

Evaluación de injuria cardíaca en novillos a distintas dosis de monensina sódica dietaria medida a través de creatina kinasa miocárdica

Miranda, A.¹; Romero Harry, H.¹; Francés, O.²; Bermejo, V.¹; Gelid, L.¹

¹Grupo de Sanidad Animal. EEA INTA Anguil. Ruta Nacional N° 5 km 580, CP 6326, La Pampa, Argentina.

²Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Pampa. Calle 5 y 116, General Pico, La Pampa, Argentina.

Correspondencia: miranda.ariel@inta.gob.ar

Recibido: 19 de octubre de 2016

Aceptado: 1 de diciembre de 2016

Resumen

El objetivo del presente trabajo fue evaluar un posible daño de miocardio en novillos en feedlot ante la administración continua de dosis elevadas de monensina (MN) en la dieta, utilizando para ello el kit comercial que determina la concentración de creatina quinasa miocárdica (CK-MB). Se conformaron cuatro grupos de acuerdo a la concentración de MN en la dieta, G1: Control, sin monensina, G2: dosis marbete, MN 1 mg kg PV⁻¹, G3: MN 5 mg kg PV⁻¹ y G4: MN 10 mg kg PV⁻¹. El ganado fue mantenido en los corrales por un periodo de 11 días con muestreos de sangre por venopunción yugular a la hora 0, 48, 120, 168 y 264 de iniciada la prueba. Las concentraciones séricas de CK-MB fueron analizadas mediante estadística descriptiva y comparativa usando un análisis de variancia (ANOVA) con un nivel de significancia de P<0,05. No se registraron concentraciones de CK-MB promedio por encima del punto de corte (90 U/l) a lo largo de la prueba para ninguno de los tratamientos propuestos. La media aritmética evaluada a lo largo de toda la prueba para el grupo G1 fue de 47,84±21,28 U/l, mostrando diferencias estadísticas (P<0,05) a partir de las 120 h de iniciada la prueba en relación a los demás grupos. La media para los grupos G2, G3 y G4 fue de 37,31±17,00; 34,09±12,96 y 34,62±19,90 U/l, respectivamente. No se pudo determinar la participación de MN como causante de lesión cardíaca medido a través del kit comercial a pesar del prolongado período de tiempo evaluado. Considerando que el grupo control presentó concentraciones promedio más elevadas

a partir de las 48 hs y hasta la finalización de la prueba en relación a los tres grupos que contenían MN, se debería considerar un posible efecto beneficioso y regulador de la microflora del tracto digestivo por parte de dicho antibiótico, generando una menor exposición a endotoxinas bacterianas.

Palabras clave: sanidad feedlot, monensina, creatina kinasa miocárdica, daño cardíaco.

Evaluation of cardiac insult in steers with different dietary sodic monensin concentration measured through myocardial creatine kinase

Abstract

The aim of this study was to evaluate a possible myocardial damage on feedlot steers caused by high doses of monensin (MN). A commercial kit was used to determine the concentration of myocardial creatine kinase (CK-MB). Four groups of animals were formed according to the diet MN concentration. G1: Control, without MN, G2: MN Tag dose, 1 mg kg body weight (BW)⁻¹, G3: MN 5 mg kg BW⁻¹ and G4: MN 10 mg kg BW⁻¹. The cattle were housed in pens for eleven days. Venous blood samples were taken at 0, 48, 120, 168 and 264 h. Serum CK-MB concentration was analyzed using descriptive and comparative statistics analysis of variance (ANOVA) with a significance level of P<0,05. No CK-MB mean concentration above cut-off level (90 U/l) was recorded throughout the assay for any treatment. The G1 mean throughout the assay was 47,84 ± 21,28 U/l showing statistical differences (P<0.05) from 120 h up to the end of the study, as compared to the others groups. Means of G2, G3 and G4 were 37,31 ± 37,31; 34,09 ± 12,96; 34,62 ± 19,90 U/l, respectively. This study could not determine heart damage caused by MN, measured through a commercial kit, despite the widespread time assessed. The control group had higher CK-MB mean concentration than all others groups, from 48 h until the end of the study. This result could indicate a possible beneficial and regulatory effect on digestive microflora by the MN antibiotic, resulting in less exposure to bacterial endotoxins.

Keywords: feedlot health, monensina, myocardial creatine kinase, cardiac damage.

Introducción

La Monensina (MN) es un antibiótico poliéter (PEs) del grupo de los ionóforos ampliamente utilizado como promotor de crecimiento en el ganado vacuno; presenta gran afinidad por los cationes como el sodio, alterando la permeabilidad de la membrana celular. Esta acción afecta las células del músculo cardíaco y esquelético generando una miopatía cardíaca con éxtasis sanguíneo y edema intersticial pulmonar consecuente (Pascuet *et al.*, 2005). La toxicidad puede presentarse tanto en forma aguda como crónica dependiendo de la dosis ingerida. La DL_{50} se ha establecido entre 50 y 80 mg de MN/kg PV en tanto que las primeras manifestaciones clínicas de intoxicación pueden observarse con dosis de 10 mg MN/kg PV (Radostits *et al.*, 2002). Existen distintos biomarcadores para detectar lesión de miocardio. Podemos citar al complejo proteico de las Troponinas (cTnI y cTnT), muy desarrollado en los últimos años en medicina humana y en clínica de pequeños animales, gracias a su alta sensibilidad, especificidad y detección temprana del daño de miocardio (6 horas) (O'Brien, 2008). Por otro lado, también se utilizan marcadores bioquímicos como Creatina kinasa total (CK), Creatina kinasa subunidad miocárdica (CK-MB), Aspartato amino transferasa (GOT-AST), Alanina amino transferasa (GPT) y Lactato deshidrogenasa (LDH) (Tunca *et al.*, 2008). En el presente trabajo se utilizó el kit comercial para la determinación CK-MB, considerando que dicho producto presenta mayor disponibilidad para el uso en laboratorios de sanidad animal, menores costos operativos y mayor sensibilidad que otros marcadores bioquímicos sanguíneos. Si bien en la actualidad se dispone de indicadores de mayor precisión y detección temprana, sobre todo de uso humano, a lo fines prácticos CK-MB constituye una herramienta altamente valiosa de aplicación práctica en medicina veterinaria. Por otro lado ha sido considerada la prueba estándar de referencia, como indicador de injuria cardíaca, a lo largo de muchos años. (Nigam, 2007; Lee y Goldman, 1986). Los valores normales de CK-MB reportados para ganado bovino pueden fluctuar entre 25 y 90 U/l (Tunca *et al.*, 2008; Basbakan

et al., 2010), estimándose un valor promedio de 45 U/l para la presente prueba. En tanto que en animales afectados los valores pueden ascender a más de 200 U/l (Basbakan *et al.*, 2010; Tunca *et al.*, 2008; Fartashavand *et al.*, 2013). Se han reportado concentraciones altas de CK-MB en suero de animales con deficiencia de Selenio, Vitamina E o ambos (Radostits *et al.*, 2002) así como también en bovinos inducidos experimentalmente con endotoxinas bacterianas (Lipopolisacáridos, LPS) (Peek *et al.*, 2008; Gerros *et al.*, 1995). Por otro lado, la anemia e hipoxia, así como el infiltrado difuso de células inflamatorias y el daño de la membrana celular generado por ciertas parasitosis (Theileriosis), puede ser causa de un aumento en la concentración plasmática de esta isoenzima (Fartashavand *et al.*, 2013). Considerando que CK-MB no es exactamente específica de músculo cardíaco, debemos tener en cuenta posibles lesiones de músculo esquelético al momento de analizar los resultados (Nigam, 2007). El objetivo del presente trabajo fue evaluar un posible daño cardíaco ante la administración continua de dosis elevadas de MN en la dieta, utilizando para ello el kit comercial que determina la concentración de creatina quinasa MB (CK-MB, Wiener-lab).

Materiales y Métodos

Se utilizaron cuatro grupos de animales, conformados por 10 novillos cada uno, de raza británica, con un peso promedio de $306,70 \pm 28,70$ kg, en un diseño de bloques completamente aleatorizados. Los animales permanecieron 15 días en acostumbramiento a dieta de corral previo al inicio del ensayo. Cada grupo recibió una dieta preparada ad hoc y administrada mediante un carro mezclador (Mixer). El grupo 1 (G1) recibió grano de maíz y rollo de alfalfa molido en iguales proporciones a razón del 3% del PV. En tanto que los grupos 2, 3 y 4 (G2, G3 y G4, respectivamente) recibieron la misma dieta pero a razón de 2,7% PV más un aditivo mineral y vitamínico comercial con monensina al 0,3% del PV. Los grupos G3 y G4 recibieron MN sódica extra de una presentación comercial al 20%. La concentración del ionóforo MN en el alimento quedó conformada de la siguiente manera: G1: Control, ración básica sin monensina, G2: MN 1 mg/kg de PV, dosis marbete, G3: MN 5 mg/kg de PV y G4: MN 10 mg/kg de PV. El ganado fue mantenido en los corrales por un periodo de 11 días con muestreos de sangre por venopunción yugular a la

hora 0, 48, 120, 168 y 264 de iniciada la prueba. Las muestras de suero fueron obtenidas mediante centrifugado dentro de las 2 a 4 hs de su colecta. Posteriormente se realizaron alícuotas de los sueros y se almacenaron a -20°C hasta su procesamiento. Para la determinación de una probable lesión cardíaca subclínica se utilizó un kit comercial que determina creatina quinasa miocárdica (CK-MB). El valor promedio normal de CK-MB (45 U/l) así como el punto de corte (90 U/l) considerado en la presente prueba fue estipulado en base a valores reportados en la bibliografía, así como también valores hallados por el autor en experiencias previas (datos sin publicar). Las mediciones obtenidas fueron analizadas mediante estadística descriptiva (media y desvío) y comparativa usando un análisis de la variancia (ANOVA) test LSD de Fisher con un nivel de significancia de $P < 0,05$ para cada uno de los grupos (control y tratamiento). Estas mediciones fueron evaluadas tanto a tiempo específico como a punto tiempo final entre el grupo control y los tratamientos utilizando el software estadístico INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2013).

Resultados y Discusión

No se registraron valores de CK-MB promedios por encima del punto de corte a lo largo de la prueba para ninguno de los tratamientos propuestos. A diferencia de lo reportado por Radostits *et al.* (2002), utilizando una dosis de 10 mg/kg de PV (grupo de mayor concentración de MN en la dieta), no se reportaron manifestaciones clínicas como tampoco subclínicas en el presente ensayo. El grupo G1 se diferenció estadísticamente ($P < 0,05$) a las 120 hs posteriores al inicio de la prueba, manteniendo esta diferencia hasta la finalización del estudio. Por otro lado no se hallaron diferencias entre los 3 grupos que contenían MN a distintas dosis en la dieta para ningún muestreo realizado a lo largo de todo el estudio. Los valores promedios de CK-MB por grupo se muestran en la **Tabla 1**. La media aritmética evaluada a lo largo de toda la prueba para el grupo G1 fue de $47,84 \pm 21,28$; en tanto que para los grupos G2, G3 y G4 fueron de $37,31 \pm 17,00$; $34,09 \pm 12,96$; $34,62 \pm 19,90$, respectivamente. Estos resultados muestran valores más altos de CK-MB para G1, en relación a los grupos con MN estableciéndose diferencias significativas ($P < 0,05$). La **Figura 1** muestra la evolución en la concentración

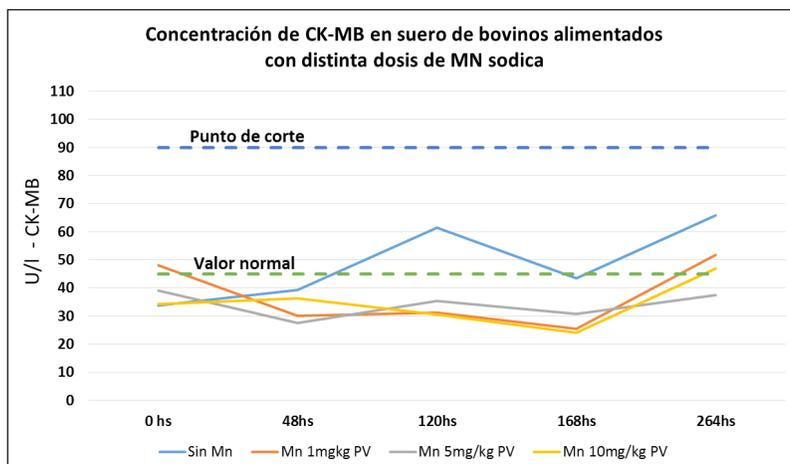
de CK-MB a lo largo de la prueba para cada uno de los grupos y concentraciones de MN.

Tabla 1: Concentración media y error estándar de CK-MB por grupo a lo largo de la prueba.

Grupo/ Hora	0 Hs	48hs	120hs	168hs	264hs
G1	33,76 ±2,85 ^A	39,34 ±4,12 ^A	61,40 ±8,41 ^B	43,41 ±6,53 ^B	65,86 ±8,31 ^B
G2	47,96 ±6,11 ^A	30,06 ±2,29 ^A	31,30 ±3,63 ^A	25,49 ±2,99 ^A	51,73 ±5,66 ^{AB}
G3	39,04 ±4,28 ^A	27,63 ±4,07 ^A	35,45 ±3,37 ^A	30,79 ±3,80 ^A	37,55 ±4,54 ^A
G4	35,31 ±7,49 ^A	36,33 ±7,11 ^A	30,64 ±5,10 ^A	24,02 ±3,31 ^A	46,95 ±6,78 ^A

^{A, B}: Letras distintas difieren significativamente (P<0,05)

Figura 1: Concentración de CK-MB en suero de bovinos alimentados con distintas dosis de MN sódica



Considerando que, la deficiencia de Selenio y/o Vitamina E o ambas se presentan frecuentemente en ganado alimentado sobre pasturas tiernas en base a leguminosas (alfalfas, tréboles y melilotus) en un período de tiempo suficiente como para poder generar dicha deficiencia, se desestimó como causal diferencial en el presente estudio. Por otro lado Theileriosis, producida por el protozooario *Theileria spp.*, requiere de la garrapata del bovino

(*Boophilus microplus*) como vector necesario para la transmisión, agente no presente en la región semiárida pampeana. No se observó sintomatología compatible con intoxicación por monensina (baja del consumo diario de alimento, decaimiento general, dificultad respiratoria, diarrea, entre otras) a lo largo de todo el ensayo.

Conclusión

No se pudo determinar la participación de MN como causante de lesión cardíaca, posiblemente esto se deba a que la concentración utilizada no constituyó riesgo de intoxicación para el ganado, a pesar del prolongado período de tiempo evaluado. Considerando que el grupo control presentó valores promedios más elevados a partir de las 48 hs y hasta la finalización de la prueba, en relación a los 3 grupos que contenían MN en la dieta, se debería considerar un posible efecto regulador de la microflora del tracto digestivo por parte de dicho antibiótico, generando una menor exposición a endotoxinas bacterianas. Cambios hematológicos y bioquímicos como leucopenia, hipoglucemia, entre otros, pueden verse alterados en animales experimentalmente inducidos con LPS bacterianos y deberían ser evaluados en estudios futuros. La toma de muestra de sangre así como el manejo de los animales durante el arreo al corral de sangrado se realizó en similares condiciones y en el mismo momento para todos los grupos. Esta situación nos permitiría descartar un posible aumento de CK-MB proveniente del músculo esquelético a causa de un manejo diferencial para el grupo control. La MN sódica se mostró segura a las dosis administradas en el presente ensayo con un posible efecto benéfico sobre el control bacteriano, incluso a dosis muy superiores a las terapéuticas. Los cambios en la concentración sanguínea de CK-MB no pudieron ser evaluados correctamente al no presentarse toxicidad inducida.

Bibliografía

Basbakan, Y.; Agaoglu, Z.; Yöksek, N. 2010. An investigation on serum troponin concentration in healthy ruminants. Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University, 16(4): 641-645.

- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W.** InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Fartashvand, M.; Nadalian, M.G.; Sakha, M.; Safi, S. 2013.** Elevated serum cardiac troponin I in cattle with Theileriosis. *Journal Veterinary Internal Medicine*, 27: 194-199.
- Gerros, T.; Semrad, S; Proctor, R. 1995.** Alterations in Clinical, Hematological and Metabolic Variables in Bovine Neonatal Endotoxemia. *Canadian Journal Veterinary Research*, 59: 34-39.
- Lee, T.; Goldman, L. 1986.** Serum enzymes assay in the diagnosis of acute myocardial infarction. Recommendation bases on a quantitative analysis. *Annals Internal Medicine*, 105: 221-233.
- Nigam, P.K. 2007.** biochemical markers of myocardial injury. *Indian Journal of Clinical biochemistry*, 22(1): 10-17.
- O'Brien, P.J. 2008.** Cardiac troponin is the most effective translation safety biomarker for myocardial injury in cardiotoxicity. *Toxicology*, 245: 206-218.
- Pascuet, M.L; Moore, D.P; Iraguen Pagate, I; Cosentino, I.A.; Odriozola, E. 2005.** Cambios enzimáticos, lesiones macroscópicas y microscópicas producidas por la intoxicación con Monensina en bovinos. *Revista Medicina Veterinaria*, 86 (2): 47-51.
- Peek, S.; Apple, F; Murakami, M; Crump, P; Semrad, S. 2008.** Cardiac isoenzymes in healthy Holstein calves and calves with experimentally induced endotoxemia. *The Canadian Journal of Veterinary Research*. 72: 356-361.
- Radostits, O.; C. Gay; D. Blood; K. Hinchcliff. 2002.** *Medicina veterinaria: tratado de enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino.* 9ª Ed. Vol. 2. McGraw-Hill. Madrid. P. 1931.
- Tunca, R. Sozmen, M.; Erdogan, H.; Cital, M.; Uzlu, E.; Ozen, H.; Gokce, E. 2008.** Determination of Cardiac Troponin I in the blood and heart of calves with foot and mouth disease. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*, 20: 598-605.
- Wiener laboratorios S.A.I.C. 2008.** CK-MB DsUV unitest. <http://www.wiener-lab.com.ar>. Rosario-Argentina. Acceso 17 de Febrero de 2016.