

## ESTADO OXIDATIVO DE LEITÕES EM FASE INICIAL COM ARTRITE INDUZIDA POR ADJUVANTE NA FASE DE LACTAÇÃO

Gabriel Amaral de Araujo (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Leandro Dalcin Castilha (Orientador), Leonardo Filipe Malavazi Ferreira, Gustavo Henrique de Araújo  
e-mail: gabriel.araujo1931@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Agrárias/Maringá, PR.

**Área e subárea do conhecimento: Ciências Agrárias, Zootecnia**  
**Palavras-chave:** defesa antioxidante, estresse oxidativo, inflamação

### Resumo:

O objetivo deste trabalho foi avaliar o estado oxidativo de leitões em fase pós-desmame como parâmetro de manifestação de artrite em leitões submetidos à indução por adjuvante na fase de lactação. Foram utilizadas 32 fêmeas suínas com idade inicial de 7 dias e peso médio inicial de  $1,76 \pm 0,28$  kg. Metade desses animais foram submetidos à indução de artrite (7, 14 e 21 dias) na articulação tarso-falange do membro posterior direito através da injeção intradérmica de 0,1 mL de adjuvante completo de FREUND (*Mycobacterium tuberculosis derivado da cepa humana H37Rv e inativas por calor, suspensas em óleo mineral 0,5% (w/v)*). Um grupo controle de animais foi submetido ao mesmo manejo com soro fisiológico (0,9%). Os animais foram desmamados aos 21 dias de idade com peso médio de  $6,71 \pm 1,40$  kg, e então alojados na creche com piso vazado de polipropileno suspenso, dotado de comedouros semiautomáticos e de bebedouros tipo chupeta. Aos 15 dias após o desmame, foram colhidas amostras de sangue na veia jugular e transferidas para um tubo contendo EDTA, sendo posteriormente centrifugadas a 3.000 rpm, por 15 minutos, para obtenção do plasma, onde foram determinados os parâmetros de estado oxidativo: glutatona reduzida (GSH), capacidade antioxidante total (TAC), tióis, proteínas carboniladas, albuminas, globulinas e a relação albumina:globulina. Todas as variáveis apresentaram diferença ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos. Conclui-se que o protocolo de indução de artrite na fase de lactação foi eficiente para a manifestação da doença na fase pós-desmame.

### Introdução

A artrite é uma doença que acomete suínos, causando perdas econômicas como atraso no crescimento dos animais, descarte precoce de reprodutores, gastos com medicamentos, condenação parcial de carcaças e mesmo a morte precoce dos animais (Graciano et al., 2014). A artrite infecciosa leva a uma resposta imunológica de produção de citocinas pró-inflamatórias.

Citocinas essas que são produzidas pelos neutrófilos e são ativadas por macrófagos a secretarem espécies reativas de oxigênio (ERO) (Comar et al., 2013). Esses radicais livres atuam sobre diversos tipos de moléculas, gerando um processo denominado “estresse oxidativo”. As ERO são encontradas em todos os tipos de sistemas biológicos, onde durante o metabolismo do O<sub>2</sub> a molécula irá sofrer redução, resultando na formação de H<sub>2</sub>O, porém, também ocorrendo a formação de intermediários reativos, como superóxido hidroperoxila (HO<sub>2</sub>), hidroxila (OH<sup>-</sup>) e peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Ferreira e Matsubara, 1997). O objetivo deste trabalho foi avaliar o estado oxidativo de leitões em fase pós-desmame como parâmetro de manifestação de artrite em leitões submetidos à indução por adjuvante na fase de lactação.

## Materiais e métodos

O experimento foi realizado no Setor de Suinocultura da Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), pertencente ao Centro de Ciências Agrárias de Universidade Estadual de Maringá (CCA/UEM). Todos os procedimentos foram previamente submetidos à apreciação do Comitê de Condução e Ética no Uso de Animais em Experimentação (CEUA/UEM), tendo sido aprovados para execução (Parecer nº2086220217). Foram utilizadas 32 fêmeas suínas em fase de lactação, com idade inicial de 7 dias e peso médio inicial de 1,76 ± 0,28 kg. Metade desses animais (n=16) foram submetidos à indução de artrite, na articulação tarso-falange do membro posterior direito, através de injeção intradérmica de 0,1 mL de adjuvante completo de FREUND (*Mycobacterium tuberculosis* derivadas da cepa humana H37Rv e inativadas pelo calor, suspensas em óleo mineral 0,5% (w/v)), aos 7, 14 e 21 dias de idade. Um grupo controle de animais foi submetido ao mesmo manejo, com injeção de soro fisiológico (0,9%). Os animais foram desmamados aos 21 dias de idade, com peso médio de 6,71 ± 1,40 kg, alojados na creche com piso vazado de polipropileno suspenso, dotado de comedouros semiautomáticos e de bebedouros do tipo chupeta. Aos 15 dias após o desmame, os animais foram submetidos à coleta de sangue pela veia jugular e as amostras foram transferidas para tubos contendo EDTA, e centrifugadas posteriormente a 3.000 rpm, por 15 minutos, para separação do soro e do plasma. No plasma foram determinados os seguintes parâmetros do estado oxidativo: glutatona reduzida (GSH), capacidade antioxidante total (TAC), tíóis, proteínas carboniladas, proteínas totais, albuminas, globulinas e relação globulina:albumina. Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Metabolismo Hepático da UEM. O procedimento UNIVARIATE foi aplicado para avaliar a presença de *outliers* entre as variáveis obtidas. A análise de variância (ANOVA) foi realizada por meio do procedimento “*General Linear Models*” (GLM) do software estatístico SAS (2010). Foi aplicado o Teste F sobre as médias obtidas para os protocolos de indução de artrite. Para todas análises, foi adotado o nível de significância (P) de 0,05.

## Resultados e Discussão

De modo geral, todas as variáveis do protocolo positivo apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) quando comparadas ao protocolo controle (Tabela 1).

**Tabela 1** - Variáveis do estado oxidativo no plasma de fêmeas suínas em fase inicial, com artrite induzida por adjuvante na fase de lactação.

Variáveis ( $\pm DP^1$ ) <sup>2</sup>	Protocolo Positivo <sup>3</sup> (n=16)	Protocolo Controle <sup>4</sup> (n=12)	EPM <sup>5</sup>	P-valor
GSH (nmol.mg <sup>-1</sup> )	11,82 $\pm$ 1,13 <sup>b</sup>	15,48 $\pm$ 1,23 <sup>a</sup>	0,222	<0,001
TAC (mmol equivalente TROLOX.mg proteína <sup>-1</sup> )	9,96 $\pm$ 0,52 <sup>b</sup>	11,64 $\pm$ 1,00 <sup>a</sup>	0,143	<0,001
Tióis (nmol.mg proteína <sup>-1</sup> )	322,89 $\pm$ 48,17 <sup>b</sup>	489,66 $\pm$ 92,15 <sup>a</sup>	13,271	<0,001
Proteínas Carboniladas (nmol.mg proteína <sup>-1</sup> )	6,24 $\pm$ 0,57 <sup>a</sup>	5,43 $\pm$ 0,58 <sup>b</sup>	0,108	0,001
Proteínas Totais (mg.mL <sup>-1</sup> )	45,08 $\pm$ 1,51 <sup>b</sup>	47,25 $\pm$ 2,09 <sup>a</sup>	0,336	0,004
Albumina (mg.mL <sup>-1</sup> )	23,29 $\pm$ 2,11 <sup>b</sup>	28,35 $\pm$ 2,63 <sup>a</sup>	0,444	<0,001
Globulina (mg.mL <sup>-1</sup> )	21,79 $\pm$ 1,99 <sup>a</sup>	18,90 $\pm$ 2,91 <sup>b</sup>	0,458	0,005
Albumina:Globulina	1,09 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>	1,55 $\pm$ 0,31 <sup>a</sup>	0,045	<0,001

1 – Desvio-padrão.

2 – Médias seguidas por letras distintas, na linha, diferem entre si pelo teste F.

3 – Aplicação subcutânea de adjuvante completo de FREUND® na articulação tarso-falange direita, aos 7, 14 e 21 dias de idade (0,300 mL/animal).

4 – Aplicação subcutânea de Soro Fisiológico (0,9%) na articulação tarso-falange direita, aos 7, 14 e 21 dias de idade (0,300 mL/animal).

5 – Erro padrão da média).

A concentração de GSH foi menor no protocolo positivo, possivelmente devido ao fato de que a defesa antioxidante foi acionada frente a um possível aumento de ERO no organismo. De modo semelhante, Mateen et al. (2016) também observaram a redução na concentração plasmática de GSH em humanos com artrite reumatoide, constatando que o estresse oxidativo decorrente da inflamação foi responsável pela ativação do sistema de defesa antioxidante, levando ao consumo da GSH. Quanto à TAC, o protocolo positivo teve um valor baixo em comparação ao controle, provavelmente por indicar a capacidade antioxidante total de uma amostra, ou seja, a soma de diversas moléculas com função antioxidante. Resultados similares foram obtidos por Gonçalves et al. (2017). A medida de avaliação das proteínas tíois leva em consideração os compostos como homocisteína, cisteína, cisteilglicina e gluationa. Nesse sentido, Gonçalves et al. (2017) obtiveram resultado semelhante para diminuição de grupos tíois, e atribuíram esse resultado ao fato de animais submetidos à indução de artrite terem ERO elevadas, e possível oxidação de grupos tíois de proteínas. Animais do protocolo positivo apresentaram elevação na concentração de proteínas carboniladas. Gonçalves et al. (2017) também encontraram valores

superiores dessa mesma variável para ratos com artrite induzida por adjuvante, atribuindo esse efeito à carbonilação de proteínas quando há excesso de ERO circulante, consequência da inflamação ocorrida. Quanto às proteínas totais, o valor baixo do protocolo positivo em comparação ao protocolo controle pode ser explicado pelo fato de que as ERO oxidam diversos tipos de macromoléculas, e a proteína está inclusa, desse modo, proteínas também podem ser oxidadas, levando a menores concentrações de proteínas totais. Quanto à relação albumina:globulina, foi notado também uma diferença significativa entre protocolos. Animais do grupo positivo apresentaram menor relação albumina:globulina, uma vez que os níveis de albumina foram menores e de globulina maiores, em comparação ao controle. Pelo fato da albumina possuir cisteína em sua composição, que também é um grupo tiol, a oxidação desse composto pode ter reduzido também a concentração de albumina plasmática. Comar et al. (2013) encontraram resultados semelhantes para concentração de albumina, globulina e sua relação, em plasma de ratos submetidos à indução de artrite por adjuvante.

## Conclusões

Conclui-se que o protocolo de indução de artrite na fase de lactação foi eficiente para a manifestação da doença na fase pós desmame, tendo influenciado todas as variáveis de estresse oxidativo avaliadas.

## Agradecimentos

Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Maringá, pela concessão de bolsa de estudos.

## Referências

- COMAR, J.F. et al. Oxidative state of the liver of rats with adjuvant-induced arthritis. *Free Radical Biology and Medicine*, v.58, p.144-153. 2013.
- FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 43, n. 1, p. 61-68. 1997.
- GONÇALVES, G.A. et al. Merlot grape pomace hydroalcoholic extract improves the oxidative and inflammatory state of rats with adjuvant-induced arthritis. *Journal of Functional Food*, v.33, p.408-418. 2017.
- GRACIANO D.E. et al. Identificação de artrite em suíno utilizando imagem termográfica. *Boletim de Indústria Animal, Nova Odessa*, v.71, n.1, p. 79-83. (2014).
- MATEEN, S. et al. Increased Reactive Oxygen Species Formation and Oxidative Stress in Rheumatoid Arthritis. *PLoS ONE*, v.11, n.4, p. e0152925. 2016