



## PERFIL INFLAMATÓRIO E OXIDATIVO DE CÃES ALIMENTADOS COM DIETAS SUPLEMENTADAS COM ÁCIDO DOCOSAHEXAENÓICO (DHA)

JAQUELINE S. HÖRÜGEL<sup>1</sup>, SUELLEN SCHEIBEL<sup>1</sup>, ANA L. MÉDICE<sup>2</sup>,  
ILAN M. AYER<sup>2</sup>, PAULA ADRIANA GRANDE<sup>1</sup>, CARLOS A. L. OLIVEIRA<sup>1</sup>,  
RICARDO S. VASCONCELLOS<sup>1</sup>. E-mail orientador:

[Ricardo.souza.vasconcellos@gmail.com](mailto:Ricardo.souza.vasconcellos@gmail.com)

<sup>1</sup>Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá (DZO/UEM); <sup>2</sup>Departamento de Medicina Veterinária, UNICESUMAR/Maringá/PR

5.04.00.00-2 Zootecnia

5.04.03.02-8 Avaliação de Alimentos para Animais

Palavras-chave: ácidos graxos essenciais; algas; resposta inflamatória.

### Resumo

Avaliou-se os efeitos da suplementação de um ingrediente fonte de ácido docosahexaenóico (DHA), em dietas para cães, sobre indicadores do estado inflamatório e oxidativo em cães machos submetidos à castração. Treze cães machos receberam por 60 dias um alimento Controle (n=5), ou este mesmo alimento adicionado de 0,11% de DHA (n=8). No dia 60 os animais foram submetidos à orquiectomia. Foram determinadas as concentrações séricas de indicadores da inflamação (proteínas de fase aguda e prostaglandina E<sub>2</sub>) e do estado oxidativo (TBARS, Alfa-tocoferol e tióis totais), nos dias 0, 60 (pré-operatório) e 61 (pós-operatório). Exceto o alfa-tocoferol, que se manteve inalterado, todos os demais indicadores sofreram modificação 24h após o procedimento cirúrgico. Houve efeito da adição do DHA sobre os níveis séricos de PGE<sub>2</sub>, os quais foram mais elevados no grupo Controle. Os resultados indicam que o protocolo foi eficiente na indução da inflamação e que a suplementação de DHA modula a produção de PGE<sub>2</sub> em cães, porém, estudos de dose-resposta são necessários na avaliação das propriedades imunomoduladoras do DHA.

### Introdução

O ácido araquidônico (AA,  $\Omega$ -6), proveniente da conversão dos membros menos insaturados da série  $\Omega$ -6 juntamente com o ácido docosahexaenóico



(DHA,  $\Omega$ -3), são os maiores constituintes de membrana e precursores de eicosanoides, substâncias produzidas por células do sistema imunológico que regulam a intensidade da resposta inflamatória, a agregação plaquetária e constrição ou dilatação dos vasos sanguíneos. No entanto, a concentração de AA é sempre maior em relação aos demais ácidos graxos. Sendo assim, o AA está sempre em maior disponibilidade como precursor para a biossíntese dos eicosanoides (Calder, 2006).

A concentração dos ômega 6 e ômega 3 nas membranas celulares pode ser modulada pela dieta e, via de regra geral, isto é importante para modular a resposta inflamatória, uma vez que ácidos graxos da série  $\Omega$ -6, tais como o AA são precursores de eicosanoides com ação inflamatória mais intensa (prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos das séries 2 e 4), ao passo que os ácidos graxos da série  $\Omega$ -3 são precursores de eicosanoides com ação menos inflamatória (prostaglandinas, leucotrienos e tromboxanos das séries 3 e 5). Desta forma, a resposta inflamatória pode ser modulada, pela concentração e perfil de  $\Omega$ -6 e  $\Omega$ -3 da dieta (Nesbitt et al., 2003).

Existe uma relação estreita entre inflamação e peroxidação lipídica e acredita-se que nutrientes com propriedades menos inflamatórias, como os da família  $\Omega$ -3, dentre eles o DHA, possam minimizar os efeitos do estresse oxidativo do organismo (WALTERS et al., 2010). Neste trabalho avaliou-se indicadores do status inflamatório e antioxidante de cães submetidos à orquiectomia, recebendo dietas com um produto comercial fonte de DHA.

## **Materiais e Métodos**

Treze cães machos de proprietários, com idades entre um e cinco anos, com  $15,5 \pm 2,7$  kg. Os animais foram distribuídos em dois grupos: CON (controle,  $n=5$ ), que receberam alimento contendo apenas gordura de aves (fonte de ácidos graxos da série  $\Omega$ -6); DHA (grupo tratado,  $n=8$ ), onde 0,4% da gordura de aves foi substituída por um produto comercial com 27% de DHA, visando obter uma concentração final de DHA na ração de 0,11%. Sangue foi coletado nos momentos inicial (dia 0), 60 dias (pré-operatório) e 61 dias (pós-operatório imediato, 24h) e o soro separado e congelado para análises. Como indicadores da inflamação quantificaram-se as proteínas de fase aguda (haptoglobina, transferrina,  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida e  $\alpha_1$ -antitripsina), por eletroforese em gel de poliacrilamida e a  $PGE_2$ , por ELISA. Como indicadores do estado oxidativo, quantificaram-se substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e tióis totais, por colorimetria, e alfa-tocoferol, por HPLC. O delineamento foi inteiramente casualizado, em um esquema às cegas. Os dados foram submetidos à Análise de Variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.



## Resultados e Discussão

Mesmo encontrando dificuldades em realizar o experimento por se tratar de animais de proprietários, os quais se tem pouco controle dos erros experimentais (consumo, ambiente, manejo, entre outros), foram encontrados resultados que demonstraram efetividade do protocolo empregado.

O grupo CON apresentou maior variação percentual na resposta das proteínas de fase aguda quando comparado ao DHA, para as seguintes proteínas, comparando-se os momentos pré vs. pós-operatório: transferrina (CON: -32,7% vs. DHA: -8,05%); haptoglobina (CON: 73,3% vs. DHA: 11,3%);  $\alpha$ -1 glicoproteína ácida (CON: 60,8% vs. DHA: 47,1%). As modificações nestas proteínas são diretamente proporcionais à intensidade do processo (GABAY & KUSHNER, 1999). A albumina não sofreu nenhuma modificação, possivelmente devido ao curto espaço de tempo decorrido entre o procedimento cirúrgico e sua dosagem no soro dos cães 24h após, havendo a necessidade de outras coletas no período pós-operatório, uma vez que a sua meia vida plasmática é de aproximadamente 8 dias. A ceruloplasmina também não se modificou durante o estudo entre os períodos de avaliação e entre os tratamentos, embora fosse esperado um aumento nas suas concentrações, por se tratar de uma proteína que modifica suas concentrações rapidamente após um estímulo inflamatório.

No pós-operatório, verificou-se elevação da  $PGE_2$  em ambos os grupos, porém em maiores concentrações no CON em relação ao DHA. Este eicosanoide é o principal derivado do ácido araquidônico, ácido graxo que induz a formação de citocinas mais inflamatórias, quando comparados aos derivados da série n-3, como o DHA e EPA. O TBARS elevou-se no pós-operatório apenas no grupo CON, enquanto permaneceu inalterado no grupo DHA. Os tióis totais elevaram-se significativamente no CON após a cirurgia, mas mantiveram-se no DHA. É possível que a elevação dos tióis totais no CON tenha ocorrido em resposta a elevação também nas concentrações de citocinas inflamatórias uma vez que são moduladores da produção de citocinas no organismo (COPPO & GHEZZI, 2011). No entanto, não é possível concluir, uma vez que uma exploração mais ampla dos status antioxidante não foi realizada.



Tabela 1 – Indicadores inflamatórios e de oxidação séricos de cães, recebendo as dietas experimentais.

	Pré-operatório		Pós-operatório		Geral	
	CON	DHA	CON	DHA	CON	DHA
Transferrina	3,58 <sup>A</sup>	3,35 <sup>A</sup>	2,41 <sup>B</sup>	3,08 <sup>B</sup>	2,995	3,215
Glico-A	2,187 <sup>B</sup>	2,038 <sup>B</sup>	3,517 <sup>A</sup>	2,999 <sup>A</sup>	2,852	2,518
Haptoglobina	0,184 <sup>B</sup>	0,203 <sup>B</sup>	0,319 <sup>A</sup>	0,263 <sup>A</sup>	0,251	0,233
PGE <sub>2</sub>	252 <sup>B</sup>	209 <sup>B</sup>	1281 <sup>Aa</sup>	1113 <sup>Ab</sup>	641	661
TBARS	0,034 <sup>B</sup>	0,039	0,047 <sup>A</sup>	0,039	0,040	0,039
Tióis Totais	333,9 <sup>B</sup>	252,3	457,7 <sup>A</sup>	257,6	395,8	254,9
Alfa-Tocoferol	27,07	21,16	27,90	25,08	27,4	23,1

Glico-A -  $\alpha$ -1 glicoproteína ácida; PGE<sub>2</sub> – prostaglandina E<sub>2</sub>; TBARS – substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.

<sup>aAbB</sup> médias seguidas por pelo menos uma letra igual minúscula ou maiúscula (linha), indicam semelhança estatística entre tratamentos ou períodos, respectivamente.

## Conclusões

A suplementação de DHA modula a produção de PGE<sub>2</sub> em cães, porém, estudos de dose-resposta são necessários na avaliação das propriedades imunomoduladoras do DHA.

## Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão de bolsa de iniciação científica de um dos participantes do projeto; Á Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda pelo suporte financeiro parcial da pesquisa e à empresa Brazilian Petfoods Ltda, pelo fornecimento dos alimentos do projeto

## Referências Bibliográficas

- COPPO L.; GHEZZI P. Thiol regulation of pro-inflammatory cytokines and innate immunity. *Biochemical Society Transactions*, v.39, n.5, p.1268-1272, 2011.
- GABAY, C.; KUSHNER, I. Acute-Phase Proteins and Other Systemic Responses to Inflammation. *New England Journal of Medicine*, v.340, 448-455, 1999.
- NESBITT, GH; FREEMAN, LM; HANNAH, SS. Effect of n-3 fatty acid ratio and dose on clinical manifestations, plasma fatty acids and inflammatory mediators in dogs with pruritus. *Veterinary Dermatology*, v.14, 67-74, 2003.
- WALTERS, J. M. et. al. Polyunsaturated Fatty Acid Dietary Supplementation Induces Lipid Peroxidation in Normal Dogs. *Veterinary Medicine International*, 2010.