

## AVALIAÇÃO DOS MARCADORES INFLAMATÓRIOS PARAOXONASE (PON-1) E FIBRINOGÊNIO EM POTROS NEONATOS HÍGIDOS

INARAÃ DIAS DA LUZ<sup>1</sup>; LUCIANA DE ARAUJO BORBA<sup>2</sup>; LETICIA DA SILVA SOUZA<sup>3</sup>; GABRIELA CASTRO DA SILVA<sup>4</sup>; TATIANE LEITE ALMEIDA<sup>5</sup>; BRUNA DA ROSA CURCIO<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – inadiasmedvet@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – luaraujo\_sm@hotmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – leticia\_050@hotmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – gabicastrivini@gmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – tatianeleitealmeida@gmail.com

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – curciobruna@hotmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

Em potros neonatos, o parto é um período de adaptação ao ambiente extra-uterino com o fim da circulação materno-fetal, início da respiração pulmonar e início da nutrição enteral, de acordo com Knottenbelt et al (2004). Nos primeiros momentos de vida, a saúde do recém-nascido é resultado das condições do ambiente intra-uterino, do grau de eficiência placentária e do pós-parto recente (HAY JR., 1995). Isto destaca a importância de meios auxiliares para avaliação e identificação de possíveis desordens decorrentes dessas condições.

Segundo Orsini (2011) o processo do nascimento é uma transição importante e pode ser traumático, podendo afetar a saúde do neonato e não ser observado, o que muitas vezes pode influenciar no seu estado clínico.

O fibrinogênio é uma importante glicoproteína de fase aguda, produzida em maior quantidade pelo fígado na presença de afecções inflamatórias (AUER et al., 1989; COTRAN et al., 1989; MILLS et al., 1998) e infecciosas (MCSHERRY et al., 1970; SCHALM, 1970). O mesmo é um marcador inflamatório conhecido em equinos, ele aumenta de 24-72 horas após o início do processo inflamatório e permanece aumentada por períodos prolongados (até 7 dias) após o término do processo inflamatório, sendo a principal desvantagem do seu uso (CRISMAN et al. 2008).

A paraoxonase-1 (PON-1) é um composto antioxidante considerado como proteína de fase aguda negativa em animais (ROSSI et al., 2013) e humanos (NOVAK et al., 2010) que, é sintetizada no fígado e transportada no plasma através da associação com a lipoproteína de alta densidade (HDL) (RUGGERONE et al., 2018). Tal enzima apresenta rápida alteração em seus níveis mediante a injúrias teciduais, mas a pesar do uso extensivo da mesma como marcador em humanos, na medicina veterinária sua utilização ainda é muito limitada (RUGGERONI, 2018).

O presente estudo teve como objetivo descrever os marcadores inflamatórios séricos fibrinogênio e da enzima PON-1 em potros neonatos hígidos ao nascimento.

### 2. METODOLOGIA

No estudo foram utilizados 24 potros neonatos 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 potros foram submetidos a avaliação clínica e hematológica e considerados saudáveis antes do início do experimento. O procedimento foi realizado com aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Federal de Pelotas, sob o número 4750.

Para mensurar a atividade da PON-1 e as concentrações séricas do fibrinogênio foram realizadas coletas sanguíneas por venopunção do vaso jugular, com antisepsia prévia, no momento do nascimento (0h) em: (a) tubos contendo EDTA para fibrinogênio e (b) tubos sem anticoagulante para PON-1.

As amostras referentes a fibrinogênio plasmático foram enviadas para o Laboratório de Patologia Clínica Veterinário (UFPel) e analisadas segundo a técnica descrita por SCHALM et al. (1975) onde a concentração foi feita através de refratometria.

As amostras de PON-1 foram centrifugadas a 3000 RPM durante 10 minutos, onde as alíquotas de soro foram separadas, acondicionadas em microtubos e criopreservadas a -80°C para subsequente análise no Laboratório de Metabologia e Nutrigenômica (UFPel), segundo a técnica descrita anteriormente por CAMPOS et al. (2017), sendo a leitura realizada por espectrofotometria.

Os dados amostrais foram analisados no programa Statistix® a partir de uma análise descritiva, onde foram consideradas 23 amostras de fibrinogênio e 24 amostras de PON-1. Realizou-se o teste de correlação de Pearson entre as variáveis estudadas.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em média, os neonatos apresentaram concentrações de fibrinogênio sérico de 426,1±40,8 mg/dL e a atividade da paraoxonase-1 foi de 14,1±1,9 U/ml, conforme tabela 1.

**Tabela 1.** Atividade da PON-1 (U/ml) e valores séricos de fibrinogênio (mg/dL) em potros mestiços crioulos hígidos observados ao nascimento, descritos com média ± erro padrão da média, limites inferior e superior e desvios-padrão.

	Fibrinogênio (mg/dL)	PON-1 (U/ml)
<b>Média ± Erro Padrão da média</b>	426,1±40,8	14,1±1,8
<b>Desvio Padrão (DP)</b>	195,9	9,2
<b>Coeficiente de Variação (CV)</b>	45,9	65,7
<b>Limite Inferior</b>	100,0	4,1
<b>Mediana</b>	400,0	14,1
<b>Limite Superior</b>	800,0	51,7

O teste de correlação de Pearson nos demonstrou uma correlação negativa de -0,06 entre as variáveis estudadas, que segundo Cohen (1988), tal valor é considerado como não significativo, ou seja, as variáveis de estudo não se relacionam.

Os valores esperados de fibrinogênio para potros neonatos hígidos ao nascimento são em média  $450 \pm 150$  mg/dL (MEYER, et. al 1998; FEIJÓ, et. al 2014). O estudo paralelo do fibrinogênio com a PON-1 serve para embasar o uso da mesma, uma vez que o fibrinogênio é um parâmetro fundamentado e nos demonstra que os potros neonatos não apresentavam alterações em suas concentrações séricas, estando de acordo com os índices fisiológicos esperados.

Os valores esperados de PON-1 para a espécie equina são de 38,2 - 79,9 U/ml (RUGGERONI et. al, 2018), corroborando com os valores encontrados no presente estudo.

Em estudo recente, RUGGERONE et al. (2018) afirma que os intervalos esperados para PON-1 em equinos adultos e neonatos não diferem significativamente, assim a atividade esperada para as categorias é semelhante.

O mesmo estudo explicita que a atividade desta enzima em cavalos saudáveis é menor do que outras espécies domésticas como cães, gatos e bovinos. Acredita-se isso se deve ao fato de que as diferentes espécies possuem um metabolismo hepático ou lipídico distinto que pode influenciar na atividade da PON-1, ou que cada espécie possua duas próprias isoformas particulares atingindo diferentes concentrações no soro.

Em outras espécies, a baixa atividade de PON-1 foi demonstrada em recém-nascidos, com aumentos significativos dos 3º ao 21º após o nascimento (GIORDANO, 2013), possivelmente devido à imaturidade do fígado e as diferenças no metabolismo lipídico.

Com base nos dados explicitados anteriormente, infere-se que atividade da paraoxonase-1 em equinos é menor, mas que as concentrações da mesma podem ser utilizadas como ferramenta para classificação dos animais em saudáveis ou não, uma vez que dados da literatura apontam para um padrão na atividade da mesma.

Cabe ressaltar que se fazem necessários mais estudos, onde o número amostral de animais utilizados seja maior, gerando resultados mais fidedignos e caracterizando a atividade da mesma nas diferentes categorias animais.

#### 4. CONCLUSÕES

Conclui-se que as concentrações de PON-1 em potros neonatos apresentam valores inferiores aos descritos para equinos adultos e não apresentam correlação com o fibrinogênio sérico. Contudo, mais estudos são necessários para que possamos determinar o intervalo de referência esperado em neonatos hígidos, para que assim os mesmos possam ser classificados quanto ao seu estado clínico corretamente.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AUER DE, NG JC, THOMPSON HL, INGLIS S & SEAWRIGHT AA. Acute phase response in horses: changes in plasma cation concentrations after localised tissue injury. **The Veterinary Record**, p. 235-239, 1989.

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.

COTRAN RS, KUMAR V & ROBBINS SL. **Robbins pathologic basis of disease, 4th ed.** Philadelphia, Saunders. 1200p, 1989.

CRISMAN, M.V.; SCARRATT, W. K.; ZIMMERMAN, K.L.: Blood Proteins and Inflammation in the Horse. **Vet Clin Equine**, v.24, p.285–297, 2008.

FEIJÓ, L.S.; CURCIO, B.R.; HAETINGER, C., PAZINATO F.M., KASINGER S., DOS SANTOS R.S., LADEIRA S.R.L., NOGUEIRA C.E.W. Maturidade de potros nascidos de éguas com placentite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.66, n.6, p.1662-1670, 2014.

GIORDANO, A.; VERONESI, M.C.; ROSSI, G. et al. Serum paraoxonase-1 activity in neonatal calves: age related variations and comparison between healthy and sick animals. **Vet Journal**. v. 197. p. 499–501, 2013.

HAY Jr., W.W. **Current topic:** Metabolic interrelationships of placenta and fetus. *Plac.*, v.16, p.19-30, 1995.

KNOTTENBE, D.C.; HOLDSTOCK, N.; MADIGAN, J.E. Equine Neonatal Medicine and Surgery. *Medicine and Surgery. Elsevier Science Limited*. v.2, c.1, 2004.

MCSHERRY, B.J.; HORNEY, F.D. & DE GROOT, J,J. Plasma fibrinogen levels in normal and sick cows. **Canadian Journal of Comparative Medicine**. p.191-197, 1970.

MEYER, D.J. & HARVEY, J.W. *Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation and Diagnosis*. 2nd edn. Philadelphia: **W.B. Saunders Company**, p.373, 1998.

MILLS PC, AUER DE, KRAMER H, BARRY D & NG JC. Effects of inflammation-associated acute-phase response on hepatic and renal indices in the horse. **Australian Veterinary Journal**. p.187-194, 1998.

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.

ORSINI, J.A. A fresh look at the process of arriving at a clinical prognosis. Part 3: Neonatal illness. **J of Equine Vet Sci.**, n. 31, p. 434-446, 2011.

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.

SCHALM, O.W.; JAIN, N.C. & CARROLL, W.J. **Veterinary hematology**. 3rd ed. Philadelphia, Lea & Febiger. p. 807, 1975.

SCHALM, O.W.; SMITH, R. & KANEKO, J.J. Plasma protein: fibrinogen ratios in dogs, cattle and horses. Part I. Influence of age on normal values and explanation of use in disease. **California Veterinary**. p. 24-28, 1970.

COHEN, Jacob. (1988), *Statistical power analysis for the behavioral sciences*. Hillsdale, NJ, Erlbaum.