

ANÁLISE DA ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES EM FRANGOS DE CORTE DE DIFERENTES POTENCIAIS DE CRESCIMENTO, SUSCEPTÍVEIS A SÍNDROME DE MORTE SÚBITA

Sibele Morais Lina¹; Débora Vaccari Quaresma²; Cristina Amorim Ribeiro de Lima³ & Ana Paula Pereira da Silva⁴.

1. Bolsista PIBIC, Discente do Curso de Medicina Veterinária, IV/UFRJ; 2. Mestranda do curso de Pós-Graduação em Zootecnia/IZ/UFRRJ; 3. Professora do Departamento de Nutrição Animal e Pastagens/IZ/UFRRJ; 4. Professora do Departamento de Química/ICE/UFRRJ.

Palavras chave: estresse oxidativo, enzimas antioxidantes, morte súbita, frangos.

Introdução

O Brasil é o terceiro maior produtor de frangos do mundo, tendo produzido 12.645 milhões de toneladas de carne de frango em 2012 (União Brasileira de Proteína Animal, 2014). Infelizmente, uma parcela significativa desta produção é afetada pela ocorrência de síndromes metabólicas, entre elas a síndrome de morte súbita (SMS). A SMS é responsável por um percentual significativo das mortes totais dos frangos em granjas de corte causando grandes prejuízos econômicos para a indústria avícola. No entanto, até o momento os eventos celulares responsáveis por esta síndrome são pouco ou totalmente desconhecidos. O conhecimento destes eventos fornecerá informações que auxiliarão não só ao melhor entendimento e diagnóstico desta, como também poderão ser aplicados a outras síndromes semelhantes (i.e. ascite). Esta síndrome afeta frequentemente frangos de crescimento rápido, que morrem subitamente e não apresentam sinais de nenhuma doença (Olkowski e Classen, 1995). Estudos utilizando animais de laboratório sugerem que uma das principais causas para induzir a arritmia ventricular e a súbita falência cardíaca é devido aos diferentes tipos de estresse sofridos por frangos produzidos comercialmente (Rubart e Zipes, 2005). Acredita-se que esta condição seja o resultado de um desequilíbrio metabólico e fisiológico associado a altas taxas de crescimento. O coração requer um constante suprimento de oxigênio para manter suas funções normais. Apesar dessa necessidade constante, o oxigênio e os processos relacionados a sua utilização são extremamente complexos no miocárdio onde ele pode trazer muitos benefícios mas também pode contribuir a falência do músculo cardíaco. Existem evidências de que um desequilíbrio entre as concentrações das espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio (ROS/RNS) podem ter um papel crucial no processo de falência cardíaca (Orrenius *et al.*, 2007). Em todos os organismos, os processos oxidativos ocorrem como parte normal do metabolismo, mas durante esses processos várias espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio são produzidas. Quando há excesso na produção de ROS e RNS, acima da capacidade antioxidante da célula (representadas em parte por sistemas enzimáticos) estas espécies reagem e alteram as propriedades de biomoléculas como ácidos nucleicos, lipídios e proteínas, o que leva a disfunções celulares. Maxwell e Robertson (1996) demonstraram que o aumento de hidróperóxido de hidrogênio em cardiomiócitos levava a falência cardíaca em frangos de corte. O papel do estresse oxidativo tem sido questionado em modelos animais de cardiomiopatia, mas não existe nenhum trabalho que determine o possível envolvimento das espécies reativas e dos mecanismos de proteção (i.e. enzimas antioxidantes) contra o estresse oxidativo na etiologia da falência cardíaca em frangos produzidos em larga escala. O objetivo deste trabalho foi determinar o papel dos mecanismos de defesa antioxidante em animais susceptíveis (animais com potencial de crescimento rápido) e não susceptíveis à SMS (animais com potencial de crescimento lento). Desta forma, nesta primeira fase do trabalho foram analisadas as atividades das enzimas antioxidantes catalase e glutatona redutase no tecido hepático desses animais.

Metodologia

Foram analisadas as enzimas antioxidantes catalase e glutatona redutase de frangos de corte das linhagens Cobb (linhagem de potencial de crescimento rápido) ou Redbro Plumé (linhagem de potencial de crescimento lento). Os animais receberam uma ração balanceada formulada de modo a atender as exigências nutricionais recomendadas por Rostagno *et al.* (2011) e foram abatidos aos 44 dias (Cobb) com peso médio de $2817 \pm 65,4$ e $n=8$; 54 dias (Redbro Plumé) com peso médio de $2373 \pm 145,3$ e $n=4$ e 84 dias (Redbro Plumé) com peso médio de $3580 \pm 21,6$ e $n=4$. Após o abate os animais tiveram seus fígados removidos, pesados e congelados à -80°C . Para o preparo dos extratos, os fígados foram rapidamente descongelados e homogeneizados em tampão de lise e centrifugados em seguida à $1000g$ por 10 minutos, 4°C . O sobrenadante obtido desta centrifugação (homogeneizado total) foi utilizado para determinação das atividades enzimáticas. As proteínas totais foram quantificadas neste homogeneizado total para determinação das atividades específicas das enzimas analisadas. As atividades enzimáticas foram determinadas espectrofotometricamente de acordo com o método descrito por Aebi (1984) e Lushchak *et al.* (2005). A análise estatística foi realizada no programa Origin® 7.5 (OriginLab Corporation, USA). Os resultados são apresentados como médias \pm erro padrão para n experimentos independentes. A significância estatística foi determinada pelo teste t de Student. Diferenças foram consideradas estatisticamente significantes quando $p < 0,05$ ou $p < 0,01$.

Resultados e discussão

Foi observado um aumento na atividade específica da enzima catalase nos frangos da linhagem Redbro Plumé abatidos aos 84 dias de abate ($177,55 \pm 9,82$ mU/mg) quando comparados com os da linhagem Cobb ($93,60 \pm 4,78$ mU/mg). Não foram observadas diferenças entre as atividades da catalase entre os animais da linhagem Redbro Plumé abatidos aos 54 dias de idade ($119,07 \pm 14,02$ mU/mg) e os animais da linhagem Cobb. A atividade específica calculada para glutatona redutase foi de $15,64 \pm 2,46$ mU/mg para linhagem Cobb, $15,16 \pm 2,45$ mU/mg para linhagem Redbro Plumé abatidos aos 54 dias de idade e $11,29 \pm 0,83$ mU/mg para linhagem Redbro Plumé abatidos aos 84 dias de idade, não tendo sido, portanto, observadas diferenças entre os três grupos analisados.

Conclusão

Estes resultados estão de acordo com o esperado, pois embora não tenham sido observadas diferenças nas atividades da enzima glutatona redutase, uma diferença significativa foi encontrada na atividade da enzima catalase. Estes dados sugerem que uma possível defesa antioxidante mais eficiente nos animais de potencial de crescimento lento (Redbro Plumé) pode estar relacionada com uma menor susceptibilidade destes ao desenvolvimento da síndrome da morte súbita. Outras enzimas antioxidantes (glutatona peroxidase e superóxido dismutase) serão analisadas e as análises serão estendidas ao tecido cardíaco. Além disso, as análises deverão ser feitas ao longo do desenvolvimento dos animais para minimizar possíveis interferências em relação à diferença entre idades e peso dos animais estudados. Os resultados obtidos poderão auxiliar no melhor entendimento desta síndrome e também no desenvolvimento de técnicas ou tratamentos que minimizem sua ocorrência impactando diretamente a produção avícola.

Referências bibliográficas

- AEBI H (1984). *Methods Enzymol*, **105**,121–126.
- LUSHCHAK VI, BAGNYUKOVA TV, LUSHCHAK OV, STOREY JM, STOREY KB. (2005). *Int J Biochem Cell Biol.*; 37, 1319-30
- MAXWELL MH, ROBERTSON GW, FARQUHARSON C (1996). *Res Vet Sci*. 61(1):7-12.
- OLKOWSKI, A.A., CLASSEN, H.L., 1995. *Poultry Av Biol Rev*, **6**, 95–105.

ROSTANNO, H. S. *Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos Composição de alimentos e exigências nutricionais*. 2ª ed. Viçosa, Minas Gerais – Brasil, 2005. 186p.

RUBART M, ZIPES DP (2005). J Clin Invest, 115, 2305-2315.