

AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DA ENZIMA PARAOXONASE (PON-1) EM EQUINOS HÍGIDOS SUBMETIDOS A ADMINISTRAÇÃO INTRAMUSCULAR DE DIFERENTES ADJUVANTES

**INARAÃ DIAS DA LUZ¹; LUCIANA DE ARAUJO BORBA²; JOAO ALVEIRO
ALVARADO RINCÓN²; ALICE CORREA SANTOS²; TATIANE LEITE ALMEIDA²;
BRUNA DA ROSA CURCIO³**

¹Universidade Federal de Pelotas – inadiasmedvet@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – luaraujo_sm@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – curciobruna@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A pesquisa de marcadores precoces de inflamação têm sido o foco na medicina humana e veterinária durante as últimas décadas. Com isso, estudos tem se concentrado na identificação bioquímica de proteínas de fase aguda (PFA) como marcadores para o grau de inflamação e tempo de evolução.

As proteínas de fase aguda compreendem um grande grupo de proteínas que se reduzem (PFA negativas) ou se elevam (PFAs positivas) rapidamente em resposta à infecções ou lesões teciduais, e os níveis geralmente refletem o grau e extensão do processo inflamatório e infeccioso (CHAVATTE, et al., 1992).

A paraoxonase-1 (PON-1) é um composto anti-oxidante considerado como proteína de fase aguda negativa em animais (ROSSI et al., 2013) e humanos (NOVAK et al., 2010) que, conforme a descrição de COSTA, et al. (2005) é sintetizada no fígado e transportada no plasma através da associação com a lipoproteína de alta densidade (HDL) (RUGGERONE et al., 2018).

Em bovinos, a PON-1 é caracterizada como uma PFA negativa, reduzindo seus níveis em resposta às citocinas liberadas no processo inflamatório (BIONAZ et al., 2007), podendo ser utilizada para auxiliar na detecção precoce de doenças (KRAUSE, 2014). Em humanos, a PON-1 é responsável por inibir a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) e também de fosfolípidos no HDL (COSTA et al., 2003), desempenhando um papel fundamental na capacidade do HDL para proteger o LDL, células e lipídeos de danos oxidativos e peroxidativos (DRAGANOV, 2000).

Entretanto, a quantificação das PFAs em equinos e sua utilidade como marcadores precoces de processos inflamatórios não está completamente elucidada (RUGGERONE et al., 2018).

O presente estudo teve como objetivo avaliar o comportamento da enzima PON-1 em equinos submetidos a estímulo de resposta inflamatória aguda local através da administração de adjuvantes vacinais conhecidos.

2. METODOLOGIA

Foram utilizados no estudo 12 equinos do plantel do Centro de Ensino e Experimentação em Equinocultura da Palma (CEEP), da Universidade Federal de Pelotas, no município de Capão do Leão/RS. Esses equinos foram submetidos a avaliação clínica e considerados saudáveis antes do início do experimento, com idades entre 2 e 4 anos. O procedimento foi realizado com aprovação do Comitê

de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal de Pelotas, sob o número 4750.

Para avaliar a cinética da PON-1 em resposta a processo inflamatório local agudo, os animais foram divididos em 3 grupos: 1) Grupo controle, sem administração de adjuvantes; 2) Grupo xantana (Xa) e 3) Grupo hidróxido de alumínio (HA).

No grupo Xa administrou-se 2 mL de Xantana a 0,4%, e no grupo HA administrou-se 2 mL de Hidróxido de Alumínio a 10%, ambos por via intramuscular na região do músculo peitoral.

Após inoculação dos adjuvantes, procedeu-se com coletas de sangue seriadas em diferentes momentos, sendo eles: Momento 0 (anterior a administração dos adjuvantes), 1h, 2h, 3h, 4h, 5h, 6h, 8h, 10h, 12h, 24h, 48h e 72h após a administração dos adjuvantes. Além das coletas de soro foi realizada avaliação clínica individual do local de aplicação dos adjuvantes para identificação da resposta inflamatória no local.

As coletas de sangue ocorreram por venopunção da jugular em tubo vacuttainer com ativador de coágulo, com antisepsia prévia do local. Após separou-se o soro e acondicionou-se em dois microtubos mantidos a -20°C para subsequente análise.

A quantificação da PON-1 sérica foi realizada pela técnica descrita anteriormente por CAMPOS et al. (2017) no Laboratório de Metabologia e Nutrigenômica da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas e a leitura da PON-1 foi realizada por espectrofotometria.

Para análise estatística dos resultados foi realizada análise de variância por medidas repetidas e comparação entre as médias pelo teste de Tukey. Foi utilizado o programa Statistix® e significância em nível de 5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação clínica dos animais foi observado o estabelecimento de resposta inflamatória localizada, uma vez que todos animais dos grupos Xa e HA apresentaram edema e aumento de temperatura no local da aplicação dos adjuvantes.

Os resultados referentes à atividade da enzima paraoxanase-1 não apresentaram diferença ($p > 0,05$), conforme apresentado na Figura 1.

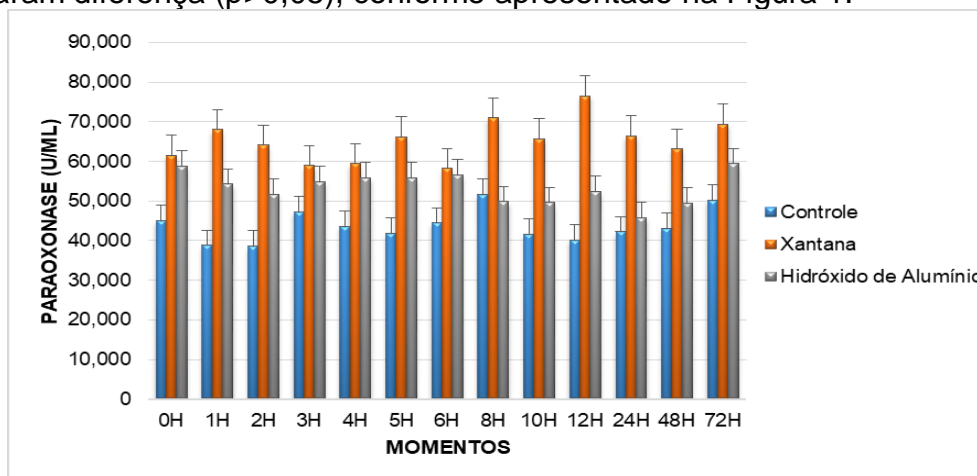


Figura 1. Média e desvio padrão das concentrações plasmáticas de PON-1 nos grupos: Controle, Xantana e Hidróxido de alumínio. Pela análise de variância por medidas repetidas em comparação pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A atividade da enzima paraoxanase-1 não apresentou diminuição nas concentrações séricas. Sendo assim, sugere-se que os valores referentes à atividade da PON-1 não fornecem informações consistentes para determinar o estabelecimento de processos inflamatórios locais em equinos.

Em estudo recente, RUGGERONE et al. (2018) afirma que a atividade desta enzima é menor em equinos do que nas demais espécies domésticas em vista de possíveis alterações no metabolismo hepático e lipídico, os quais interferem diretamente na síntese e atividade da PON-1.

O fígado consiste no principal órgão responsável pela síntese da PON-1 e de colesterol, logo alterações neste órgão que cursem com processos inflamatórios e infecciosos podem acarretar em diminuição das concentrações séricas destes. Cabe ressaltar que a atividade sérica da paraoxanase é associada com lipoproteínas de alta densidade e, portanto, sua expressão está diretamente relacionada aos níveis de colesterol plasmático.

SAHAL et al. (2004) ao desenvolver pesquisa com equinos soroprodutores, observou que, em animais hígidos, os parâmetros plasmáticos de colesterol aumentaram. No entanto, alguns animais que desenvolveram hepatite, apresentaram redução dos níveis de colesterol. Dessa forma, diante da dependência da associação da enzima com o colesterol, sugere-se que a mesma tenha reduzido proporcionalmente.

Tendo em vista práticas como a produção de soros hiperimunes em animais hígidos, estas demonstraram influenciar indiretamente na atividade da enzima, a qual segundo RUGGERONE et al., (2108) possui propriedades antioxidantes no sangue bem como a redução da produção de mediadores pró-inflamatórios.

Em virtude disso, apesar da PON-1 não se concretizar como um marcador de confiabilidade no processo inflamatório locais de animais adultos, sugere-se que sua variação pode servir como indicador de processos sistêmicos mais graves, assim como hepatopatias e lesões teciduais extensas.

4. CONCLUSÕES

Pode-se concluir que a atividade da PON-1 não apresentou variação relacionada a presença de processos inflamatórios agudos em equinos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BIONAZ, M.; TREVISI, E.; CALAMARI, L. et al. Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. **J Dairy Sci.** v.90, p. 1740–1750, 2007.

CAMPOS, F.T.; RINCON, J.A.A.; ACOSTA, D.A.V.; SILVEIRA, P.A.S.; PRADIEÉ, J.; CORREA, M.N.; GASPERIN, B.G.; PFEIFER, L.F.M.; BARROS, C.C.; PEGORARO, L.M.C.; SCHNEIDER, A. The acute effect of intravenous lipopolysaccharide injection on serum and intrafollicular HDL components and gene expression in granulosa cells of the bovine dominant follicle. **Theriogenology**, v. 89, p. 244-249, 2017.

CHAVATTE, P.M.; PEPYS, M.B.; ROBERTS, B.; OUSEY, J.C.; MCGLADDERY, A.J.; ROSSDALE, P.D. Measurement of serum amyloid A protein as an aid to differential diagnosis of infection in newborn foals. **Equine Infectious Diseases** VI. p.33-38, 1992.

DRAGANOV, D.I.; WATSON, C.E.; BILLECKE, S.S.; LA DU, B.N. Rabbit serum paraoxonase 3 (PON3) is a high density lipoprotein-associated lactonase and protects low density lipoprotein against oxidation. **The Journal Biological Chemistry**, v.43, p.33435–33442, 2000.

KRAUSE, A. R. T.; PFEIFER, L. F. M.; MONTAGNER, P.; WESCHENFELDER, M. M.; SCHWEGLER, E.; LIMA, M. E.; XAVIER, E. G; BRAUNER, C. C.; SCHMITT, E.; DEL PINO, F. A. B.; MARTINS, C. F.; CORRÊA, M. N.; SCHNEIDER, A. Associations between resumption of postpartum ovarian activity, uterine health and concentrations of metabolites and acute phase proteins during the transition period in Holstein cows. **Animal Reproduction Science**, 2014.

NOVAK, F.; VAVROVA, L.; KODYDKOVA, J. et al. Decreased paraoxonase activity in critically ill patients with sepsis. **Clin Exp Med**, v.10, p. 21–25, 2010.

ROSSI, G.; GIORDANO, A.; PEZZIA, F.; KJELGAARD-HANSEN, M.; PALTRINIERI, S. Serum paraoxonase 1 activity in dogs: preanalytical and analytical factors and correlation with C-reactive protein and alpha-2-globulin. **Vet Clin Pathol**, v. 42, p. 329–341, 2013.

RUGGERONE, B.; BONELLI, F.; GIORDANO, A.; NOCERA, I.; PALTRINIERI, S.; SGORBINI, M. Validation of a Paraoxon-based method for measurement of Paraoxonase (PON-1) Activity and establishment of RI in horses. **International Journal of Health & Animal Science Food Safety**, Veterinary Clinical Pathology, v. 47, p. 69-77, 2018.

SAHAL, M.; ALTINTAS, A.; ARSLAN, H. H.; URAL,K.; AKSOY, E. Serum hepatitis associated with administration of tetanus toxin in serum producing horses and therapy. **Revue Médecine Vétérinaire**, v. 155, n.10, p. 476-482, 2004.