

01/02/16 - Encefalopatía hepática asociada a intoxicación crónica por cobre en bovinos.

Vet. Arg. ? Vol. XXXIII ? N° 334 ? Febrero 2016.

Marin, R.E.1

Resumen

Se describe un caso de intoxicación crónica por cobre en un rodeo de cría y engorde bovino. Los lotes problema fueron alimentados a corral con ración de granos, núcleo proteico mineral, y rollo de pasturas subtropicales, recibiendo aplicaciones de cobre inyectable en diferentes épocas del año, además de aplicaciones adicionales de polivitamínicos minerales en momentos estratégicos. En un lapso de 40 días aparecieron animales con signología neurológica severa, con evolución a decúbito lateral con opistótono, y estados convulsivos terminales en agonía. Algunos animales mostraron diarrea. Análisis de sangre mostraron altos niveles de GOT e hiperbilirrubinemia con aumento de bilirrubina indirecta. La necropsia de dos animales evidenció ictericia intensa, hepatomegalia congestiva con patrón lobulillar marcado y colitis congestiva y hemorrágica. El sistema nervioso central presentó color amarillento intenso con edema severo, congestión meníngea y hernia cerebelosa. La histopatología demostró degeneración y necrosis periácinar hepática con evidentes fagocitos pigmentados y moderada fibrosis con edema periportal, necrosis tubular aguda renal con depósitos intratubulares de hemoglobina, mientras que el sistema nervioso central evidenció status esponjoso, con edema intramielínico de la sustancia blanca, astrocitos tipo II, congestión vascular intensa y edema. La medición del cobre renal de un animal arrojó resultado de 96 ppm de peso en seco. Los antecedentes nutricionales, sumados a la suplementación mineral adicional, la signología clínica y los hallazgos anatomopatológicos sumados al nivel de cobre renal hallado, sustentan el diagnóstico citado.

Palabras clave: encefalopatía hepática, intoxicación crónica por cobre, bovinos

Hepatic encephalopathy associated with chronic copper intoxication in cattle.

Summary

A case of chronic copper poisoning is described in a feedlot cattle receiving a concentrate ration and natural pasture hay, mixed with a mineral protein core. The animals received injectable copper each four months per year, plus additional applications minerals multivitamin at strategic moments. In a span of 40 days they were animals with severe neurological signology with lateral decubitus evolution with opisthotonos, and convulsive states terminals in agony. Some animals showed diarrhea. Blood tests showed high levels of GOT and hyperbilirubinemia with

increased indirect bilirubin. The necropsy showed severe jaundice, congestive hepatomegaly with marked lobular pattern, congestive and hemorrhagic colitis. The central nervous system showed severe yellowing with severe edema, congestion and cerebellar hernia. Histopathology showed severe liver ballooning degeneration centrilobular layout with focal hepatocyte necrosis and marked phagocytes pigmented, acute renal tubular necrosis and intratubular hemoglobin deposits, while the central nervous system showed spongy status, with intramyelinic edema of the white matter, astrocytes type II, severe vascular congestion and edema. Measuring an animal copper renal result showed 96 ppm of dry weight. Nutritional background, coupled with the additional mineral supplementation, clinical symptoms and pathological findings added to the level of kidney copper found, supporting the diagnosis cited.

Key words: Hepatic encephalopathy, chronic copper intoxication, cattle.

1Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Jujuy. Argentina.

Contacto: raulemarin@hotmail.com

Introducción

El cobre es un importante cofactor de numerosas enzimas y procesos metabólicos entre los que se incluyen la fosforilación oxidativa, el transporte de oxígeno y la detoxificación de radicales libres. Sin embargo las propiedades redox del cobre son también responsables de su toxicidad cuando se encuentra en cantidades excesivas (8). La susceptibilidad al exceso de cobre varía entre las especies, siendo los rumiantes los más susceptibles de padecer procesos de intoxicación, encontrándose particularmente afectado el ganado ovino (4, 9), probablemente por su incapacidad de incrementar la excreción biliar de cobre en respuesta a niveles altos en su dieta (5, 8, 17). El ganado bovino se considera como una especie resistente ya que los episodios de toxicidad crónica son poco frecuentes (17). El hígado es el principal órgano involucrado en la regulación de los niveles de cobre, y la homeostasis es mantenida por el balance entre la ingesta de cobre y la excreción biliar del mismo (5,8,20) El 92,5 ± 5 % del cobre es captado por el hígado. El resto se distribuye por otros tejidos, leche y orina. En el hepatocito el Cu se almacena unido a la metalotioneína, una proteína que posee cisteína, y en los lisosomas para ser utilizado en la síntesis de ceruloplasmina (Cp), previa degradación lisosomal o por intercambio mediado por glutatión (GSH), o bien puede ser excretado con la bilis. La Cp se libera al plasma y representa la fuente de cobre para los tejidos (19). La toxicosis hepática por cobre puede resultar de un defecto metabólico primario en el metabolismo hepático del cobre, por alteración de la excreción biliar o por exceso en la dieta. Los eventos de acumulación crónica y toxicidad que se describen en ovinos también ocurren en porcinos y bovinos, debiéndose en éstas especies a ingestas inadecuadamente altas de cobre (5, 8, 13). Se describieron cuadros de intoxicación crónica en bovinos lecheros debido al excesivo cobre en la dieta (1,

7,16), aunque son escasos los reportes en esta especie. El objetivo de este trabajo es comunicar un cuadro de intoxicación crónica por cobre en bovinos en un rodeo de cría en el noroeste de Argentina, no reportando la literatura eventos de éste tipo en nuestro país.

Presentación del caso

El problema se presentó en un establecimiento ganadero, ubicado en departamento San Martín, Salta, Argentina (22°49'40"S y 63°34'16"O, 280 mts snm), dedicado en cría bovina extensiva y cabaña de raza Brangus, sobre pasturas subtropicales de *Gatton panic*, con recría y terminación a corral de novillos. Las madres de cabaña se mantenían en confinamiento con ración. El problema se presentó en un lote de 65 novillos y otro de 145 vacas alimentados exclusivamente a corral, con ración en base a maíz, poroto y núcleo comercial vitamínico-mineral -proteico, y rollos de pasturas subtropicales. Se les aplicaba cobre inyectable 3 veces por año y además recibían aplicación inyectable de productos polivitamínicos-minerales que también contienen cobre, en diferentes épocas del año, aprovechando algún movimiento de la hacienda. Entre julio y septiembre de 2010, en ambos lotes se presentaron casos clínicos con signología nerviosa, consistente en incoordinación severa, deambular en círculos y ceguera, con caídas y pedaleo intenso, con evolución a cuadros de apatía y depresión en decúbito esternal, rechinar de dientes, obnubilación, dificultad para pararse y adinamia, evolucionando en el lapso de 48 hs en postración en decúbito lateral, con intenso pedaleo de los cuatro miembros, opistótono y muerte (Foto 1).



Algunos animales mostraron diarrea intensa y se observó pérdida del estado corporal principalmente en el lote de vacas. La inspección de las mucosas vulvar y ocular demostraron moderada ictericia, mientras que no se observó hemoglobinuria. Se realizó la extracción de sangre de vena yugular de 3 animales con signología clínica y fueron procesadas por métodos cinético automático para medición de hemograma y perfil hepático. En el alimento suministrado se evaluaron los niveles de Aflatoxinas B1, B2, G1 y G2, Ocratoxina, Citrinina, Zearalenona, Dioxynivalenol (DON) Vomitoxina; Toxina T2, Fusarenona X, nivalenol y Diacetoxycirpenol (DAS) por método A.O.A.C. y Trucksess por T.L.C y medida en Ppb (partes por billón). Se realizó la eutanasia de 2 vacas in extremis para su necropsia diagnóstica, y se tomaron muestras de hígado, sistema nervioso central (tallo cerebral, cerebelo, lóbulo parietal y frontal), riñón e intestino para histopatología las cuales fueron fijadas en formol bufferado al 10 % y procesadas según técnicas convencionales histológicas. Además de un solo animal, se tomaron muestras de hígado y riñón para medición de cobre por espectrofotometría de absorción atómica, previa digestión ácida (18).

Resultados

Los dos animales presentaron lesiones similares a la necropsia. La grasa de cobertura, perirenal, cardíaca y mesentérica presentaba un intenso color amarillento. El hígado se encontraba severamente agrandado, con bordes redondeados, congestivos y pesados, con patrón lobulillar marcado dando aspecto de nuez moscada, con la vesícula biliar plétórica conteniendo bilis espesa. Los riñones presentaron la corteza con palidez homogénea, mientras que la orina intravesical se observaba marcadamente turbia. El encéfalo presentó meninges intensamente congestivas y masa cerebral con severo edema, blando y de aspecto brillante, con aplastamiento de las circunvoluciones y abundante líquido intracraneano, con intensa coloración amarillenta del parénquima. El cerebelo se encontraba protruido hacia la cavidad del orificio del foramen magnum (hernia cerebelosa) dando aspecto cónico al órgano cuando fue extraído. No se observó malacia ni sectores fluorescentes bajo lámpara de UV. En un animal se observó marcado engrosamiento edematoso y congestivo de la mucosa intestinal a nivel de intestino grueso. La histopatología de cerebro (tallo cerebral, lóbulo frontal, lóbulo parietal), demostró severa espongiosis de la sustancia blanca con mayor evidencia en la zona de transición cortico-medular, edema proteináceo perivascular y perineuronal, con necrosis cortical, mostrando neuronas retraídas hipereosinofílicas y picnóticas (Foto 2).

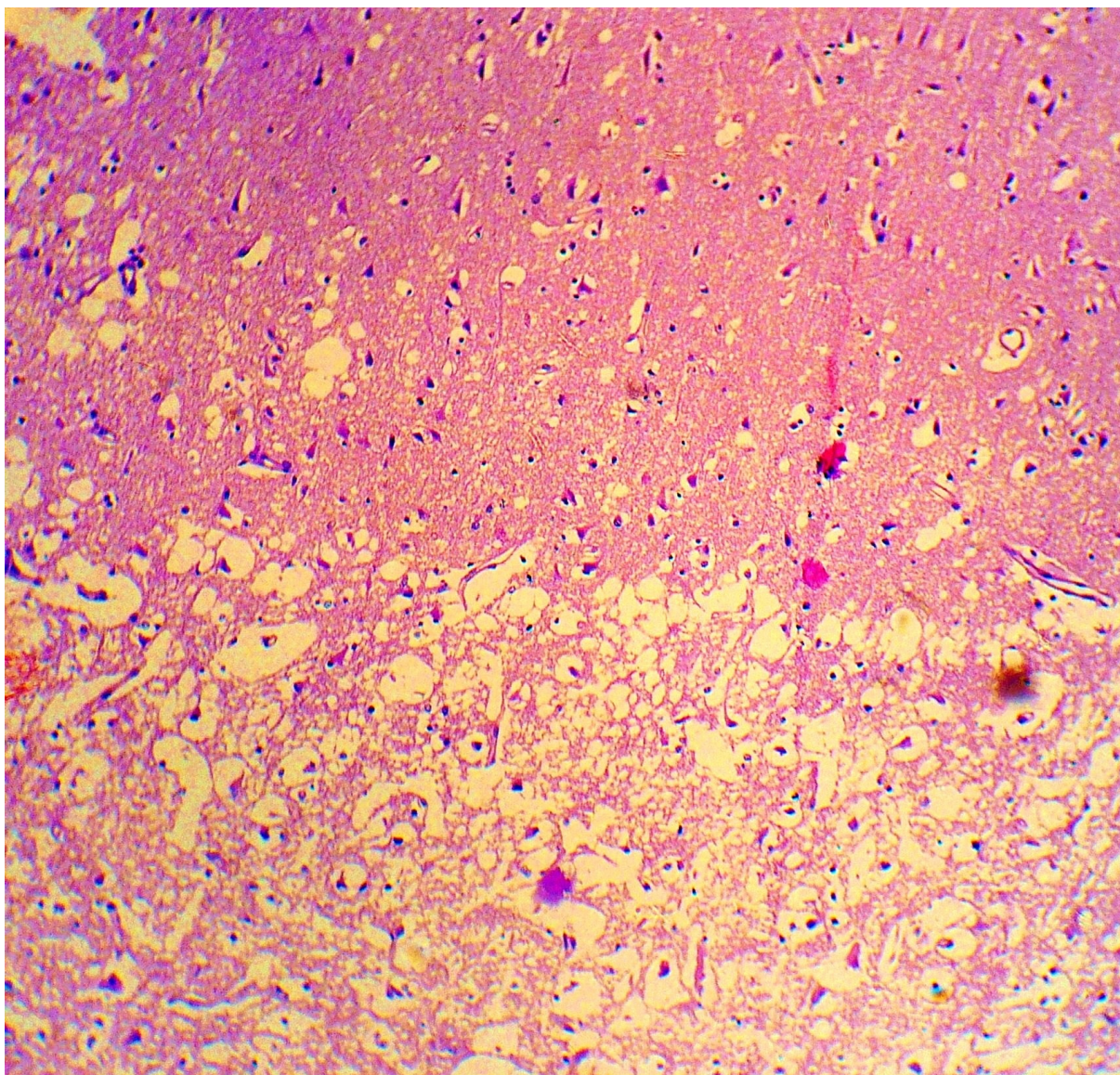


Foto 2: A. Cerebro: Espongiosis severa en la zona de unión entre corteza y sustancia blanca con necrosis cortical HE. 10X. Se observan astrocitos agrandados con núcleos hinchados y vesiculares, de cromatina marginal y nucléolos evidentes, dispuestos en conglomerados y de a pares (Astrocitos tipo II de Alzheimer) (Foto 3).

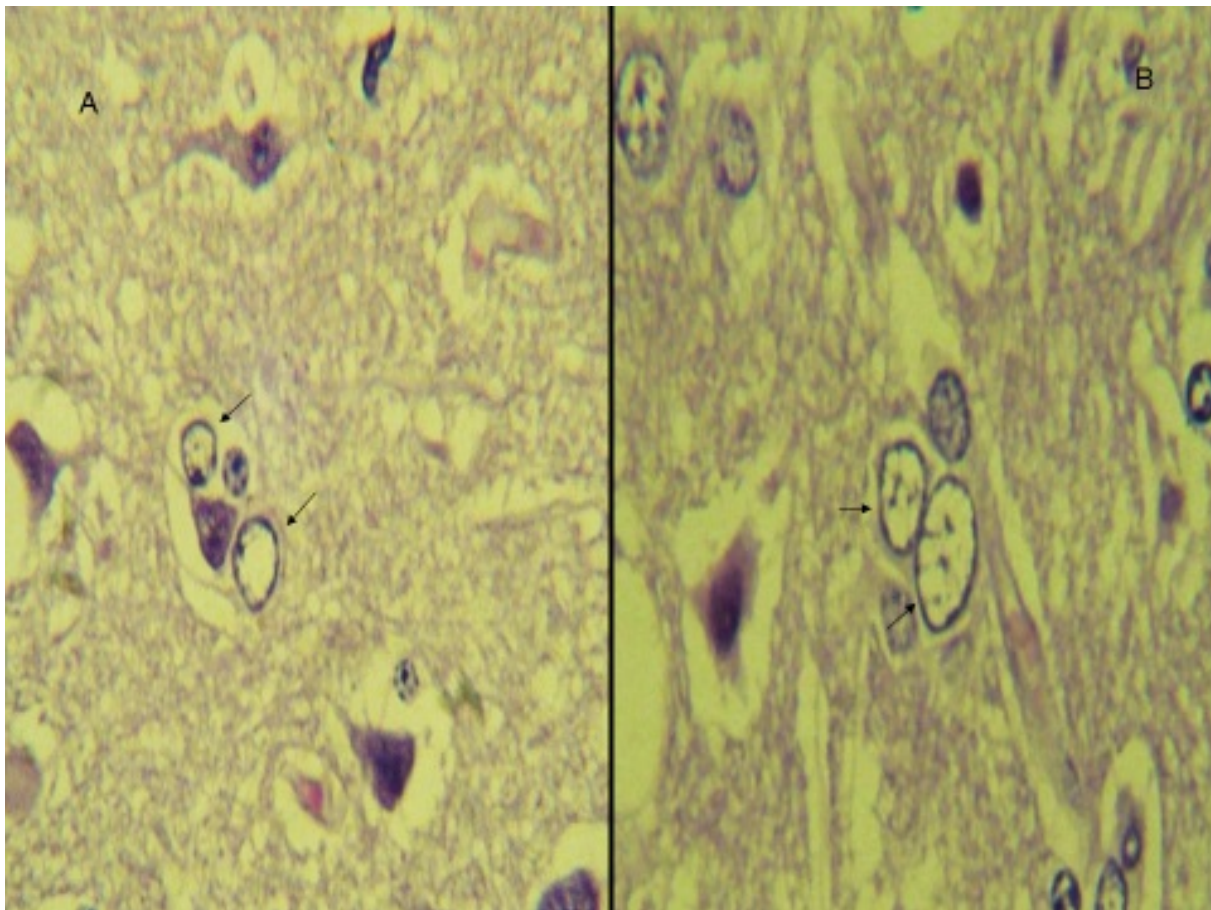


Foto 3: A y B. Cerebro. Astrocitos tipo II de Alzheimer (Flechas) HE 40 X. Cerebelo presentó severa espongiosis por edema intramielínico de la sustancia blanca, congestión vascular intensa y edema. El hígado mostró congestión vascular portal y centrolobulillar, con dilatación sinusoidal y desorden de cordones hepáticos, mientras que los hepatocitos muestran procesos degenerativos hidrópicos severos y necrosis de disposición centrolobulillar, con moderada presencia de macrófagos pigmentados con aparente hemosiderina y fibrosis moderada periportal con edema (Foto 4).

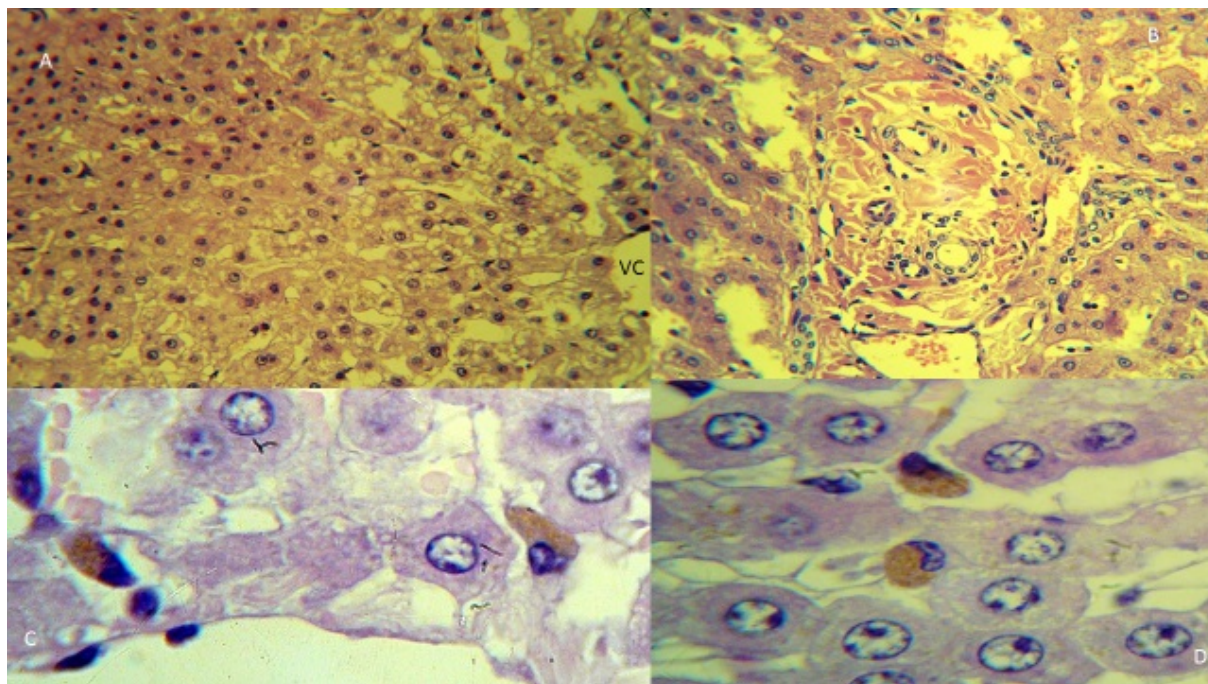


Foto 4: A. Hígado: Procesos degenerativos hidrópicos y necrosis centrolulillar. (VC. Vena centrolulillar) 40x HE. B. Hígado. Fibrosis portal moderada con edema. C y D. Hígado: Macrófagos pigmentados con gránulos ocre (hemosiderina).

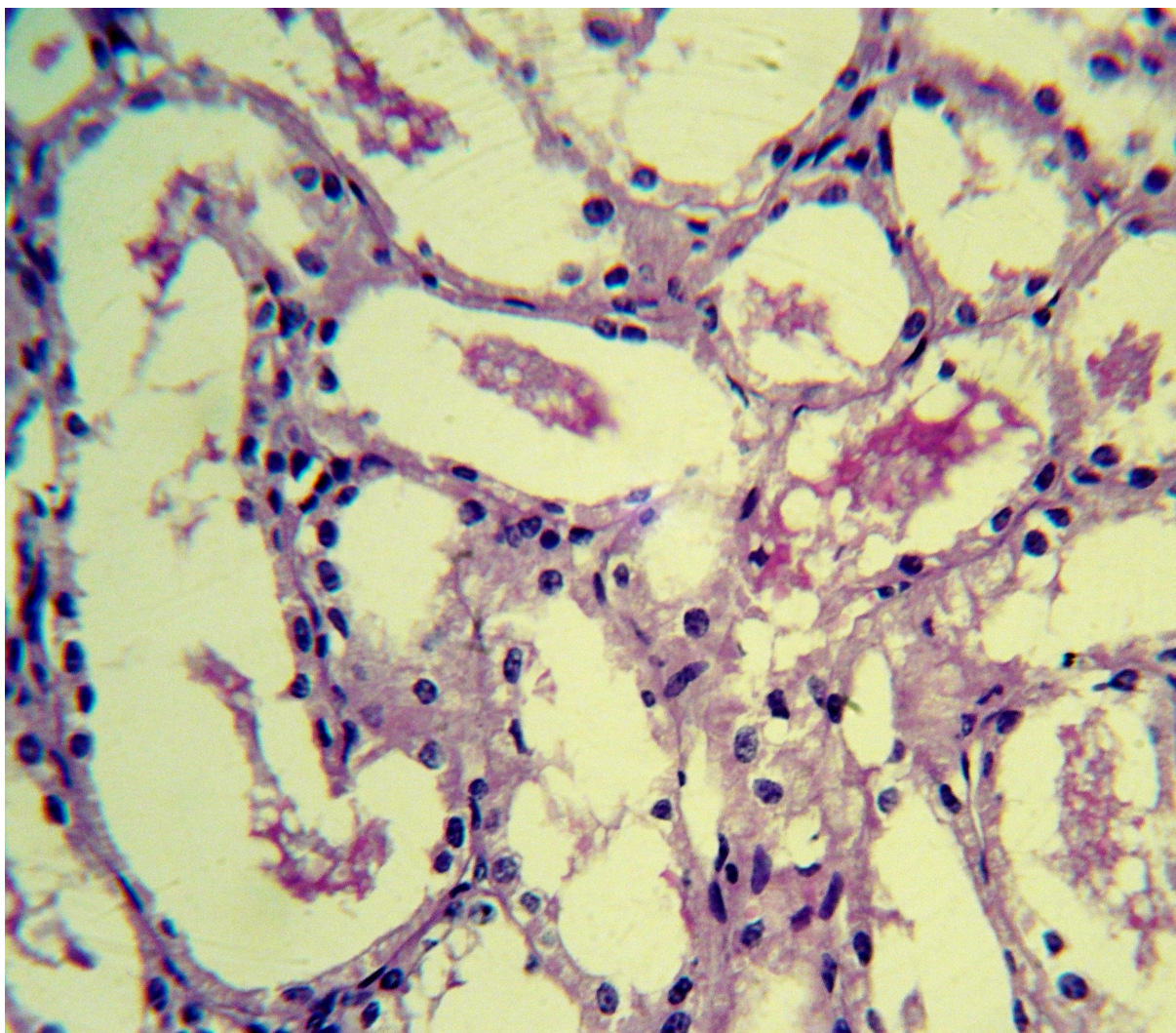


Foto 4. A. Riñón. Dilatación de túbulos colectores con material eosinófilo intraluminal. Los riñones presentaron congestión y edema en grado variable, dilatación de túbulos contorneados proximales, dilatación de la cápsula de Bowman con presencia de líquido eosinófilo dentro de túbulos colectores y proximales y degeneración hidrópica. En intestino se observó infiltración linfoplasmocitaria severa de mucosa y submucosa con edema. (Foto 5).

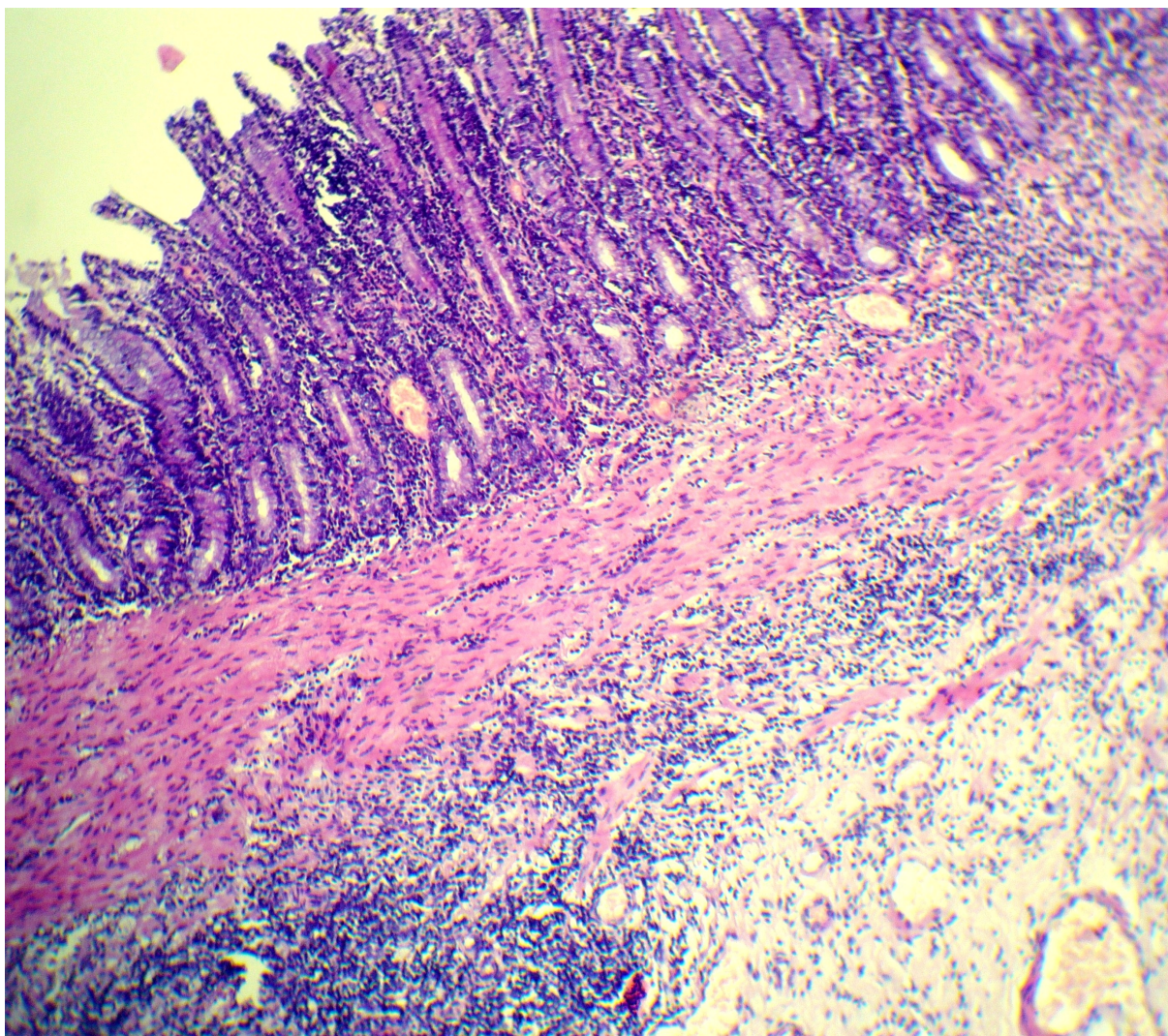


Foto 5: Intestino grueso. Colitis linfoplasmocítica Los análisis hematológicos mostraron inversión de la fórmula leucocitaria, elevados niveles de transaminasa glutámico oxalacética (GOT), aumento de la fosfatasa alcalina y de bilirrubina total e indirecta (Tabla 1).

HEMOGRAMA	Animal 1	Animal 2	Animal 3	Valor de referencia*
Hematies mill/mm ³	7,75	7,96	7,82	5a 10
Leucocitos/mm ³	8.400	7500	7300	4a10
Hematocrito	35%	36%	34%	24-46
Hemoglobina	11,70 g/dl	12 g/dl	12 g/dl	8 a 15
Neutrof.segment.	81%	61%	59%	15-45
Linfocitos	18%	28%	26%	45-75
Hepatograma				
Transaminasa G.O	375 UI/L	301 UI/L	324 UI/L	45-80
Fosfatasa Alcalina	178 UI/L	186 UI/L	183 UI/L	20-100
Bilirrubina Total	1,89 mg/dl	1,66 mg/dl	1,62 mg/dl	0,0-0,8
Bilirrubina directa	0,5 mg/dl	0,42 mg/dl	0,48 mg/dl	0,01-0,44
Bilirrubina Indirecta	1,39 mg/dl	1,24 mg/dl	1,33 mg/dl	0,03-0,20
Uremia	43 mg/dl	28 mg/dl	31 mg/dl	20-40

Tabla 1: Valores bioquímicos obtenidos en 3 animales con signología clínica*El Manual Merck de Veterinaria (6ª ed). Edit Oceano, 2009.

La búsqueda de micotoxinas en la ración resultó negativa, mientras que la medición de cobre (ppm) peso en seco en hígado fue de 208 ppm y en riñón: 99,7 ppm. (Valor de referencia Hígado 100 a 300 ppm- Riñón: 12 a19 ppm. Steffn, 1997).

Discusión

En total murieron 2/65 novillos y 11/145 vacas. Los datos bioquímicos y anatomopatológicos demostraron daño hepático. La signología clínica, y los hallazgos anatomopatológicos del sistema nervioso central fueron compatibles con un cuadro de encefalopatía hepática, siendo el edema cerebral y presentación de Astroцитos tipo II de Alzheimer las características de una encefalopatía de origen hepático (2, 3,8). El nivel de cobre renal hallado permite concluir que el cuadro presentado fue producido por acumulación crónica de cobre intrahepático, aún cuando los niveles hepáticos de cobre hallados son normales. En la necropsia la medición de cobre debe hacerse tanto de hígado como de riñón, ya que en muchos casos el cobre acumulado en niveles tóxicos en el hígado es liberado al torrente sanguíneo, quedando remanentes en dicho órgano en niveles no tóxicos, sin embargo el cobre liberado es acumulado en los riñones resultando con niveles marcadamente elevados en los mismos (12). La distribución del cobre dentro de la planta tiende generalmente a acumularse en sus órganos reproductivos; así la mayor concentración de cobre ha sido encontrada en el embrión de los granos de cereales (de 8 a 18 mg/kg materia seca) y en la cubierta de la semilla (de 8 a 23 mg/kg), debido a ello la disponibilidad de cobre es mayor en los cereales llegando a

un coeficiente de absorción 10 veces mayor (17). La intoxicación por cobre es esencialmente un problema en ganado en sistemas de explotación intensiva, porque su alimentación implica que la disponibilidad del cobre va a ser mayor (17). En el caso descrito el tipo de alimentación presuntamente aportó altos niveles de cobre, debido a una ración rica en granos con núcleo vitamínico mineral, más el efecto aditivo de los aportes adicionales de cobre puro inyectable, y de cobre incluidos en los inyectables minerales. La signología clínica fue predominantemente nerviosa resultando atípica respecto con las descritas en diagnósticos similares de casos naturales en bovinos, donde la muerte súbita fue la forma de presentación predominante en un caso (7) y en otro solo coincide la presentación de depresión progresiva en algunos animales (16). Sin embargo en una reproducción experimental con exceso crónico de cobre en bovinos y búfalos, y en otro caso natural en un rodeo lechero, se describen signos nerviosos de ataxia, incoordinación y apatía. (10, 11, 13), pero no aportan estudios histopatológicos del sistema nervioso central. Los mecanismos patofisiológicos responsables de la disfunción cerebral y muerte neuronal incluyen la toxicidad del amonio y los efectos neurotóxicos de metales tales como cobre, manganeso y hierro (3, 8, 19). La ictericia de las mucosas fue un hallazgo coincidente con los casos previamente descritos, aunque la hemoglobinuria presente en aquellos casos no se detectó presente en el presente caso, mientras que la ictericia generalizada y la hepatomegalia con aspecto de nuez moscada son coincidentes con otras descripciones (11, 16). La apariencia macroscópica de los riñones no es coincidente con otras descripciones, aunque en un caso atípico descrito por Minervino et al, 2008, con animales experimentales encuentran riñones sin nefrosis pigmentaria. La histopatología de hígado es similar a la descrita en casos anteriores e incluso experimentales (6, 11, 16) al igual que las lesiones observadas en riñón, aún sin haberse observado hemoglobinuria macroscópica. Los valores bioquímicos hallados demuestran daño funcional hepático coincidente con lo descrito en la literatura (7, 10, 16) y los elevados valores obtenidos de bilirrubina indirecta pueden estar indicando hemólisis elevada además de daño hepático. No se determinaron los niveles de cobre a los que fueron expuestos los animales problema, pero según datos experimentales, se concluye que puede ocurrir daño subclínico de hígado con riesgo de intoxicación por cobre, cuando los bovinos son continuamente expuestos a dosis orales iguales o mayores a 12 mg of Cu/kg de peso corporal (6, 15). No existen suficientes datos en la región noroeste argentina que demuestren la carencia de cobre directa o indirecta, que justifique la administración de cobre en forma indiscriminada. Por el contrario debería establecerse el cobre ambiental u otros minerales que intervengan en la cantidad de cobre disponible (agua, suelo y pasturas).

Agradecimientos

Al Dr Francisco A. Uzal, del California Animal Health and Food Safety Lab, University of California, Davis, por su permanente colaboración y correcciones al presente trabajo, y al Dr Guillermo Mattioli de la Universidad Nacional de la Plata por la lectura crítica y aportes técnicos al mismo.

Bibliografía

- 1- Bradley, C.H., 1993. Copper poisoning in a dairy herd fed a mineral supplement Can Vet J. 1993 May; 34(5):287-92.
- 2- Butterworth, Roger F. Hepatic Encephalopathy, Alcohol Research & Health, Vol. 27, No. 3, 2003, pp 240-46
- 3- Butterworth, RF. 2010. Metal toxicity, liver disease and neurodegeneration. Neurotox Research, Jul;18(1)100-5. Epub 2010. Apr 6
- 4-Di Paolo, L. A; Ancinas, M. D.; Travería, G. E. y Romero, J. R. Crisis hemolítica aguda en ovinos, asociada al consumo crónico de cobre: descripción de un caso. 2008. Vet. Arg., 25(244):251-257
- 5- Fuentealba, I C and Aburto, E M. Comparative Hepatology. Review Animal models of copper-associated liver disease. *Comparative Hepatology* 2003, 2. <http://www.comparative-hepatology.com/content/2/1/5>
- 6- Gummow B.N Z. Vet J. 2014 May; 62(3):167-70. doi: 10.1080/00480169.2013.862150. Epub 2013 Dec 17.
- 7- Johnston et al.2014. Copper toxicity in a New Zealand dairy herd. Irish Veterinary Journal 67:20.
- 8- Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals (Fifth Edition). 2006. *Edited by: M. Grant Maxie* ISBN: 978-0-7020-2823-6
- 9- Marin, RE. Crisis hemolítica aguda en ovinos por acumulación crónica de cobre en el altiplano de Jujuy. Veterinaria Argentina. Septiembre de 2013, Volumen XXX N° 305. <http://www.veterinariargentina.com/revista/2013/09/crisis-hemolitica-aguda-en-ovinos-por-acumulacion-cronica-de-cobre-en-el-altiplano-de-jujuy/>
- 10- Minervino, A.H.H.; Barreto Junior, R.A. Queiroz, G.F ; Headley, S.A.; Ortolani, E.L. Predictive values of aspartate aminotransferase and gamma-glutamyl transferase for the hepatic accumulation of copper in cattle and buffalo. J Vet Diagn Invest 20:791-795 (2008)
- 11- Minervino, A.H. H; Barrêto Júnior, R.A. Ferreira, R.N.F., Rodrigues, F.A.M.L., Headley, S.A, Mori, C.S, Ortolani, E.L) Using sodium molybdate to treat chronic copper toxicity in dairy cows: A practical approach N Z Vet J. 2014 May;62(3):167-70. Epub 2013 Dec 17.
- 12- Moeller, R.B. Chapter 22. Cobre. in Clinical Veterinary Toxicology by Konnie Plumlee, 2004. Canadian Veterinary Journal 34, 287-292
- 13- Morgan P, Grace N, Lilley D. Using sodium molybdate to treat chronic copper

- toxicity in dairy cows: A practical approach N.Z.Vet.J. 2014 May; 62(3):167-70. doi: 10.1080/00480169.2013.862150. Epub 2013 Dec 17.
- 14- Nederbragt , H.. van den Ingh T. S. G. A. M and Wensvoort P. (1984) Pathobiology of copper toxicity. Veterinary Quarterly, 6:4, 179-235, <http://dx.doi.org/10.1080/01652176.1984.9693935>
- 15- Onderstepoort J. Vet Res. 1996 Dec; 63(4):277-88. Experimentally induced chronic copper toxicity in cattle.
- 16- Perrin, David J; Schiefer, H. Bruno; Blakley, Barry R. 1990. Chronic copper toxicity in a dairy herd. Can Vet J Volume 31, September
- 17 -Prieto Montaña, F. 2008. Acumulación crónica de cobre en rumiantes. Conferencia. Real Academia de Ciencias Veterinarias de España. <http://www.racve.es/actividades/detalle/id/418>
- 18- Piper HG; Higgins G, 1967. Estimation of trace metals in biological material by atomic spectrophotometry. Proc. Assoc. Clin. Biochem. 7:190-195
- 19- Roger F. Butterworth, Hepatic Encephalopathy, Alcohol Research & Health, Vol. 27, No. 3, 2003, pp 240-46
- 20- Rosa D.E y Mattioli G.A. Metabolismo y deficiencia de cobre en los bovinos. 2002 Analecta Veterinaria 2002; 22, 1: 7-16.
-