a implantação das cânulas e o início do experimento variou de seis a onze meses, tempo suficiente para total adaptação dos animais às cânulas e ao manejo nutricional e sanitário utilizados.

3.3 Delineamento experimental

A indução das lesões abomasais foi realizada com 4,4 mg/kg de fenilbutazona pela via intravenosa, a cada 12 horas, durante sete dias consecutivos, adaptando protocolo utilizado por Mozaffari e Derakhshanfar (2012).

Concomitantemente ao uso da fenilbutazona realizou-se administração dos fármacos antiácidos ranitidina ou omeprazol (sob apresentação injetável ou oral) nos grupos tratados. O grupo controle recebeu apenas o anti-inflamatório indutor das lesões, de forma que o desenho experimental foi o seguinte:

- *Tratamento 1:* 4,4mg/kg de fenilbutazona + 2mg/kg de ranitidina, pela via intravenosa, a cada doze horas, por sete dias e meio;
- *Tratamento 2:* 4,4mg/kg de fenilbutazona + 0,4 mg/kg de omeprazol, pela via intravenosa, uma vez ao dia, por oito dias;
- *Tratamento 3:* 4,4mg/kg de fenilbutazona + 4 mg/kg de omeprazol, pela via oral, uma vez ao dia, por oito dias;
- *Tratamento 4:* apenas 4,4mg/kg de fenilbutazona;

Cada período experimental perdurou dez dias, sendo que houve administração da fenilbutazona nos sete primeiros e dos fármacos antiácidos até o oitavo dia pela manhã. O intervalo para eliminação dos fármacos do organismo, chamado período de descanso (*“wash out”*), entre cada período experimental foi de onze dias.

3.3.1 Alimentação

A quantidade de alimento fornecida foi ajustada de acordo com a necessidade dos animais. Durante o experimento os ovinos receberam diariamente 2,5% do peso vivo em matéria seca, sendo 80% em feno *coast cross* com média de 9,7% de proteína bruta; 400g de ração comercial; e suplementação com 10g de sal mineral específico para ovinos.

Imediatamente antes do início de cada período experimental os animais eram pesados e a quantidade de feno a ser fornecida era recalculada de acordo com o peso vivo atualizado.

Os animais recebiam a dieta em sua totalidade uma vez ao dia, preferencialmente às 10 horas da manhã, após todas as coletas diárias para tentar reduzir interferências nos valores de pH e acidez abomasais, bem como na obtenção das imagens endoscópicas. As sobras de feno foram mensuradas diariamente e a partir destes valores calculou-se o consumo efetivo (porcentagem do peso vivo) com base nos valores de matéria seca.

3.3.2 Acompanhamento do estado geral

O exame físico foi realizado diariamente durante os dez dias de cada período experimental. Ressalta-se que todas as avaliações foram feitas pela mesma observadora, com a qual os animais já estavam habituados, a fim de evitar possíveis vieses. Os exames foram realizados no primeiro horário de cada dia, com as luzes apagadas e em silêncio, para garantir que os animais estivessem tranquilos.

Utilizou-se sempre a mesma ordem dos animais para a avaliação visando padronizar o horário da coleta de dados.

3.3.3 Coleta e processamento das amostras de fluido abomasal

Amostras de fluido abomasal foram obtidas diariamente, antes da administração dos fármacos e do fornecimento da alimentação. Para a coleta do conteúdo retirava-se a sonda Foley e introduzia-se uma haste tubular de borracha flexível (sonda Pezzer adaptada) pela fístula, com auxílio de uma pinça hemostática e gel de lubrificação. Requeria-se quantidade mínima de 10mL de fluido para cada análise.

Os valores de pH do abomaso foram aferidos imediatamente após a coleta das amostras em potenciômetro digital de bancada com sensibilidade de 0,01, acoplado a eletrodo íon sensível previamente calibrado com soluções tampão de pH 2,0 e 7,0.

Após a mensuração inicial do pH, uma alíquota de 10mL das amostras foi titulada com solução de NaOH 0,1N para determinação da acidez titulável do conteúdo abomasal. A cada 2mL de solução de NaOH acrescidos ao conteúdo abomasal aferia-se novamente o valor de seu pH, até que este ficasse próximo a 7,0. Foram, então, determinadas as equações de regressão linear para cada amostra e calculados os valores de acidez, em unidades clínicas, multiplicando-se por 10 a quantidade de NaOH (em mL) necessária para obtenção de pH neutro.

3.3.4 Coleta e processamento das amostras de sangue

Amostras de sangue foram coletadas diariamente por punção da veia jugular, com utilização de sistema a vácuo. As amostras foram imediatamente homogeneizadas, refrigeradas quando necessário e conduzidas ao laboratório para processamento e/ou armazenamento das alíquotas a -20°C para análise posterior.

O sangue total foi utilizado para determinação do fibrinogênio, do volume globular e das demais variáveis que compõem o hemograma. O volume globular foi

determinado diariamente a partir da centrifugação de microcapilares com sangue total por 5 minutos a 13.000 G. O teor diário de fibrinogênio plasmático foi determinado de acordo com a técnica descrita por Kaneko e Smith (1967).

O hemograma foi determinado em contador hematológico automático modelo ABC Vet, marca ABX[®] no primeiro e oitavo dias de cada período experimental. A contagem diferencial das células leucocitárias foi obtida pela avaliação microscópica do esfregaço sanguíneo.

As variáveis bioquímicas séricas foram determinadas no primeiro, quarto, oitavo e décimo dias de cada período experimental, em analisador bioquímico automático, modelo Labmax 240TM, marca Labtest[®]. Para dosar as concentrações séricas de ureia utilizou-se reagente da marca BioSystems[®], referência 11541; para creatinina, reagente 96-300, da marca Labtest[®]; para albumina, reagente 19-250, da marca Labtest[®]; para proteína total, reagente 99-250, da marca Labtest[®]; para cálcio, reagente 11570, da marca BioSystems[®]. Para mensurar as atividades das enzimas aspartato aminotransferase (AST) utilizou-se reagente da marca BioSystems[®], referência 11531; gama-glutamilttransferase (GGT), reagente da marca BioSystems[®], referência 11520; e creatinofosfoquinase (CK), reagente da marca Diasys[®], referência 116019910021. A glicose plasmática do primeiro e oitavo dias de cada período foi determinada em mesmo equipamento, utilizando reagente referência 125009910023, da marca Diasys[®].

As concentrações séricas de sódio, potássio e cloro no primeiro, quarto, oitavo e décimo dias de cada período experimental foram determinadas com eletrodo íon seletivo em analisador de gases e eletrólitos sanguíneos, modelo Cobas b 121, marca Roche[®].

As concentrações séricas do pepsinogênio no primeiro, quarto, oitavo e décimo dias de cada período experimental foram determinadas de acordo com método descrito por Dorny & Vercruysse (1998).

As concentrações séricas de lisozima no primeiro, quarto, oitavo e décimo dias de cada período experimental foram determinadas de acordo com método, descrito por SCOTT (não publicado; Apêndice 2), em que se mimetiza o pH ácido garantindo a mensuração apenas da lisozima estomacal. Adicionando tampão

contendo *Micrococcus lysodeikticus* como substrato, avaliou-se o comportamento da enzima por dez minutos através de leitura cinética com comprimento de onda de 450nm. Os resultados foram expressos como a diferença do valor final da absorbância subtraído do valor inicial, considerando apenas as curvas cinéticas lineares ($R^2 > 0,75$).

3.3.5 Coleta e processamento das amostras de fezes

Diariamente amostras de fezes foram coletadas da ampola retal de cada animal para a pesquisa de sangue oculto. Dois gramas de fezes de cada animal foram processados e avaliados com o conjunto de reagente comercial Hemoplus (código1031), marca Newprov[®].

3.3.6 Acompanhamento macroscópico e histopatológico das lesões abomasais

O acompanhamento da integridade da mucosa abomasal foi realizado através do exame de imagem com videogastrosκόpio flexível de 8,2 mm de diâmetro e 1100 mm de comprimento de trabalho (EG-250PE5, Fujinon[®]), acoplado a uma processadora de imagens com fonte de luz (System 2200 Processador, Fujinon[®]). Os exames foram realizados quatro dias antes do início de cada período experimental, bem como no segundo, quinto e oitavo dias. Para facilitar a visualização da mucosa, nestes dias os animais eram alimentados após a realização dos exames endoscópicos.

Para realização dos exames, as sondas Foley eram retiradas e o endoscópio era introduzido diretamente pela fístula abomasal para obtenção de imagens das regiões fúndica e pilórica de cada animal.

Quatro dias antes do início de cada período experimental e no oitavo dia foram realizadas biopsias das regiões fúndica e pilórica do abomaso. Os animais foram sedados com cloridrato de xilazina a 2% na dose de 0,05 mg/kg por via intramuscular. Quatro a seis fragmentos foram coletados de cada região e armazenados em solução de formol a 10%. As amostras foram encaminhadas ao

Laboratório de Histologia do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, onde foram incluídas em parafina e seccionadas em cortes 5µm de espessura para confecção das lâminas, que foram coradas com hematoxilina e eosina (HE).

O exame histopatológico das lâminas foi realizado em microscopia de luz, utilizando microscópio Primo Star (Zeiss, Alemanha). As imagens microscópicas foram realizadas em fotomicroscópio Eclipse NiU com câmara digital acoplada DSU3 (Nikon, Japão) e *software* NIS *element* para captura de imagens. A avaliação histopatológica dos fragmentos de biopsia foi realizada por observador que desconhecia a identificação, as características clínicas, laboratoriais e o grupo experimental ao qual cada unidade experimental pertencia.

Os fragmentos de biopsia abomasal foram analisados quanto às características morfológicas de: integridade ou não do epitélio superficial (erosão, reepitelização); dilatação/distorção das glândulas abomais fúndicas e pilóricas; redução e hiperplasia de células caliciformes; número de linfócitos intraepiteliais; intensidade e tipo do infiltrado inflamatório (linfócitos, plasmócitos, neutrófilos, eosinófilos e histiócitos), além da presença de edema, dilatação e congestão de vasos superficiais e hemorragia da lâmina própria.

As alterações observadas na mucosa abomasal receberam escore quanto ao grau de comprometimento, em que: escore 0 = normal, escore 1 = discretamente alterado, escore 2 = moderadamente alterado e escore 3 = alteração marcante. As lesões do epitélio superficial abomasal foram categorizadas em úlceras do tipo I a IV, sendo que as lesões do tipo I foram subdivididas em Ia, Ib, Ic ou Id, de acordo com classificação de Braun, Eiher e Ehrensperger (1991).

3.4 Análise estatística

Os resultados foram analisados no programa Statistical Analysis System (SAS), versão 9.3, 2010. Inicialmente verificou-se a normalidade dos resíduos com o teste de Shapiro-Wilk e realizou-se a busca por valores discrepantes com o procedimento UNIVARIATE.

Os dados que continuaram não respeitando a premissa da normalidade dos resíduos após exclusão dos valores discrepantes foram submetidos à transformação logarítmica $[\text{Log}(x+1)]$ ou à inversa $[1/x]$. Para todos os dados das variáveis sanguíneas, do exame físico e do conteúdo abomasal, transformados ou não, realizou-se análise de variância para delineamento em quadrado latino com medidas repetidas no tempo, utilizando o PROC MIXED para resolução das matrizes dos modelos mistos. Para cada variável foi selecionada a matriz que apresentou menor valor para Corrected Akaike Information Criterion (AICC) dentre as 15 testadas (WANG; GOONEWARDENE, 2004).

Os efeitos de tratamento, de tempo, e a interação tratamento*tempo representaram as fontes de efeitos fixos do modelo. Os efeitos de animal, de período, de quadrado e as interações animal*tempo, período*tempo e quadrado*tempo compuseram os efeitos aleatórios. A descrição dos efeitos de tratamento por tempo foi realizada quando a interação tratamento*tempo foi significativa.

Como os tratamentos utilizados para este estudo são estruturados em classes, o efeito de tratamento foi analisado por contrastes ortogonais, sendo decomposto em: (C1) controle versus tratados; (C2) omeprazol (IV+VO) versus ranitidina; e (C3) omeprazol intravenoso (IV) versus omeprazol via oral (VO).

Para a análise das variáveis histopatológicas foram utilizados os Modelos Mistos Lineares Generalizados (proc GLIMMIX), considerando-se efeito de tratamento como efeito fixo e efeito de quadrado, de animal e de período como efeitos aleatórios. Utilizaram-se os mesmos contrastes ortogonais para a decomposição do efeito de tratamento. Para todos os testes considerou-se nível de significância de 5%.

4. RESULTADOS

O modelo estatístico empregado neste estudo origina diversos valores de probabilidade: o valor de P referente à interação entre o tratamento instituído e tempo de coleta das amostras (Trat*T), o valor de P relativo ao tempo (T) e o valor de P relativo ao tratamento (Trat). Há ainda outros três valores de P, concernentes às probabilidades dos contrastes ortogonais previamente definidos (C1, C2 e C3), que se caracterizam pela decomposição do valor de P do tratamento.

Quando não há interação tratamento*tempo ou efeito de tempo não se faz necessária a apresentação dos valores obtidos em cada dia do experimento, sendo suficiente demonstrar apenas as médias de todos os dias de coleta dos dados. Além disso, caso não haja efeito de tratamento ($P_{\text{trat}} > 0,05$) não há necessidade de decompô-lo nos contrastes ortogonais. Considerando, porém, que este é o primeiro estudo com o intuito de induzir úlcera abomasal com anti-inflamatório em ruminantes adultos e avaliar o uso de fármacos antiácidos na prevenção dessas lesões, optou-se por pormenorizar os efeitos de tempo e tratamento de muitas das variáveis avaliadas na tentativa de entender em profundidade os resultados encontrados.

A Tabela 1 apresenta os valores médios, do erro padrão da média e das probabilidades dos contrastes do consumo efetivo de feno, em matéria seca, durante os dias de coleta. Não houve efeito de interação entre tratamento e tempo ($P = 0,3358$) ou efeito de tratamento ($P = 0,4831$), no entanto verificou-se efeito de tempo ($P < 0,0001$).

Tabela 1 - Valores médios, erro padrão da média e probabilidades dos contrastes do consumo efetivo de feno (% de peso vivo) de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017

Dia	Tratamentos				EPM	Probabilidades		
	Controle	Omeprazol IV	Omeprazol VO	Ranitidina		C1	C2	C3
1	1,97	1,98	1,97	1,96	0,02	NS	NS	NS
2	2,00	1,88	1,98	1,98	0,02	NS	NS	NS
3	1,94	1,93	1,92	1,99	0,02	NS	NS	NS
4	1,95	1,82	1,88	1,94	0,03	NS	NS	NS
5	2,00	1,97	1,96	1,97	0,01	NS	NS	NS
6	1,96	1,95	1,98	2,00	0,02	NS	NS	NS
7	1,99	1,96	1,98	1,97	0,01	NS	NS	NS
8	1,98	1,95	2,00	2,00	0,00	NS	NS	NS
9	1,81	1,61	1,90	1,78	0,06	NS	NS	NS
10	1,92	1,91	1,87	1,75	0,04	NS	NS	NS
média	1,95	1,90	1,94	1,93	0,01	NS	NS	NS

EPM = erro padrão da média; C1 = contraste controle x tratados; C2 = contraste omeprazol (IV + VO) x ranitidina; C3 = contraste omeprazol IV x VO; NS = não significativo.

Na tabela 2 são mostrados os valores médios, o erro padrão das médias e as probabilidades das variáveis que compõem o exame físico. A frequência cardíaca diária foi influenciada apenas pelo tratamento oferecido e é expressa em detalhes no gráfico 1. A frequência respiratória, a frequência de movimentos ruminais e a temperatura retal não foram influenciadas pela interação entre tratamento e tempo ou por cada um destes efeitos separadamente.

Tabela 2 - Valores médios, erro padrão da média e probabilidades das variáveis que compõem o exame físico de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017

Variável	Tratamentos				Média	EPM	Probabilidades					
	Controle	Omeprazol IV	Omeprazol VO	Ranitidina			Trat*T	T	Trat	C1	C2	C3
Freq. card., Bpm	73	75	74	81	75	1	NS	NS	0,04	NS	0,02	NS
Freq. resp., Mpm	27	25	28	31	27	1	NS	NS	NS	NS	NS	NS
MR em 3min	3	3	3	3	3	0	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Temperatura, °C	38,2	38,2	38,2	38,3	38,2	0	NS	NS	NS	NS	NS	NS

EPM = erro padrão da média; Trat*T = interação entre tratamento e tempo; T = efeito de tempo; Trat = efeito de tratamento; C1 = contraste controle x tratados; C2 = contraste omeprazol (IV + VO) x ranitidina; C3 = contraste omeprazol IV x VO; Freq. card. = frequência cardíaca; Bpm = batimentos por minuto; Freq. resp. = frequência respiratória; Mpm = movimentos respiratórios por minuto; NS = não significativo.

O gráfico 1 discrimina os valores médios diários da frequência cardíaca. Para esta variável não houve efeito de interação ($P=0,8559$) nem de tempo ($P=0,4244$). O efeito de tratamento ($P=0,0450$) resultou da diferença visualizada ao se comparar ranitidina com omeprazol ($C2: P=0,0152$). O contraste $C2$ médio foi significativo em decorrência das diferenças encontradas nos dias seis, sete e oito, em que os animais tratados com ranitidina apresentaram maiores médias que os que receberam omeprazol por qualquer via de administração ($C2: P=0,0048$; $0,0235$ e $0,0334$, respectivamente).

Gráfico 1 – Valores médios diários da frequência cardíaca de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017

Seta: primeiro dia sem administração de fenilbutazona e último dia do uso de antiácidos.

A tabela 3 mostra os valores médios, do erro padrão das médias e das probabilidades referentes às contagens de células sanguíneas das séries vermelha e branca, bem como da concentração de hemoglobina. Não houve efeito da interação entre tratamento e tempo, nem efeito de tratamento ou de tempo para nenhuma dessas variáveis. A decomposição do efeito de tratamento, no entanto, mostrou diferença quanto ao número dos linfócitos, sendo que os animais tratados com omeprazol por qualquer via de administração apresentaram menores valores médios que os tratados com ranitidina.

Tabela 3 - Valores médios, do erro padrão das médias e das probabilidades das variáveis que compõem o hemograma de ovinos com possível úlcera abomasaal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017

Variável	Tratamentos				Média	EPM	Probabilidades					
	Controle	Omeprazol IV	Omeprazol VO	Ranitidina			Trat*T	T	Trat	C1	C2	C3
Hemácias, $10^{12}/L$	8,33	9,21	9,53	8,74	8,95	0,34	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Hemoglobina, g/L	89,50	95,00	97,38	91,62	2,45	93,38	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Leucócitos, $10^9/L$	5,11	6,21	5,32	6,20	5,71	0,22	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Neutrófilos, $10^9/L$	2,70	3,69	3,08	3,40	3,22	0,17	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Linfócitos, $10^9/L$	2,20	2,00	1,87	2,40	2,12	0,11	NS	NS	NS	NS	0,03	NS
Monócitos, $10^9/L$	0,01	0,04	0,03	0,04	0,03	0,01	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Eosinófilos, $10^9/L$	0,20	0,34	0,23	0,36	0,28	0,04	NS	NS	NS	NS	NS	NS

EPM = erro padrão da média; Trat*T = interação entre tratamento e tempo; T = efeito de tempo; Trat = efeito de tratamento; C1 = contraste controle x tratados; C2 = contraste omeprazol (IV + VO) x ranitidina; C3 = contraste omeprazol IV x VO; NS = não significativo.

O gráfico 2 mostra os valores médios diários do volume globular (%). A média de todos os tratamentos foi 29,58% e o erro padrão da média (EPM) foi 0,34. Apesar da aparente diminuição dos valores de VG com o passar dos dias de indução não foram verificados efeitos de tratamento ($P=0,1553$), de tempo ($P=0,2251$) ou de sua interação ($P=0,6021$). A decomposição dos contrastes, contudo, revelou diferença entre os valores dos animais do grupo controle perante os demais no segundo, terceiro e quinto dias (C1: $P=0,0149$; 0,0210 e 0,0228, respectivamente).

Gráfico 2 – Valores médios diários do volume globular (%) de ovinos com possível úlcera abomasaal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017

Seta: primeiro dia sem administração de fenilbutazona e último dia do uso de antiácidos.

Os valores diários de fibrinogênio plasmático (g/L) estão representados no gráfico 3. Não houve efeito de tratamento ($P=0,1904$), de tempo ($P=0,6718$) ou da interação entre ambos ($P=0,1347$); no entanto, a comparação das médias dos grupos indicou que os animais tratados com omeprazol IV (média = 3,29g/L) apresentaram maiores concentrações dessa proteína de fase aguda que os tratados com omeprazol VO (média 2,75g/L), com $P = 0,0486$. Esta diferença obtida entre as duas formas de administração do omeprazol foi influenciada pelos valores de P encontrados no quarto e no nono dias (C3: $P = 0,0345$ e $0,0248$, respectivamente). Paralelamente, no quinto dia todos os animais que receberam algum antiácido apresentaram maiores médias que os animais do grupo controle (C1: $P = 0,0149$).

Gráfico 3 – Valores médios diários da concentração plasmática do fibrinogênio (g/L) de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017

Seta: primeiro dia sem administração de fenilbutazona e último dia do uso de antiácidos.

A tabela 4 ilustra os valores médios, do erro padrão das médias e das probabilidades das variáveis bioquímicas. O detalhamento dos valores obtidos para as variáveis que apresentaram algum dos efeitos testados ($P<0,05$) encontram-se nos gráficos 4 a 8.

Tabela 4 - Valores médios, do erro padrão das médias e das probabilidades das variáveis bioquímicas de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017

Variável	Tratamentos				Média	EPM	Probabilidades					
	Controle	Omeprazol IV	Omeprazol VO	Ranitidina			Trat*T	T	Trat	C1	C2	C3
Cálcio, mmol/L	2,48	2,46	2,47	2,49	2,47	0,02	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Fósforo, mmol/L	1,73	1,84	1,64	1,81	1,76	0,04	NS	NS	NS	NS	NS	0,03
AST, U/L a 30°C	56,31	59,68	58,59	56,57	57,89	2,77	NS	0,01	NS	NS	NS	NS
GGT, U/L a 30°C	36,83	38,89	38,68	37,99	38,52	0,93	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CK, U/L a 30°C	73,75	95,32	69,53	77,66	79,07	8,42	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Ureia, mmol/L	5,91	6,12	5,89	6,26	6,04	0,11	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Creatinina, µmol/L	94,89	95,61	94,84	92,49	94,46	1,21	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Proteína total, g/L	74,18	75,27	74,03	74,19	74,41	0,55	NS	0,01	NS	NS	NS	NS
Albumina, g/L	33,18	33,36	33,66	33,40	33,40	0,17	NS	0,03	NS	NS	NS	NS
Sódio, mmol/L	144,34	144,17	143,81	144,24	144,14	0,20	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Potássio, mmol/L	4,66	4,69	4,75	4,73	4,71	0,03	0,02	NS	NS	NS	NS	NS
Cloro, mmol/L	109,08	108,01	109,04	108,41	108,64	0,33	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Glicose, mmol/L	3,36	3,36	3,32	3,37	3,35	0,04	0,01	NS	NS	NS	NS	NS

EPM = erro padrão da média; Trat*T = interação entre tratamento e tempo; T = efeito de tempo; Trat = efeito de tratamento; C1 = contraste controle x tratados; C2 = contraste omeprazol (IV + VO) x ranitidina; C3 = contraste omeprazol IV x VO; NS = não significativa.

O efeito de tempo para a atividade sérica da enzima aspartato amino transferase (AST) é detalhado no gráfico 4. Os valores médios obtidos no dia 10 foram 46% superiores aos do dia 8 para os animais do grupo controle, 18% para os tratados com omeprazol IV, 32% para os tratados com omeprazol VO e 5% para os tratados com ranitidina.

Gráfico 4 – Valores médios diários da atividade sérica de AST (a 30°C) de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos – 2017

Seta: primeiro dia sem administração de fenilbutazona e último dia do uso de antiácidos.

Efeito de tempo também foi evidenciado para as concentrações de proteína sérica ($P=0,0055$) e albumina ($P=0,0292$), ilustrados nos gráficos 5 e 6, respectivamente.

Gráfico 5 – Valores médios diários da concentração sérica de proteína total de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017

Seta: primeiro dia sem administração de fenilbutazona e último dia do uso de antiácidos.

Gráfico 6 – Valores médios diários da concentração sérica de albumina de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos – 2017

Seta: primeiro dia sem administração de fenilbutazona e último dia do uso de antiácidos.

O gráfico 7 especifica o comportamento do potássio sérico. A interação observada na tabela 4 ($P = 0,0185$) indica que houve influência tanto do tratamento quanto do tempo de uso dos fármacos.

Gráfico 7 – Valores médios diários do potássio sérico de ovinos com possível úlcera abomasa induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017

Seta: primeiro dia sem administração de fenilbutazona e último dia do uso de antiácidos.

O gráfico 8 ilustra os valores obtidos para glicose plasmática no primeiro e oitavo dias do período experimental.

Gráfico 8 – Valores médios diários da concentração plasmática de glicose de ovinos com possível úlcera abomasa induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017

Seta: primeiro dia sem administração de fenilbutazona e último dia do uso de antiácidos.

O gráfico 9 detalha os valores diários do pH abomasal. O valor médio para todos os tratamentos foi 2,69, com erro padrão da média de 0,01. Não foi verificada interação tratamento*tempo ($P=0,4329$), nem efeito de tratamento ($P=0,4434$) ou de tempo ($P=0,3881$). Apesar disso, a avaliação dos contrastes revelou que os animais tratados com ranitidina apresentaram maior valor médio que os animais tratados com omeprazol no primeiro e no oitavo dias (C2: $P = 0,0126$ e $0,0193$, respectivamente).

Gráfico 9 – Valores médios diários do pH abomasal de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017

Seta: primeiro dia sem administração de fenilbutazona e último dia do uso de antiácidos.

O gráfico 10 apresenta os valores diários da acidez titulável do conteúdo abomasal. O valor médio para todos os tratamentos foi 60,4 unidades clínicas, com erro padrão da média de 0,4. Não houve interação tratamento*tempo ($P=0,1383$), nem efeito de tratamento ($P=0,9593$) ou de tempo ($P=0,4648$). No sétimo dia, porém, os animais tratados com omeprazol VO requereram 5 unidades clínicas a mais de base para neutralizar o pH de seu conteúdo que os que receberam omeprazol IV (C3: $P = 0,0365$). No dia anterior o valor de P para o contraste C3 foi 0,0527. Não foram encontradas diferenças nos demais momentos.

Gráfico 10 – Valores médios diários da acidez titulável do conteúdo abomasal de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017

Seta: primeiro dia sem administração de fenilbutazona e último dia do uso de antiácidos.

No gráfico 11 encontram-se os valores de pepsinogênio séricos, expressos em mU de tirosina/ litro de soro. Não foram encontradas diferenças entre tratamento ou tempo nem interação entre eles.

Gráfico 11 – Valores médios diários da concentração sérica de pepsinogênio de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017

Seta: primeiro dia sem administração de fenilbutazona e último dia do uso de antiácidos.

O gráfico 12 representa os valores das variações da absorbância no minuto inicial e após dez minutos de leitura, indicando o consumo da bactéria *Micrococcus lysodeikticus*. Para essa variável também não foram obtidas diferenças entre a interação tratamento e tempo ($P=0,9071$), bem como efeito de tempo ($P=0,0609$), de tratamento ($P=0,6582$) ou de sua decomposição (C1: $P=0,2290$; C2: $P=0,7920$; C3: $P=0,8373$).

Gráfico 12 – Valores médios diários da variação das absorbâncias da lisozima sérica de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017

Seta: primeiro dia sem administração de fenilbutazona e último dia do uso de antiácidos.

As fezes mostraram-se normais durante todo o período experimental e a procura pelo sangue oculto apresentou resultado negativo em todos os testes.

Os exames de endoscopia e a avaliação histopatológica revelaram não haver injúrias nas mucosas abomasais antes do início de cada período experimental. Após os sete dias de uso da fenilbutazona os animais não apresentaram lesões em região fúndica (Figuras 1 e 2).

Figura 1 – Exame endoscópico das pregas de mucosa fúndica de ovino sem lesão abomasal - São Paulo – 2017

Figura 2 – Pregas da mucosa fúndica de abomaso de ovino após sete dias de tratamento com fenilbutazona, Hematoxilina eosina, x20 – São Paulo – 2017

Ao final de cada período experimental, porém, grande parte das unidades experimentais foi diagnosticada com úlcera em região pilórica (Gráfico 13), constatando a eficiência do protocolo de indução. Todas as lesões foram classificadas como do tipo Ia, mostrando-se recobertas por exsudato fibrino-neutrófilico (Figuras 3 e 4).

Gráfico 13 – Ocorrência de úlcera em região pilórica do abomaso de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017

O vídeo visualizado com o código QR a seguir (Figura 3) ilustra a evolução das lesões. Pode-se perceber com clareza a presença de maior quantidade de fibrina no quinto e oitavo dias após início da indução.

Figura 3 – Código QR para visualização da evolução das imagens endoscópicas das lesões induzidas por fenilbutazona em região pilórica de abomaso ovino - São Paulo – 2017

Para visualização do vídeo utilize um aplicativo para leitura de *QR code*, que pode ser encontrado na loja de aplicativos de seu celular como "QR scanner" ou acesse o endereço <https://youtu.be/sDYMCPBWAKI>.

Figura 4 – Úlcera tipo 1a em mucosa pilórica de ovino após sete dias de tratamento com fenilbutazona. Hematoxilina eosina, x 20 - São Paulo – 2017

Glândulas tubulares normais (A); presença de erosão do epitélio superficial (B) e de infiltrado fibrino-neutrófilico (C), em que se distinguem fibrina (*), neutrófilos (**) e células epiteliais descamadas (***).

A avaliação microscópica dos fragmentos das mucosas abomasais coletados no oitavo dia de cada período (Tabela 5) revelou não ter havido diferença entre os tratamentos para a presença ou não de lesão, para distorção das glândulas abomasais e células caliciformes, quantidade de células inflamatórias, edema, congestão de vasos superficiais e hemorragia da lâmina própria, tanto da região fúndica quanto da pilórica.

Tabela 5 – Frequência de animais acometidos e probabilidades das variáveis que compõem a avaliação microscópica das biopsias abomasais de ovinos com possível úlcera abomasal induzida por fenilbutazona e tratados ou não com fármacos antiácidos - São Paulo – 2017

Variável		Tratamentos				Probabilidades			
		Controle	Omeprazol IV	Omeprazol VO	Ranitidina	Trat	C1	C2	C3
região fúndica	Diagnóstico úlcera tipo 1a	0/6	0/7	1/7	1/7	NS	NS	NS	NS
	Alteração do epitélio foveolar	0/6	1/7	1/7	2/7	NS	NS	NS	NS
	Distorção de glândulas	0/6	0/7	1/7	0/7	NS	NS	NS	NS
	Presença de linfócitos	1/6	1/7	2/7	2/7	NS	NS	NS	NS
	Presença de plasmócitos	0/6	0/7	0/7	0/7	*	*	*	*
	Presença de neutrófilos	0/6	0/7	1/7	2/7	NS	NS	NS	NS
	Presença de eosinófilos	0/6	0/7	0/7	0/7	*	*	*	*
	Presença de histiócitos	0/6	0/7	0/7	0/7	*	*	*	*
	Presença de edema	2/6	2/7	3/7	2/7	NS	NS	NS	NS
	Presença de ectasia	2/6	4/7	4/7	2/7	NS	NS	NS	NS
	Presença de muco	0/6	0/7	0/7	0/7	*	*	*	*
região pilórica	Diagnóstico úlcera tipo 1a	4/8	6/8	4/8	3/8	NS	NS	NS	NS
	Alteração do epitélio foveolar	4/8	5/8	4/8	3/8	NS	NS	NS	NS
	Distorção de glândulas	1/8	1/8	1/8	1/8	NS	NS	NS	NS
	Presença de linfócitos	1/8	2/8	1/8	1/8	NS	NS	NS	NS
	Presença de plasmócitos	0/8	0/8	0/8	0/8	*	*	*	*
	Presença de neutrófilos	2/8	2/8	2/8	2/8	NS	NS	NS	NS
	Presença de eosinófilos	0/8	0/8	0/8	0/8	*	*	*	*
	Presença de histiócitos	0/8	0/8	0/8	0/8	*	*	*	*
	Presença de edema	2/8	4/8	3/8	1/8	NS	NS	NS	NS
	Presença de ectasia	6/8	7/8	4/8	3/8	NS	NS	NS	NS
	Presença de muco	0/8	0/8	0/8	0/8	*	*	*	*

Trat = efeito de tratamento; C1 = contraste controle x tratados; C2 = contraste omeprazol (IV + VO) x ranitidina; C3 = contraste omeprazol IV x VO; NS = não significativo; * = não houve convergência das matrizes.

4. DISCUSSÃO

Com o intuito de padronizar o tipo e a gravidade das lesões optou-se por induzir a doença com medicamento da categoria dos anti-inflamatórios não esteroidais (AINE). A escolha do fármaco foi baseada nos achados de Mozaffari e Derakhshanfar (2012), em que a fenilbutazona se mostrou mais ulcerogênica que cetoprofeno e flunixin meglumine em cabras. Embora não haja estudo similar em ovinos, a equivalente meia-vida de cerca de 18 horas para carneiros (CHENG; MCKELLER; NOLAN, 1998) e 16 horas para bodes (ELTON; GUARD; SCHWARK, 1993) permite assumir que a farmacodinâmica da fenilbutazona também seja semelhante entre as duas espécies.

Considerando que a suscetibilidade à manifestação da enfermidade seria semelhante em bovinos, ovinos e caprinos quando submetidos a tratamento com elevada dose de fenilbutazona, optou-se por trabalhar com ovinos machos, castrados e hígidos.

Na tentativa de estabelecer modelo experimental para o estudo da enfermidade preferiu-se a espécie ovina pela facilidade de manutenção e manejo quando comparados aos dos grandes ruminantes. O sexo masculino foi escolhido por não apresentar proeminente influência hormonal, revelando efeitos resultantes apenas do uso dos medicamentos. E, por fim, foram selecionados animais hígidos para que não houvesse interferência de qualquer comorbidade na resposta ao uso dos fármacos.

O controle do consumo efetivo de feno permitiu avaliar o impacto do desenho experimental no comportamento ingestivo dos animais. Não se verificou diferença em relação aos tratamentos instituídos, porém é notável que as biopsias realizadas no oitavo dia de cada período ocasionaram redução substancial do consumo de feno da maioria dos animais nos dias 9 e/ou 10.

A avaliação atenta do conteúdo fecal é fundamental quando há suspeita de enfermidade no trato gastrointestinal. A procura por sangue não visível no

excremento tem se mostrado de grande valia no auxílio do diagnóstico de úlceras com perda de pequena quantidade de sangue. Embora haja outras possibilidades, as úlceras abomasais são as causas mais prováveis para o sangramento proximal, sendo relatado que 67% dos animais acometidos por este tipo de lesão apresentaram resultado positivo à pesquisa de sangue nas fezes (FRANCOZ; GUARD, 2015). Neste estudo, porém, o aspecto das fezes não se alterou durante todo o período experimental e, como as lesões induzidas foram de pequena magnitude, as amostras fecais apresentaram resultado negativo em todos os testes de sangue oculto.

Com o modelo estabelecido os animais não apresentaram expressivas alterações nas variáveis que compõem o exame físico, mas verificou-se que a ranitidina foi responsável por aumentar a frequência cardíaca dos ovinos. Esse efeito resulta da ação do fármaco no sistema nervoso simpático (NAULT; MILNE; PARLOW, 2002), pois interrompendo a liberação da histamina estimula-se o aparecimento dos efeitos adrenérgicos, como a aceleração dos batimentos cardíacos (GROSS et al., 1984). Embora tenha havido diferença entre os grupos, as médias encontradas neste estudo se mantiveram dentro do intervalo de normalidade para a espécie; no entanto, para que se possa prescrever o uso desse bloqueador H_2 por mais de sete dias ainda é necessário comprovar que o incremento causado por ele na frequência cardíaca não será maléfico ao animal.

Apesar de não ter sido observado efeito de tempo, o uso contínuo de fenilbutazona a cada 12 horas ocasionou aparente redução do volume globular (VG) de todos os animais. Este efeito foi previamente relatado por Baggot (1989) e Mozaffari et al. (2010), no entanto o mecanismo de ação que o justifique ainda não foi encontrado. A redução verificada, todavia, não foi exacerbada, portanto apenas a interrupção do uso do anti-inflamatório foi suficiente para o rápido restabelecimento dos valores de VG.

Autores que estudaram os efeitos da ranitidina e do omeprazol concluíram não haver alteração no volume globular como consequência de seu uso (LANAS et al., 1995; MALFARÁ; SOUZA; QUEIROZ, 2005; CALTABILOTA et al., 2010). As diferenças observadas nos dias 2, 3 e 5 entre o grupo que não recebeu qualquer antiácido e os grupos tratados resultam do valor médio de VG inicialmente mais

baixo para os animais pertencentes ao grupo controle.

Em relação às células sanguíneas da série branca, estudos *in vitro* concluíram que o omeprazol causa inibição (SCARINGI et al., 1996) e apoptose (SCARINGI et al., 2004) dos linfócitos, importantes células de defesa. Embora a atividade linfocítica não tenha sido mensurada neste experimento, o resultado da diferenciação celular sugere que este efeito também possa ocorrer *in vivo*. O intervalo de normalidade para ovinos varia de 2 a 9×10^9 linfócitos/L de sangue (BYERS; KRAMER, 2010) e os animais tratados com omeprazol IV e VO apresentaram valores médios no limite inferior e ligeiramente abaixo dele, respectivamente. Embora os animais utilizados neste estudo aparentemente não tenham apresentado diminuição da imunidade em decorrência do menor número de linfócitos, existe a necessidade de estudar o possível efeito imunossupressor desse bloqueador das bombas de prótons de forma mais aprofundada, com o intuito de ponderar o risco-benefício do uso deste medicamento, especialmente em animais acometidos por lesão gástrica grave.

Há muitas décadas o fibrinogênio plasmático é considerado bom aliado da contagem de leucócitos para a detecção de processos inflamatórios. Essa proteína de fase aguda é sensível e pode aparecer elevada mesmo quando a doença é inaparente (SUTTON; HOBMAN, 1975). As lesões abomasais induzidas pelo protocolo adotado não apresentaram magnitude suficiente para aumentar o teor do fibrinogênio, porém, esse marcador foi capaz de indentificar o processo de flebite desencadeado pelo uso do inibidor das bombas de prótons sob a forma injetável.

Os excipientes utilizados para a reconstituição do omeprazol intravenoso conferem caráter alcalino à solução, cujo pH varia de 8,8 a 9,2 de acordo com a marca (OLIVEIRA; NEGRÃO, 2012). Sabe-se que soluções de pH abaixo de 5 ou acima de 9 são irritantes e podem causar flebite (ROSENTHAL, 2006), por isso o fabricante recomenda que a injeção seja realizada de forma lenta, com velocidade de 2,5 a 4 mL/minuto. Contudo, mesmo com máxima cautela, a aplicação de forma tão vagarosa foi inviável nos animais e ao término dos oito dias de tratamento as veias jugulares se mostraram espessadas e enrijecidas. O aparecimento de flebite decorrente do uso do omeprazol também foi relatado por Netzer et al. (1999).

A queda nos valores séricos de proteína resultou da diminuição da

concentração de albumina no soro. A albumina possui seis sítios de ligação, sendo um deles específico para ligantes ácidos e lipofílicos, como a fenilbutazona (PETERS, 2012). Dessa forma, a elevada concentração do anti-inflamatório no organismo estimulou a saturação de parte da albumina, reduzindo a concentração desta proteína na circulação sanguínea com o passar dos dias. A avaliação apressada dos gráficos tende a sugerir que os animais previamente tratados com omeprazol pela via oral tenham restituído os valores de proteína e albumina séricas mais rapidamente que os dos outros grupos ao término do tratamento, todavia com base na análise estatística esta conclusão não pode ser formulada.

Relatos de aumento da atividade da enzima AST como consequência do uso de fenilbutazona não são raros (BAGGOT, 1989; MOZAFFARI et al., 2010; SAEID; ALI, 2011; MOZAFFARI; DERAKHSHANFAR, 2012), porém o mecanismo pelo qual tal elevação ocorre ainda não está totalmente elucidado. TRIPATHI (2013) cita que a fenilbutazona é um dos compostos capazes de interagir com o DNA e aumentar a produção de enzimas da família citocromo P450 (CYP450), às quais se atribui a metabolização da maioria dos agentes exógenos. A biotransformação da fenilbutazona pelas CYP450 gera metabólitos ativos (TRIPATHI, 2013) e sugere-se que estes compostos participem da formação de espécies reativas de oxigênio, responsáveis por causar danos na membrana celular (MIURA; MURAOKA; FUJIMOTO, 2002; ALJUHANI et al., 2015). Tal proposição precisa ser detalhadamente investigada, mas possíveis lesões na membrana dos hepatócitos poderiam justificar os maiores valores de AST na corrente sanguínea, dentre outros efeitos colaterais do uso desse AINE.

Segundo Tripathi (2013), o processo de indução do citocromo P450 não é imediato e pode levar de quatro a 14 dias para alcançar seu pico. Esta informação pode explicar o fato de a elevação da atividade de AST ter sido verificada apenas no décimo dia do experimento. Apesar do incremento observado, porém, os valores não ultrapassaram o limite de normalidade para a espécie, indicando que o protocolo instituído não causou graves danos nos hepatócitos.

Há quase 50 anos comprovou-se que o uso de altas doses de diversos analgésicos pode resultar em hiperglicemia, principalmente em resposta à liberação de adrenalina, que ocorre após a estimulação do sistema nervoso simpático

(YOSHIZAKI et al., 1975). A mensuração dos valores de glicose em animais ruminantes é importante porque a hiperglicemia pode ocasionar atonia ruminal (ANDRIGUETTO et al., 2002). Como esperado, o aumento da concentração plasmática de glicose foi verificado em quase todos os grupos, mas com o protocolo de indução estabelecido os valores se mantiveram dentro do intervalo fisiológico para a espécie, não afetando o adequado funcionamento do rúmen.

Os animais tratados com omeprazol pela via intravenosa, no entanto, apresentaram decréscimo no valor médio de glicose plasmática. Recentes estudos atribuem aos inibidores das bombas de prótons a capacidade de reduzir a glicemia, possivelmente por promoverem aumento da liberação de gastrina (TAKEBAYASHI; INUKAI, 2015). Sabe-se que a gastrina aumenta a sensibilidade da glicose à insulina, hormônio responsável por transportar a glicose da circulação para o interior das células. Os resultados encontrados neste estudo permitem concluir que o omeprazol fornecido pela via intravenosa ofuscou o esperado efeito da fenilbutazona em relação ao aumento da glicose plasmática; sob apresentação oral, porém, o fármaco não apresentou o mesmo efeito nos ruminantes adultos.

Não houve influência dos fármacos utilizados no metabolismo dos macromineerais cálcio e fósforo. Inibidores das bombas de prótons afetam os teores de cálcio por influenciarem a liberação do paratormônio (YANG, 2012), porém seu uso por oito dias não foi suficiente para causar tal alteração. Em relação ao fósforo, o efeito visualizado para o contraste C3 não deve causar alarde, pois ao se comparar o valor médio obtido para os animais tratados com omeprazol oral com o seu valor inicial percebe-se que houve redução de apenas 3% em seu teor sérico, que se manteve dentro do intervalo fisiológico.

O teor de potássio, por sua vez, foi afetado tanto pelos fármacos como pelo tempo de tratamento, mas nenhum dos valores extrapolou os limites de normalidade para a espécie. Supõe-se que a queda brusca verificada no quarto dia para os animais do grupo controle e para os que foram tratados com ranitidina tenha ocorrido em resposta às coletas diárias do conteúdo abomasal. Perdas diretas do conteúdo estomacal acarretam eliminação de grande quantidade de HCl. Pretendendo-se corrigir o pH gástrico, ocorre liberação de íons H^+ da circulação sanguínea para o estômago, de forma que se instaura alcalose metabólica. Na

tentativa de restabelecer a homeostase, as bombas $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ são ativadas para que ocorra transporte de potássio da circulação para o interior das células musculares renais, implicando em decréscimo da concentração sérica de potássio (REID; JONES; ISLES, 2012).

Verificou-se, porém, que os animais tratados com omeprazol não exibiram a queda de potássio constatada nos outros grupos, apresentando valores constantes ou aumentados no quarto dia. De forma similar, GAU et al. (2009) relataram associação entre o uso prolongado de omeprazol e valores mais altos de potássio que os do grupo controle, sem que houvesse extrapolação do intervalo de fisiológico. Por se tratar de estudo transversal, porém, os autores não puderam estabelecer a relação causa-efeito. Alterações nos teores séricos de potássio que ultrapassem o intervalo de normalidade em resposta ao uso do omeprazol são incomuns, havendo relato de apenas um caso de hipercalemia (TASHIRO et al., 2003) e dois de hipocalemia (MAEDA et al., 2011) em humanos. A raridade desses efeitos possivelmente decorra dos diferentes sítios de atuação e regulação, pois o omeprazol inibe as bombas $\text{H}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ das células do estômago, enquanto o nível desse macromineral é regulado pela atividade das bombas $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$, do canal de sódio e do canal de potássio, ambos localizados nos rins. A resposta apresentada pelos carneiros deste estudo indica que o fármaco aparentemente é capaz de realizar compensação metabólica para impedir a queda dos valores séricos de potássio mesmo em caso de perda de conteúdo gástrico, entretanto o mecanismo pelo qual isso ocorre ainda não foi desvendado.

As maiores concentrações de potássio verificadas em todos os grupos no décimo dia podem ser atribuídas ao uso da fenilbutazona, pois é comprovado que o uso de anti-inflamatórios não esteroidais causa elevação dos níveis séricos de potássio por haver restrição do fluxo sanguíneo renal, interferindo, portanto, no funcionamento da bomba $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$, do canal de sódio e do canal de potássio (GAU et al., 2009).

Um dos parâmetros mais relevantes nos estudos que avaliam a eficácia de fármacos antiácidos, indubitavelmente, é a mensuração do pH estomacal. Ao contrário do que se imaginava, os valores de pH obtidos com o delineamento adotado não apresentaram efeito de tratamento, de tempo nem da interação entre

estes fatores. O resultado encontrado, todavia, não pode ser facilmente explicado. A diferença verificada no primeiro dia do experimento surpreende, dado que os animais foram submetidos ao mesmo manejo antes de cada período experimental. O maior potencial hidrogeniônico verificado no conteúdo dos animais tratados com ranitidina no oitavo dia também não está claro, pois a mesma posologia do antagonista H_2 foi eficiente em aumentar o pH abomasal apenas em até 2 horas e meia após sua aplicação em ovinos sem lesão abomasal (MORGADO et al., 2014).

Considerando que AINEs inibem a produção do muco que protege a mucosa estomacal da ação corrosiva do ácido clorídrico (TASAKA, 2011), esperava-se encontrar diminuição do pH ao longo dos dias de indução das lesões pelo menos no grupo controle. A ausência desse resultado permite inferir que os animais ruminantes saudáveis e bem alimentados conseguem compensar pequenas variações de pH decorrentes do uso de elevadas doses de AINEs pela liberação constante de conteúdo dos pré-estômagos para o abomaso. O efeito tampão desencadeado pela presença de alimento é considerado fundamental para o controle do pH e, por este motivo, a restituição do apetite normal deve ser a principal estratégia para a prevenção e tratamento de lesões abomasais (FRANCOZ; GUARD, 2015).

Outra forma de estimar o teor ácido da amostra é mensurando sua acidez titulável, pois através da neutralização com solução básica revela-se indiretamente a quantidade de HCl presente no conteúdo abomasal.

No sétimo dia precisou-se de menor quantidade de base para neutralizar o conteúdo abomasal dos animais tratados com omeprazol intravenoso, indicando menor acidez de suas amostras quando comparadas às do grupo tratado com o mesmo fármaco fornecido por via oral. No dia anterior o valor de P ficou no limite para ser considerado significativo; talvez com maior número de animais por grupo e/ou com uso dos fármacos por período prolongado tal diferença fosse verificada. Contudo, pela ausência de diferença nos valores de acidez dos demais dias e pela não variação dos valores de pH, não se pode afirmar com este estudo que o omeprazol intravenoso seja mais eficiente que o omeprazol em pasta em inibir a liberação de H^+ em ruminantes adultos.

Além do ácido clorídrico, o estômago químico também é responsável pela

secreção de pepsinogênio (LEEK, 2006), substância proteolítica caracterizada por ser a forma inativa da enzima pepsina. O intervalo de pH ótimo para a transformação de pepsinogênio em pepsina é de 1,8 a 3,5 (ARGENZIO, 2006). Diversos trabalhos concluíram que a elevação do pH gástrico, decorrente tanto de lesões causadas por parasitas hematófagos (KERBOEUF, 1977; LAWTON et al., 1996) como resultantes de casos de deslocamento de abomaso (HAJIMOHAMMADI et al., 2016) ou úlceras (MESARIČ, 2005), estimula a liberação de pepsinogênio para a corrente sanguínea. Kerboeuf (1977) afirmou que nos casos de infestação por *Haemochus spp* ou *Ostertagia spp* tal liberação ocorre como consequência da dissociação das células zimogênicas, permitindo ampla difusão dessa pró-enzima na direção retrógrada e a mesma justificativa poderia perfeitamente ser estendida às lesões ulcerativas.

Mesarič (2005) determinou que, para bovinos, valores de pepsinogênio acima 5000 mU de tirosina/L indicam mucosa gástrica gravemente danificada por úlcera. Valores médios acima desse limiar foram encontrados em ovinos ulcerados e com deslocamento de abomaso induzido (HAJIMOHAMMADI et al., 2010), porém em ovinos parasitados com elevada carga de *O. circumcincta* e pH abomasal acima de 3,5 as concentrações mais elevadas de pepsinogênio sérico foram da ordem de 3000 mU de tirosina/L (LAWTON et al., 1996).

Para ovinos saudáveis e não parasitados, Lawton et al. (1996) encontraram valor médio de 223 mU de tirosina/L e Kataria et al. (2008) de 154 mU de tirosina/L. A média geral de pepsinogênio obtida para os animais canulados do presente estudo foi de 356 mU de tirosina/L. Os baixos valores encontrados e a ausência de diferença entre os grupos permitiriam supor que o modelo experimental não foi eficiente em causar danos às células zimogênicas; no entanto, SCOTT (2007) acredita que com a evolução alguns ovinos tenham perdido a capacidade de sintetizar essa pró-enzima, podendo não apresentar elevação na concentração sérica de pepsinogênio mesmo em casos de injúrias graves.

Ainda em decorrência das alterações evolutivas, os animais ruminantes domésticos adaptaram a expressão gênica de forma que a lisozima passou a ser sua principal enzima digestiva (IRWIN, 1995). Ela possui características antibióticas e a secreção de grande quantidade dessa substância no lúmen abomasal permite a digestão das bactérias originárias dos pré-estômagos (IRWIN, 1995) e, por

consequente, o aproveitamento do carbono, nitrogênio e fósforo provenientes desses microrganismos (DOBSON; PRAGER; WILSON, 1984). Em casos de injúria na mucosa aventa-se a hipótese de que haja liberação da lisozima para a corrente sanguínea, de forma semelhante à que ocorreria com o pepsinogênio (SCOTT, 2007).

Em relação às dosagens de lisozima sérica dos animais deste estudo não houve diferença entre os tratamentos, tempo ou interação entre ambos. Este resultado não é suficiente, portanto, para concluir se essa enzima pode ou não ser indicadora de lesões gástricas de maior magnitude.

Histologicamente a úlcera gástrica é definida como dano que afeta a parede do estômago até sua camada submucosa (EL-ZIMAITY; RIDDELL, 2012; RIDDELL et al., 2014); porém, quando se tratam de animais ruminantes, as lesões mais superficiais, denominadas erosões em monogástricos, são frequentemente consideradas como úlcera do tipo I (BRAUN; EICHER; EHRENSPERGER, 1991; SMITH; BECHT; WHITLOCK, 1992; HUND; BEER; WITTEK, 2016). Esse conceito pode ser justificado pelo fato de se acreditar que qualquer injúria na mucosa permita difusão dos íons hidrogênios e pepsina do lúmen do órgão para os tecidos (RADOSTITS et al., 2007).

Os fragmentos biopsiados das mucosas abomasais indicaram que o modelo de indução utilizado neste experimento foi eficiente em ocasionar lesões na região pilórica do abomaso em grande parte dos casos. O fato de tal achado não ter ocorrido na região fúndica é perfeitamente aceitável, pois de acordo com El-Zimaity e Riddell (2012) as úlceras pépticas são mais comuns nas regiões de antro e piloro.

É possível perceber que 75% dos animais tratados com omeprazol por via intravenosa apresentaram lesões pilóricas após a indução com fenilbutazona, enquanto que lesões semelhantes foram evidenciadas em apenas 37,5% dos animais tratados com ranitidina e 50% dos tratados com omeprazol pela via oral ou não tratados com qualquer antiácido (grupo controle).

De acordo com estes valores, embora a avaliação estatística não tenha apontado diferenças, pode-se sugerir que a ranitidina tenha apresentado melhor resposta à prevenção de lesão quando comparada aos outros tratamentos, em

especial ao omeprazol administrado por via intravenosa. Recomenda-se, portanto, a realização de teste com maior número de repetições para assegurar o efeito preventivo do fármaco, bem como o delineamento de novos estudos que poderiam comprovar o que Francoz e Guard (2015) relatam de forma empírica¹.

O omeprazol oral, por sua vez, não foi capaz de prevenir o aparecimento das lesões, dado que a quantidade de ovinos acometidos por úlcera foi exatamente a mesma observada no grupo que não recebeu antiácidos. Tal achado corrobora a conclusão de Poulsen et al. (2005), que, extrapolando resultados farmacocinéticos, afirmam que a absorção do omeprazol em pasta não é suficiente para prevenir ou tratar úlceras do terceiro compartimento gástrico dos camelídeos.

Contrariamente ao que supunham alguns autores (FRANCOZ; GUARD, 2015), o limitante ao uso do omeprazol oral não é a diluição do fármaco nos pré-estômagos, mas sim sua inativação no próprio abomaso. O omeprazol é uma base fraca que é convertida em seu metabólito ativo em pH ácido. Tal metabólito perde sua capacidade de penetrar a membrana da célula parietal do estômago, célula que contém a enzima $H^+-K^+-ATPase$, sítio de ação do fármaco (LINDBERG et al., 1986). Para facilitar a absorção do medicamento indica-se, portanto, sua administração após jejum prolongado no caso de espécies monogástricas. Somado a este cuidado, recomenda-se o uso das apresentações protegidas por revestimento gastroresistente visando a liberação do princípio ativo apenas no duodeno (BRAGA; SILVA; ADAMS, 2011).

Como o pH abomasal pouco varia mesmo em caso de restrição alimentar por períodos prolongados, a alternativa mais eficaz para lidar com esta especificidade provavelmente seja o uso de apresentação comercial que permita a passagem do fármaco de forma intacta até o intestino delgado. Villa Filho (2014) obteve resultados satisfatórios com o uso do omeprazol envolto por cápsulas gastroresistentes ao tratar bovinos positivos ao teste do sangue oculto fecal, o que incita a realização de mais estudos com esta forma de apresentação.

¹ Francoz e Guard (2015) utilizam 1 a 1,5mg/kg de ranitidina, três vezes ao dia, para tratar úlcera de abomaso e afirmam que a terapia se mostra eficaz; no entanto, os autores alertam que o custo do tratamento é proibitivo para animais pouco valiosos.

Os animais tratados com omeprazol intravenoso foram os que mais apresentaram danos na mucosa, possivelmente pelo maior desconforto e estresse causado aos ovinos pela aplicação do fármaco.

Independentemente do grupo, porém, todas as lesões observadas foram classificadas como úlceras do tipo 1a, indicando que o uso da fenilbutazona duas vezes ao dia ocasionou o tipo mais brando de lesão. Constata-se, então, que ovinos saudáveis e bem alimentados conseguem compensar o desequilíbrio desencadeado pela fenilbutazona na mucosa abomasal, minimizando os danos esperados como consequência ao uso de altas doses deste anti-inflamatório. Ovinos hígidos, portanto, não constituem o melhor modelo experimental para o estudo da úlcera abomasal induzida por fenilbutazona, no entanto esta conclusão não deve ser extrapolada para bovinos hígidos ou ovinos enfermos, instigando o desenvolvimento de novos ensaios.

5. CONCLUSÕES

Esta seção ressalta o que pode ser assinalado sobre a prevenção e diagnóstico de úlcera abomasal a partir do delineamento adotado neste estudo:

- a) Ovinos hípidos não constituem ótimo modelo experimental para o estudo da úlcera abomasal induzida por anti-inflamatório não esteroideal em ruminantes adultos:
 - os animais possuem excelente mecanismo para compensar e/ou auto-limitar o desequilíbrio causado pela fenilbutazona na mucosa abomasal;
- b) Omeprazol administrado por via intravenosa ocasiona flebite e seu uso causa mais danos na mucosa abomasal de ovinos que a não utilização de qualquer antiácido.
- c) Omeprazol oral em pasta não é eficaz na prevenção das lesões abomais do tipo 1a em ovinos adultos:
 - é possível sugerir, no entanto, a realização de novos estudos com uso do fármaco envolto por cápsulas gastroresistentes;
- d) O pH e a acidez do conteúdo abomasal, as concentrações séricas do pepsinogênio e da lisozima, bem como a pesquisa de sangue oculto fecal não são biomarcadores válidos para o diagnóstico da úlcera de abomaso do tipo 1a em ovinos adultos.

REFERÊNCIAS

- AHMED, A. F.; CONSTABLE, P. D.; MISK, N. A. Effect of Orally Administered Omeprazole on Abomasal Luminal pH in Dairy Calves Fed Milk Replacer. **Journal of Veterinary Medicine A**, v. 52, p. 238–243, 2005.
- ALJUHAN, N.; WHITTAL, R. M.; KHAN, S. R.; SIRAKI, A. G. Phenylbutazone Oxidation via Cu,Zn-SOD Peroxidase Activity: An EPR Study. **Chemical Research in Toxicology**, v. 28, n. 7, p. 1476–1483, 2015.
- ANGUS, K. W.; BANNATYNE, C. C. Abomasal ulceration in adult sheep: a report of two contrasting cases. **The Veterinary Record**, v. 86, p. 531–533, 1970.
- ARGENZIO, R. A. Motilidade gastrointestinal. In: REECE, W. O. (Ed.). **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006a. p. 365, 380.
- BAGGOT, J. D. Adverse Drug Reactions and Drug Interactions. **Proceedings of the 11th Bain Fallon Memorial Lectures. In: Equine Pharmacology and Therapy**, v. 11, p. 62–70, 1989.
- BERTACCINI, G.; SCARPIGNATO, C. Different effects of the H₂-antagonists on gastric emptying in the rat. **Experientia**, v. 38, p. 385–386, 1982.
- BOOTHE, D. M. Fármacos afetando a função gastrointestinal. In: ADAMS, H. R. (Ed.). **Farmacologia e terapêutica em veterinária**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p. 876.
- BORGES, J. R. J.; MOSCARDINI, A. R. C. Úlcera de abomaso. In: RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. (Ed.). **Doenças de ruminantes e eqüídeos**. 3. ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. p. 367–369.
- BRAGA, M.P.; SILVA, C. B. da; ADAMS, A. I. H. Inibidores da bomba de prótons: Revisão e análise farmacoeconômica. **Saúde**, v.37, n.2, p. 19-32, 2011.
- BRAUN, U.; BRETSCHER, R.; GERBER, D. Bleeding abomasal ulcers in dairy cows. **The Veterinary Record**, v. 129, n. 28, p. 279–284, 1991.
- BRAUN, U.; EICHER, R.; EHRENSPERGER, F. Type 1 abomasal ulcer in dairy cattle. **Journal of Veterinary Medicine A**, v. 38, n. 5, p. 357–366, 1991.
- BRAUN, U. Úlceras de abomaso. In: DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H.; STÖBER, M. (Ed.). **Medicina interna y cirugía del bovino**. 4. ed. Buenos Aires: Inter-Médica, 2005. p. 455–460.
- BYERS, S. R.; KRAMER, J. W. Normal hematology of sheep and goats. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. (Ed.). **Schalm's Veterinary Hematology**. Sixth ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2010. p. 837.
- CALTABILOTA, T. J.; MILIZIO, J. G.; MALONE, S.; KENNEY, J. D.; MCKEEVER, K. H. Effect of sucralfate on total carbon dioxide concentration in horses subjected to a simulated race test. **Veterinary Journal**, v. 183, n. 2, p. 191–195, 2010.
- CHENG, Z.; MCKELLER, Q.; NOLAN, A. Pharmacokinetic studies of flunixin meglumine and phenylbutazone in plasma, exudate and transudate in sheep. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 21, n. 4, p. 315–321, 1998.
- CHRISTENSEN, J. M.; LIMSAKUN, T.; SMITH, B. B.; HOLLINGSHEAD, N.; HUBER, M. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antiulcer agents in llama. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 24, n. 1, p. 23–33, 2001.
- CONSTABLE, P. D.; WITTEK, T.; AHMED, A. F.; MARSHALL, T. S.; SEN, I.; NOURI, M. **Abomasal pH and emptying rate in the calf and dairy cow and the effect of commonly administered therapeutic agents. Proceedings of XXIV**

WORLD BUIATRICS CONGRESS. Nice, 2006.

DOBSON, D. E.; PRAGER, E. M.; WILSON, A. C. Stomach lysozymes of ruminants. I. Distribution and catalytic properties. **The Journal of biological chemistry**, v. 259, n. 18, p. 11607–11616, 1984.

DORNY, P.; VERCROYSSSE, J. Evaluation of a micro method for the routine determination of serum pepsinogen in cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 65, p. 259–262, 1998.

DOWLING, P. M. Therapy of gastrointestinal ulcers. **Canadian Veterinary Journal**, v. 36, n. 5, p. 276–277, 1995.

EL-ZIMAITY, H.; RIDDELL, R. H. Inflammatory Disorders of the Stomach. In: NEIL A. SHEPHERD, BRYAN F. WARREN, GERAINT T. WILLIAMS, JOEL K. GREENSON, G. Y. L. AND M. R. N. (Ed.). **Morson and Dawson's Gastrointestinal Pathology**. 5. ed. [s.l.] Blackwell Publishing, 2012. p. 119–121.

ELTON, S. E.; GUARD, C. L.; SCHWARK, W. S. The effect of age on phenylbutazone pharmacokinetics, metabolism and plasma protein binding in goats. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 16, n. 2, p. 141–51, 1993.

FECTEAU, M.; WHITLOCK, R. H. Abomasal Ulcers. In: ANDERSON, D. E.; RINGS, D. M. (Ed.). **Current veterinary therapy: food animal practice**. Philadelphia: WB Saunders, 2009. p. 29–34.

FRANCOZ, D.; GUARD, C. L. Abomasal ulcers. In: SMITH, B. P. (Ed.). **Large Animal Internal Medicine**. 5. ed. St Louis: Elsevier, 2015. p. 815–817.

GAU, J.; HEH, V.; ACHARYA, U.; YANG, Y.; KAO, T. Uses of proton pump inhibitors and serum potassium levels. **Pharmacoeconomics and drug safety**, v. 18, p. 865–871, 2009.

GRANT, S. M.; LANGTRY, H. D. . B. R. N. Ranitidine – an update review of its pharmacodynamic properties and therapeutic use in peptic ulcer disease and other allied diseases. **Drugs**, v. 37, p. 801–870, 1989.

GROSS, S. S.; GUO, Z.-G.; LEVI, R.; BAILEY, W. H.; CHENOUDA, A. A. Release of histamine by sympathetic nerve stimulation in the guinea pig heart and modulation of adrenergic responses. A physiological role for cardiac histamine? **Circ. Res.**, v. 54, n. 5, p. 516–526, 1984.

HAJIMOHAMMADI, A.; BADIEI, K.; MOSTAGHNI, K.; POURJAFAR, M. Serum pepsinogen level and abomasal ulcerations in experimental abomasal displacement in sheep. **Veterinarni Medicina**, v. 55, n. 7, p. 311–317, 2010.

HAJIMOHAMMADI, A.; TABANDEH, M. R.; NAZIFI, S.; KHOSRAVANIAN, M. The Serum Pepsinogen Level of Dairy Cows with Gastrointestinal Disorders. **İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 43, n. 23931, p. 0–0, 2016. Disponível em: <<http://dergipark.gov.tr/doi/10.16988/iuvfd.265490>>.

HALL, J. E. Funções secretoras do trato alimentar. In: HALL, J. E. (Ed.). **Guyton & Hall - Tratado de fisiología médica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Saunders Elsevier, 2011. p. 820–821.

HASKELL, S. R. R. Surgery of the sheep and goat digestive system. In: FUBINI, S. L.; DUCHARME, N. G. (Ed.). **Farm Animal Surgery**. St Louis: Saunders, 2004. p. 523–524.

HENRY, D. a; MACDONALD, I. a; KITCHINGMAN, G.; BELL, G. D.; LANGMAN, M. J. Cimetidine and ranitidine: comparison of effects on hepatic drug metabolism.

British Medical Journal, v. 281, p. 775–7, 1980. Disponível em:

<<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1714006&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>>.

- HUND, A.; BEER, T.; WITTEK, T. Abomasal ulcers in slaughtered cattle in Austria. **Tierärztliche Praxis Großtiere**, v. 44, n. 4, p. 1–7, 2016.
- HUNGERFORD, T. G. Abomasal ulceration and abomasitis. In: HUNGERFORD, T. G. (Ed.). **Hungerford's Diseases of Livestock**. 9. ed. Roseville: McGraw-Hill Book Company, 2001. p. 456.
- IRWIN, D. M. Evolution of the bovine lysozyme gene family: Changes in gene expression and reversion of function. **Journal of Molecular Evolution**, v. 41, n. 3, p. 299–312, 1995.
- KANEKO, J. J.; SMITH, R. The estimation of plasma fibrinogen and its clinical significance in the dog. **The California veterinarian**, v. 21, n. 8, p. 21–24, 1967.
- KATARIA, N.; KATARIA, A. K.; GAHLOT, A. K. Use of plasma gastrin and pepsinogen levels as diagnostic markers of abomasal dysfunction in marwari sheep of arid tract. **Slovenian veterinary research**, v. 45, n. 4, p. 121–126, 2008.
- KERBOEUF, D. Changes in Pepsinogen, Proteins and Lipids in the Serum During Experimental Haemoncrosis in Sheep. 1977.
- KHODAKARAM-TAFTI, A.; HAJIMOHAMMADI, A.; AMIRI, F. PREVALENCE AND PATHOLOGY OF ABOMASAL ABNORMALITIES IN SHEEP IN SOUTHERN IRAN. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v. 18, n. 3, p. 270–276, 2015.
- LANAS, A.; ARTAL, A.; BLÁS, J. M.; ARROYO, M. T.; LOPES-ZABORRA, J.; SÁINZ, R. 1995 - Effect of parenteral omeprazol and ranitidine on gastric pH and the outcome of bleeding peptic ulcer.pdf. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 21, n. 2, p. 103–6, 1995.
- LAWTON, D. E. B.; REYNOLDS, G. W.; HODGKINSON, S. M.; POMROY, W. E.; SIMPSON, H. V. Infection of sheep with adult and larval *Ostertagia circumcincta*: Effects on abomasal pH and serum gastrin and pepsinogen. **International Journal for Parasitology**, v. 26, n. 10, p. 1063–1074, 1996.
- LEEK, B. F. Digestão no estômago do ruminante. In: REECE, W. O. (Ed.). **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. 12^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 405, 426–427.
- LINDBERG, P.; NORDBERG, P.; ALMINGER, T.; BRANDSTROM, A.; WALLMARK, B. The mechanism of action of the gastric acid secretion inhibitor omeprazole. **Journal of Medical Chemistry**, v. 29, p. 1327–1329, 1986.
- MAEDA, Y.; KOJIMA, N.; ARAKI, Y.; UNO, T.; NISHIGAKI, K.; INABA, N. Does a Proton Pump Inhibitor Cause Hypokalemia? **Internal Medicine**, v. 50, n. 9, p. 1045–1050, 2011.
- MALFARÁ, W. R.; SOUZA, A. M. de; QUEIROZ, R. H. C. Ranitidine treatment inducing methemoglobinemia in male Wistar rats. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, p. 247–252, 2005. Disponível em: <file:///Users/catarina/Catarina/Biblioteca/pdf/Toxicology%5CMalfara.pdf>.
- MESARIČ, M. Role of serum pepsinogen in detecting cows with abomasal ulcer. **Veterinarski arhiv**, v. 75, n. 2, p. 111–118, 2005. Disponível em: <http://hrcak.srce.hr/index.php?show=clanak&id_clanak_jezik=93162>.
- MIURA, T.; MURAOKA, S.; FUJIMOTO, Y. Lipid peroxidation induced by phenylbutazone radicals. **Life Sciences**, v. 70, n. 22, p. 2611–2621, 2002.
- MORGADO, A. A.; NUNES, G. R.; MARTINS, A. S.; HAGEN, S. F. C.; RODRIGUES, P. H. M.; SUCUPIRA, M. C. A. Metabolic profile and ruminal and abomasal pH in sheep subject to intravenous ranitidine. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 34, n. 1, p. 17–22, 2014.
- MOZAFFARI, A. A.; DERA KHSHANFAR, A. The gastrointestinal and myocardial adverse effects of flunixin meglumine, ketoprofen and phenylbutazone in Iranian

- Cashmere (Rayeni) goats : clinical , hematological , biochemical , and pathological findings. p. 49–53, 2012.
- MOZAFFARI, A.A.; DERAKHSHANFAR, A.; ALINEJAD, A.; MOROVATI, M. A comparative study on the adverse effects of flunixin, ketoprofen and phenylbutazone in miniature donkeys: haematological, biochemical and pathological findings. **New Zealand veterinary journal**, v. 58, n. 5, p. 224–228, 2010.
- NAULT, M. A.; MILNE, B.; PARLOW, J. L. Effects of the selective H1 and H2 histamine receptor antagonists loratadine and ranitidine on autonomic control of the heart. **Anesthesiology**, v. 96, n. 2, p. 336–341, 2002.
- NETZER, P.; GAIA, C.; SANDOZ, M.; HULUK, T.; GUT, A.; HALTER, F.; BUSIER, J.; INAUEN, W. Effect of repeated injection and continuous infusion of omeprazole and ranitidine on intragastric pH over 72 hours. **American Journal of Gastroenterology**, v. 94, n. 2, p. 351–357, 1999.
- OGILVIE, T. H. Bleeding ulcers and erosions. In: OGILVIE, T. H. (Ed.). **Large Animal Internal Medicine**. Ames: Blackwell Publishing, 2005. p. 53–57.
- OLIVEIRA, C. H.; NEGRÃO, N. Y. M. I Guia Prático De Incompatibilidades Entre Os Principais Medicamentos Utilizados Na Unidade De Terapia Intensiva. p. 1–37, 2012.
- PALMER, J. E.; WHITLOCK, R. H. Bleeding abomasal ulcer in dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 183, p. 448–451, 1983.
- PETERS, S. A. **Physiologically-based pharmacokinetic (PBPK) modeling and simulations - principles, methods, and applications in the pharmaceutical industry**. New Jersey: John Wiley & Sons Inc, 2012. p. 21.
- POULSEN, K. P.; SMITH, G. W.; DAVIS, J. L.; PAPICH, M. G. Pharmacokinetics of oral omeprazole in llamas. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 28, n. 6, p. 539–543, 2005.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. Abomasal ulcers of cattle. In: RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. (Ed.). **Veterinary Medicine - a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats**. 10. ed. [s.l.] Saunders Elsevier, 2007. p. 370–374.
- REBHUN, W. C. Úlceras abomasais. In: REBHUN, W. C. (Ed.). **Doenças do gado leiteiro**. São Paulo: Roca, 2000. p. 159-164.
- REID, A.; JONES, G.; ISLES, C. Hypokalaemia: common things occur commonly - a retrospective survey. **JRSM Short Reports**, v. 3, n. 11, p. 80–88, 2012. Disponível em: <<http://shr.sagepub.com/lookup/doi/10.1258/shorts.2012.011179>>.
- ROSENTHAL, K. When your patient develops phlebitis. **Nursing**, v. 36, n. 2, p. 14, 2006. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16462233>>.
- SAEID, S.; ALI, H. Phenylbutazone Administration in Arabian Horses and its Digestive and Cardiac Injuries (Biochemical , Hematological and Endoscopic Findings). v. 7, n. 5, p. 512–517, 2011.
- SCARINGI, L.; CORNACCHIONE, P.; AYROLDI, E.; CORAZZI, L.; CAPODICASA, E.; ROSSI, R.; MARCONI, P. Omeprazole induces apoptosis in Jurkat cells. **International Journal of Immunopathology and Pharmacology**, v. 17, n. 3, p. 331–342, 2004.
- SCARINGI, L.; CORNACCHIONE, P.; FETTUCCIARI, K.; ROSATI, E.; ROSSI, R.; MARCONI, P.; CAPODICASA, E. Activity Inhibition of Cytolytic Lymphocytes by Omeprazole. **Scandinavian Journal of Immunology**, v. 44, p. 204–214, 1996.
- SCOTT, I. Abstracts of papers and posters presented at the 33rd Conference of the New Zealand Society for Parasitology , at Massey University , Palmerston North , 24 October 2006, **New Zealand Journal of Zoology**, 34:2, 145-157, DOI:

- 10.1080/03014220709510073. v. 34, n. II, p. 152, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/03014220709510073>>.
- SMITH, D. F.; BECHT, J. L.; WHITLOCK, R. H. Abomasal Ulcers. In: ANDERSON, N. V. (Ed.). **Veterinary Gastroenterology**. 2. ed. [s.l: s.n.] p. 721–725.
- SPINOSA, H. S. Medicamentos que interferem nas funções gastrointestinais. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. (Ed.). **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. p. 399–400.
- SUTTON, R. H.; HOBMAN, B. The value of plasma fibrinogen estimations in cattle: a comparison with total leucocyte and neutrophil counts. **New Zealand veterinary journal**, v. 23, n. 3, p. 21–27, 1975.
- TAKEBAYASHI, K.; INUKAI, T. Effect of proton pump inhibitors on glycemic control in patients with diabetes. **World Journal of Diabetes**, v. 6, n. 10, p. 1122–1131, 2015. Disponível em: <<http://www.wjgnet.com/1948-9358/full/v6/i10/1122.htm>>.
- TASAKA, A. C. Anti-inflamatórios não esteroidais. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. (Ed.). **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 5a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. p. 249.
- TASHIRO, M.; YOSHIKAWA, I.; KUME, K.; NARITA, R.; SUGIHARA, Y.; OTSUKI, M. Acute hyperkalemia associated with intravenous omeprazole therapy. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 98, n. 5, p. 1209–1210, 2003. Disponível em: <<http://www.nature.com/doifinder/10.1111/j.1572-0241.2003.07437.x>>.
- TRIPATHI, K. D. **Essentials of Medical Pharmacology**. 7. ed. New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers LTD, 2013.
- VILLA FILHO, P. C. **Utilização de omeprazol em vacas leiteiras com presença de sangue oculto nas fezes**. 17p. Dissertação apresentada para obtenção do título de mestre em Saúde Animal – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, Junho de 2014.
- WALLACE, L. L. M.; REECY, J.; WILLIAMS, J. E. The effect of ranitidine hydrochloride on abomasal fluid pH in young steers. **Agri-Practice**, v. 16, n. 6, p. 34–38, 1994.
- WANG, Z.; GOONEWARDENE, L. A. The use of mixed models in the analysis of animal experiments with repeated measures data. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 84, n. 1, p. 1–11, 2004.
- WOLFE, M. M. Managing gastroesophageal reflux disease: from pharmacology to the clinical arena. **Gastroenterology Clinics of North America**. v. 32, p. S37–S46, 2003.
- XAVIER, F. G.; RIGHI, D. A.; BERNARDI, M. M. Histamina, serotonina e seus antagonistas. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. (Ed.). **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. p. 212, 214, 222–223.
- YANG, Y. X. Chronic proton pump inhibitor therapy and calcium metabolism. **Current Gastroenterology Reports**, v. 14, n. 6, p. 473–479, 2012.
- YOSHIZAKI, T.; TONDA, K.; KITAKAZE, T.; OGAWA, Y. Drug-induced adrenaline release and blood glucose in rats: DL-1-methyl-2-(beta-naphthyl)-aziridine. **Japanese journal of pharmacology**, v. 25, p. 501–505, 1975.

Apêndice 1 - Os principais desafios vividos com os animais canulados

1.1 Implantação de cânulas: laparoscopia x laparotomia

As primeiras tentativas para implantação das cânulas foram realizadas com auxílio da laparoscopia, por ser técnica menos invasiva e necessitar menor tempo transoperatório quando comparada à laparotomia.

Os animais foram anestesiados de acordo com o protocolo anestésico do Departamento de Cirurgia da FMVZ-USP, sendo sedados com cloridrato de xilazina a 2% (0,1 mg/kg por via intravenosa). Após 10 minutos, para indução, administrou-se conjuntamente cloridrato de cetamina a 10% (5,0 mg/kg) e diazepam (0,25 mg/kg), ambos por via intramuscular. Os animais foram mantidos em plano anestésico com isoflurano vaporizado em oxigênio a 80%, cuja fração expirada ficou em torno de 2,8-3,0%. Para o procedimento cirúrgico os animais foram posicionados em decúbito lateral e realizou-se assepsia do flanco ventral direito. Uma incisão de 10 mm foi criada na fossa paralombar direita para introdução da ótica laparoscópica. Um portal de 10 mm foi então inserido abaixo da 10ª costela para a introdução da pinça laparoscópica (Figura 5), utilizada para a exposição do abomaso. Após a localização e exposição do órgão, este foi fixado nas camadas muscular e cutânea com fio absorvível (mononylon 0) utilizando-se padrão de sutura simples interrompido. No pós-operatório os animais receberam anti-inflamatório não esteroide à base de flunixin meglumine (1,1 mg/kg por via intramuscular) durante três dias e antibioticoterapia profilática com penicilina (duas doses de 20.000 UI de penicilina benzatina por via intramuscular).

Figura 5: Cirurgia para implantação de cânula abomasal com auxílio da laparoscopia - São Paulo, 2014

Após a primeira cirurgia, porém, o resultado não foi satisfatório. Houve eversão do abomaso e, depois de seis semanas de tentativas de redução e resolução do quadro optou-se pelo descarte do animal. A seguir seguem as imagens dos 30 dias do período pós-operatório (Figura 6).

Figura 6: Sequência do pós-operatório da primeira cirurgia para implantação de cânula abomasal por laparoscopia em ovino - São Paulo, 2014

Legenda: A – Dia subsequente ao do procedimento cirúrgico; B – Quatro dias após; C – 15 dias após; D – 30 dias após o procedimento cirúrgico.

De acordo com orientações dos cirurgiões, a inesperada evolução do paciente não foi decorrente do uso de videolaparoscopia, mas após o desfecho ponderou-se sobre a forma de fixação do órgão.

Na segunda tentativa realizou-se previamente exame ultrasonográfico do abomaso com o ovino em estação para determinar a região mais adequada para a fixação da cânula. Verificou-se que o local utilizado na primeira cirurgia estava correto, mas alguns ajustes foram pensados, como posicionar o animal de maneira mais inclinada no momento do procedimento e não mais totalmente em decúbito lateral, com o intuito de que a topografia dos órgãos fosse a mais anatômica possível. Com isso decidiu-se novamente utilizar a técnica de laparoscopia.

O procedimento cirúrgico (Figuras 7 e 8) do segundo ovino durou cerca de uma hora apenas e a recuperação pós-cirúrgica foi excelente. O animal se mostrou ativo imediatamente após a recuperação da anestesia e a ferida cirúrgica estava totalmente cicatrizada em poucos dias.

Figura 7: Sequência das imagens obtidas por meio de laparoscopia para abomasopexia e implantação de cânula - São Paulo, 2015

Legenda: A = abomaso; F = fígado; R = rúmen.

Figura 8: Sequência do procedimento cirúrgico para implantação de cânula abomasal utilizando-se a técnica de laparoscopia - São Paulo, 2015

Mesmo após os ajustes, após quatro cirurgias para canulação do abomaso com uso da técnica laparoscópica julgamos que a laparotomia traria maior certeza quanto ao local de introdução da sonda, mesmo sendo técnica relativamente mais invasiva. Portanto, dos oito animais utilizados no experimento, três foram canulados pela técnica de laparoscopia e cinco pela técnica de laparotomia. Os protocolos anestésico e profilático foram realizados da mesma forma e a recuperação pós-cirúrgica foi excelente para todos os animais.

1.2 Escolha e adaptação da sonda

A primeira dificuldade encontrada foi a escolha da sonda a ser utilizada. No primeiro animal acoplou-se à fístula uma seringa cortada e lixada (Figura 9), que se mostrou boa possibilidade apenas por duas semanas, pois no 14º dia após a canulação o animal apresentou sangramento na camada muscular (Figura 10)

devido à rigidez do material. A seringa foi então substituída por uma sonda Pezzer nº 28, como relatado por Haskell (2004) e previamente utilizado por nosso grupo de pesquisa, e em poucos dias a ferida cicatrizou completamente (Figura 11).

Figura 9: Animal saudável e com a ferida cirúrgica cicatrizada cinco dias após a cirurgia - São Paulo, 2015

Figura 10: Processo inflamatório verificado 14 dias após a canulação em decorrência do uso de sonda de material rígido - São Paulo, 2015

Figura 11: Fístula abomasal cicatrizada após substituição da seringa rígida por sonda de material flexível - São Paulo, 2015

O segundo desafio foi padronizar o comprimento ideal da sonda Pezzer, pois, com o intuito de fazê-la chamar o mínimo de atenção do próprio animal e de seus companheiros optamos por cortá-las de forma que ficassem apenas cinco centímetros externos ao animal. Tal comprimento diminuto fez com que a sonda adentrasse no órgão de dois dos animais, podendo ser retirada apenas com auxílio de pinça laparoscópica guiada por endoscopia (Figura 12). Cogitamos a adaptação de algum objeto que impedisse a entrada da sonda, mas apenas deixá-la mais comprida solucionou o problema.

Figura 12: Retirada da sonda Pezzer do interior do abomaso com auxílio da endoscopia abomasal - São Paulo, 2015

No entanto, no decorrer do estudo piloto percebemos que o manuseio diário das sondas Pezzer seria problemático, pois para sua reintrodução precisávamos utilizar uma pinça hemostática, e em várias situações a mucosa abomasal foi involuntariamente lesionada.

Para evitar a ocorrência dessas lesões mecânicas optamos por substituir a sonda Pezzer por sondas Foley nº 22 ou 26 (Figura 13), dependendo do diâmetro da fístula. Embora não haja possibilidade de reduzir o comprimento das sondas Foley, os animais se adaptaram muito bem a elas, não havendo situação de pisoteio da mesma. A única ressalva quanto ao uso desse tipo de sonda é que ela deve ser substituída periodicamente, pois com o tempo o ácido clorídrico corroi o material, havendo rompimento do *cuff* e fazendo com que a sonda caia. A substituição preventiva deve ser realizada de forma a evitar que o animal perca a sonda, pois ocorre redução da fístula, chegando à estenose em poucas horas.

Figura 13: Animal canulado com sonda Foley São Paulo, 2015

Não é possível coletar conteúdo abomasal pela sonda Foley, então a estratégia adotada foi a de retirá-la no momento da coleta e substituí-la por uma sonda Pezzer cortada, utilizando apenas sua porção tubular. Imediatamente após a coleta do conteúdo ou realização da endoscopia, no entanto, a sonda Foley era recolocada na fístula.

1.3 Percalços imprevisíveis

1.3.1 Tibúrcio, o carneiro glutão

No primeiro momento o feno era fornecido *ad libitum* e o primeiro dos animais a ser canulado, Tibúrcio, por ser guloso, ingeriu elevada quantidade de volumoso em um determinado final de semana, culminando na eventração do seu abomaso (Figura 14). Inicialmente tentamos o tratamento conservativo para redução e reposicionamento do órgão, porém não obtivemos sucesso, sendo então necessária a excisão de parte do abomaso. Tibúrcio se recuperou rapidamente do procedimento cirúrgico e a quantidade de alimento passou a ser fornecida com cautela.

Figura 14: Eventração de abomaso canulado – São Paulo, 2015

Na realização do experimento piloto, porém, com coletas diárias de sangue, notamos que as amostras de Tibúrcio sempre se mostravam hemolizadas. Apesar disso, ele era ativo, não apresentava qualquer outra comorbidade e continuava glutão. Possivelmente a hemólise era decorrente da insuficiência de vitamina B12, que para ser adequadamente absorvida no íleo e atuar na correta formação das hemácias depende da ação do fator intrínseco, glicoproteína sintetizada pelas células parietais da mucosa gástrica. A hipótese mais plausível, portanto, é que este animal não apresentava quantidade suficiente de fator intrínseco, dado que perdeu certa porção do abomaso.

A partir disso Tibúrcio deveria ser considerado inadequado para o estudo? Após ponderar que a porção excisada pertencia ao corpo do abomaso e o foco da observação de nosso estudo estava nas regiões pilórica e fúndica; que o animal estava completamente saudável; e que haveria exclusão do efeito de animal no modelo estatístico por se tratar de delineamento em quadrado latino ele não foi considerado impróprio para o estudo.

Referência

https://www.dsm.com/markets/anh/en_US/Compendium/ruminants/vitamin_B12.html

- acessado em 03 de outubro de 2017.

1.3.2 Os casos de alcalose

A primeira de todas as biopsias, momento anterior ao primeiro período, foi realizada no dia 29 de dezembro de 2016. Tivemos bastante dificuldade para obter as amostras da mucosa do Nerson. O procedimento demorou mais de duas horas e precisamos aumentar a dose de sedativo utilizado. Após a segunda aplicação de xilazina o ovino ficou em decúbito, mostrando-se apático. Como o ovino utilizado no piloto da biopsia também havia ficado relativamente inativo após o procedimento decidimos apenas acompanhar a evolução do quadro do Nerson.

No dia seguinte, porém, o carneiro continuou com mesmo grau de apatia e inapetência. Foi realizada administração de dipirona. No dia 31 de dezembro o ovino ainda estava sem reação e demonstrava sentir grande desconforto, evidenciado pelas frequências respiratória (60mpm) e cardíaca (80bpm) elevadas, além de atonia ruminal. Havia amostras de fezes agrupadas na baia e no período da tarde o animal foi tratado com omeprazol por via intravenosa.

Nas primeiras horas do dia 01 de janeiro de 2017 a frequência respiratória e cardíaca haviam se normalizado, porém o ovino ainda estava abatido e sem movimentação ruminal. Percebi que havia extravasamento de grande quantidade de conteúdo abomasal, mas não havia sonda mais espessa para colocar na fístula. Foi realizada transfaunação e administração de 1L de solução de ringer lactato, escopolamina e omeprazol, todos pela via intravenosa.

Na noite deste mesmo dia, no entanto, o animal foi encontrado em *rigor mortis*. Embora o teor de íons bicarbonato não tenha sido mensurado, provavelmente a *causa mortis* tenha sido alcalose metabólica decorrente da excessiva perda de íons cloreto.

Não é fácil lidar com a perda de um animal. Mas no caso da realização de experimento com animais canulados, além do desconforto emocional, existe a preocupação com o andamento do estudo, pois não é possível substituir os animais com facilidade. Em nosso caso tínhamos um animal reserva previamente canulado, que foi utilizado em substituição ao Nerson.

Com os oito animais necessários iniciou-se o experimento. No oitavo dia do primeiro período experimental, no entanto, o Azeitona apresentou severa apatia e

princípio de alcalose após eliminação de elevada quantidade de conteúdo abomasal. Como a perda de mais um animal inviabilizaria a continuação do experimento e como o objetivo da indução havia sido alcançado, pois a maioria dos animais apresentou lesões visualizadas no exame de imagem daquele dia, decidimos modificar ligeiramente a proposta inicial. Originalmente os animais seriam tratados com a fenilbutazona e os antiácidos por dez dias; após este episódio definiu-se utilização da fenilbutazona por sete dias (duas vezes ao dia) e dos fármacos antiácidos até o oitavo dia pela manhã. As coletas de material biológico, contudo, foram mantidas até o décimo dia de cada período experimental.

Apêndice 2 - Técnica para determinação da lisozima sérica

A técnica de determinação da lisozima foi desenvolvida pelo Dr Ian Scott na primeira década dos anos 2000, na Massey University, Nova Zelândia. Como o método não foi publicado, o autor autorizou sua descrição em detalhes neste apêndice.

A especificidade desta técnica para a determinação somente da lisozima abomasal decorre do pH utilizado para a reação, pois tal enzima possui 5 como seu pH ótimo, enquanto os outros tipos de lisozima apresentam melhor atividade em pH neutro. A reação química se baseia na capacidade da enzima digerir a parede celular das bactérias, portanto, com o consumo dos microrganismos a solução inicialmente turva torna-se límpida.

Equipamentos necessários

- Placa de microtitulação de fundo plano 96 poços
- Leitor de placa de microtitulação
- Agitador de placa de microtitulação

Reagentes

- **Solução tampão:**

Dissolver 2,99g de acetato de sódio e 6,84g de NaCl em 800mL de água miliQ, ajustando o pH para 4,5 com auxílio de ácido clorídrico 1M. Após ajustado o pH acerte o volume final da solução para 1L em balão volumétrico. A solução final será então composta por 0,022M de acetato de sódio e 0.117M de cloreto de sódio.

- **Solução de trabalho:**

Retirar do freezer a bactéria *Micrococcus lysodeiktitikus*. Pesar 30mg da bactéria liofilizada e dissolver na solução tampão com auxílio do agitador magnético. Completar o volume para 100ml (quantidade suficiente para aproximadamente 5 placas). Esta solução deve ser preparada diariamente.

- **Padrão de lisozima (essa etapa não foi utilizada neste estudo. Nosso padrão foi o momento inicial de coleta, ou seja, dia 1)**

Adicione 1ml de extrato de lisozima a 9mL de soro ovino. Aliquote 0,5 mL em cada eppendorf e armazene a -20°C. Descongele e use um Eppendorf por dia, descartando o que não foi utilizado em até 24 horas.

Procedimento

1. Na placa de 96 poços pipete 50µl de água deionizada nos poços A1, A2 e A3;
2. Nos poços B1 a B3 pipete 50µl do padrão de lisozima (ESTA ETAPA NÃO FOI REALIZADA NAS AMOSTRAS DESTE EXPERIMENTO);
3. Pipete a primeira amostra de soro nos poços C1 a C3, a segunda nos poços D1 a D3, e assim por diante até H10 a H12. Em uma placa, então, são colocados o padrão negativo (água deionizada), o padrão positivo (padrão de lisozima – NÃO UTILIZADO) e 30 amostras de soro;
4. Adicione 190µl da solução tampão com a bactéria a cada poço. A solução tampão deve estar em temperatura ambiente no momento da adição;
5. A leitura da microplaca deve ser realizada a 450nm de comprimento de onda por 10 minutos, utilizando o protocolo de curva cinética. A função de homogeneização da placa durante a leitura deve estar ativada.
6. Serão obtidas três leituras por padrão/amostra. A curva cinética é feita para verificar a linearidade da reação. Sendo linear devemos utilizar a diferença do valores obtido aos dez minutos da reação subtraindo-o do valor inicial, calculando-se a média para os três poços utilizados para cada amostra. Feito isso, os resultados da amostra de soro devem ser expressos como porcentagem do resultado do padrão de lisozima (Como não utilizamos padrão positivo não utilizamos a porcentagem neste estudo).

Apêndice 3 - Experimento piloto

A proposta inicial deste estudo era definir qual dos fármacos antiácidos testados, ranitidina ou omeprazol, seria a melhor opção para o tratamento da úlcera abomasal, uma vez que esta estivesse estabelecida. Na tentativa de responder quantos dias seriam necessários para o aparecimento da lesão macroscópica realizamos em julho de 2015 o experimento piloto, em que quatro animais foram tratados diariamente com 4mg de fenilbutazona/kg de peso vivo, por via intravenosa.

A resposta obtida, no entanto, variou de acordo com o indivíduo. Apenas um dos animais apresentou lesões decorrentes do uso do fármaco. Já no segundo dia de administração da fenilbutazona, este manifestou desconforto, mostrando-se apático, com anorexia, atonia ruminal, taquicardia e taquipneia. Neste dia, o teor de fibrinogênio sérico foi de 6g/L, três vezes maior que no dia anterior; o valor de pepsinogênio sérico foi de 2,4UI/L; o valor do pH abomasal foi 2,52 e foram necessárias 24 unidades clínicas de NaOH 0,1N para neutralizá-lo. No dia seguinte, lesões arredondadas foram visualizadas na mucosa abomasal. Embora continuasse com frequência cardíaca e respiratória acima dos valores considerados fisiológicos, o ovino apresentou dois movimentos ruminais completos e um incompleto durante três minutos. A concentração de fibrinogênio manteve-se em 6g/L; o valor de pepsinogênio sérico foi de 4,5UI/L; o pH abomasal foi 2,88 e foram necessárias 70,8 unidades clínicas de NaOH 0,1N para neutralizá-lo. No quarto dia da administração de fenilbutazona, a mucosa abomasal estava aparentemente intacta.

Na manhã do 5º dia da indução, apareceram novamente lesões arredondadas na região do corpo do abomaso. Ao final da tarde, o animal manifestou desconforto extremo, expresso principalmente por taquipneia, atonia ruminal e pela posição incomum em que se encontrava deitado. A administração da fenilbutazona foi, então, interrompida. No sexto dia após o início da indução visualizaram-se lesões extensas e difusas por todo o órgão. O animal continuava apático e seus movimentos ruminais estavam fracos e em menor frequência que o normal. O pH abomasal foi 3,05 e foram necessárias 62,8 unidades clínicas de NaOH 0,1N para neutralizá-lo. No dia subsequente, apenas com a retirada do estímulo causador de

lesão, a mucosa do abomaso mostrou-se aparentemente incólume e os movimentos ruminais foram restaurados.

A fístula desse ovino localizava-se mais próxima da região pilórica do órgão, o que fazia com que a sonda fosse frequentemente tragada para o interior do mesmo em decorrência da motilidade presente nessa região. Após biópsia, verificou-se que, naquele momento, este animal apresentava gastrite, muito provavelmente devido à lesão mecânica causada pela sonda em constante contato com a mucosa. É provável que a gastrite tenha sido o fator predisponente para o aparecimento das lesões e desenvolvimento do quadro clínico previamente descrito.

Dois animais utilizados não haviam apresentado danos macroscópicos na mucosa abomasal até o nono dia da indução. Então, a partir do 10º dia, passou-se a administrar a mesma dose de fenilbutazona duas vezes ao dia. Até o 14º dia da administração de fenilbutazona (uma vez ao dia durante nove dias e duas vezes ao dia por mais cinco dias), no entanto, os animais não demonstraram quaisquer alterações decorrentes do uso do fármaco. O quarto animal utilizado, por sua vez, foi retirado do experimento piloto em decorrência de lesão mecânica.

Embora a fenilbutazona seja considerada como o anti-inflamatório não esteroide mais ulcerogênico (MOZZAFARI; DERA KHSHANFAR, 2012), a dificuldade de induzir lesão abomasal em dois animais revelou que ovinos saudáveis e bem alimentados toleraram-na de maneira melhor que a esperada. Sendo assim, reconsideramos a proposta do trabalho e optamos por avaliar qual dos fármacos antiácidos escolhidos atuaria como melhor alternativa para reduzir a secreção de HCl e, dessa forma, prevenir o aparecimento de lesão abomasal.

Além da dificuldade em induzir lesão percebemos que apenas a retirada do estímulo causador da injúria, a fenilbutazona, foi suficiente para que o animal que apresentou lesão se recuperasse. Para manter a proposta inicial neste cenário teríamos que incluir um grupo que, sabidamente doente, não deveria ser tratado, o que demandaria número maior de animais canulados, a readequação do delineamento escolhido e, sobretudo, incorreria em uma questão ética.