

METABOLISMO ENERGÉTICO INTESTINAL DURANTE A INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *Eimeria* spp. EM PINTAINHOS

Luiz Gustavo Griss¹, Bruno Fernando Fortuoso¹, Gabriela Miotto Galli², Matheus Dallamea Baldissera³, Aleksandro Schafer da Silva⁴

¹ Acadêmico do Curso de Zootecnia – CEO, UDESC. Bolsista PIVIC

² Mestranda do Programa de Pós-graduação em Zootecnia - UDESC

³ Doutorando do Programa de Farmacologia - UFSM

⁴ Orientador, Departamento de Zootecnia - CEO endereço de e-mail.

Palavras-chave: creatina quinase, adenina quinase, piruvato quinase

Um dos grandes desafios da produção de frangos de corte é a coccidiose causada por protozoários do gênero *Eimeria*. Estes parasitos causam grandes prejuízos econômicos, passando de 3 bilhões de dólares por ano em perdas para a cadeia produtiva. O parasito em questão ataca o intestino dos animais, e os prejuízos econômicos ocorrem pela queda no desempenho e piora da conversão alimentar. Além disso, há indícios de que a ação do parasito afeta negativamente o metabolismo da adenosina trifosfato (ATP), sendo que enzimas que participam da rede de fosfotransferências, sendo regulada por enzimas como creatina quinase (CK), adenina quinase (AK) e a piruvato quinase (PK). Portanto, o objetivo deste estudo foi verificar se a infecção por *Eimeria* spp afeta o metabolismo energético a nível intestinal, local onde o parasito se aloja, assim como onde ocorre a absorção de nutrientes pelo animal. Para o estudo, quarenta animais da linhagem Cobb 500 foram adquiridos e divididos em dois grupos homogêneos, um grupo foi denominado Controle (não infectados) e o outro grupo denominado Infectados cujos animais receberam pela via oral uma dose de inoculo contendo cinco espécies de *Eimeria* spp. (*E. mitis*, *E. acervulina*, *E. praecox*, *E. tenella* e *E. maxima*). Nos dias 5, 10 e 15 de experimento, sete animais de cada grupo foram anestesiados (isofluorano) e em seguida abatidos, destes animais foram coletadas amostras de intestino (fragmentos de duodeno, jejuno e ceco) para posterior analise histopatológica, bem como fragmento de jejuno para a mensuração de enzimas como a CK, PK e AK, assim como variáveis ligadas ao estresse oxidativo. O fragmento de jejuno foi lavado em tampão SET (sacarose a 0,32 M, EGTA a 1 mM, Tris-HCl a 10 mM, pH 7,4), e posteriormente homogeneizou-se (1:10 p/v) nesse mesmo tampão um homogeneizador de vidro Potter-Elvehjem. O homogeneizado foi centrifugado a 800 xg durante 10 min a 4°C. Parte do sobrenadante foi utilizada para avaliar a atividade da AK e os parâmetros do estresse oxidativo; o sedimento foi descartado e o sobrenadante foi novamente centrifugado a 10.000 xg por 15 min a 4°C. O sobrenadante contendo citosol foi coletado para determinação de PK e atividade da CK citosólica. O sedimento, contendo as mitocôndrias foi lavado duas vezes com o mesmo tampão SET, depois ressuspensos em Trizma 100 mM e tampão MgSO₄ 15 mM (pH 7,5) para avaliar a actividade da CK mitocondrial. Nos mesmos dias, amostras de fezes foram coletadas do reto para que fosse realizado uma contagem de oocistos de *Eimeria*. Os dados tiveram distribuição estatística normal, exceto a contagem de oocistos, por isso um teste não paramétrico foi aplicado. Os demais dados, foram submetidos ao teste t. Oocistos foram observados apenas nas fezes dos

animais do grupo Infectado nos dias 10 e 15 pós-infecção (PI). A atividade da enzima CK citosólica foi superior no intestino dos animais infectados nos dias 10 e 15 PI, já a CK mitocondrial teve atividade menor nesses animais nos três momentos avaliados ($P<0,05$). A atividade da AK no homogenato de jejuno foi menor nos pintinhos do grupo Infectado ($P<0,05$) comparado ao controle. Não houve diferença entre grupos na atividade da PK entre grupos ($P>0,05$). Nos dias 10 e 15 foi observado lesões histológica no intestino (duodeno, jejuno e ceco) causadas pelo parasita, assim como presença de oocisto no lúmen do intestino. Com a infecção ocorre uma resposta inflamatória descrita em detalhes pela literatura, e consequentemente ocorre eventos bioquímicos caracterizados como estresse oxidativo. Essa hipótese foi confirmada em nosso estudo, níveis de TBARS que indicam peroxidação lipídica e espécies reativas ao oxigênio (EROs) se elevaram no intestino dos animais do grupo Infectados comparado ao Controle nos dias 10 e 15 PI ($P<0,05$). Para agravar mais a situação, os níveis de antioxidantes não enzimáticos reduziram no intestino desses animais, informação essa confirmada pelos menores níveis de NPSH ($P<0,05$). Os dados da mensuração das enzimas que compõe a rede de fosfotransferencia possibilita visualizar mecanismos de interferência na síntese e regulação de ATP, uma molécula energética responsável por diversas funções fisiológicas, assim como desempenho. A atividade da CK mitocondrial pode ser uma resposta a doença, na tentativa de restaurar os níveis de ATP. Quando essa enzima é inibida, a comunicação entre os locais de produção de energia é afetada, comprometendo tecidos com alta demanda energética, que é o caso do intestino. Como um efeito compensatório, houve estimulação da CK citosólica, contribuindo para regeneração do ATP. Ou seja, a eimeriose inibiu a atividade da CK mitocondrial, o que gerou um desequilíbrio do balanço energético, então, houve uma compensação energética gerada pela estimulação da CK citosólica. Todos esses eventos bioquímicos e inflamatórios ocorrem simultaneamente, e permitem visualizar que com a redução na atividade da enzima CK mitocondrial ocorre um desbalanço na homeostase energética intestinal, diminuindo os níveis de ATP, assim eleva-se produção de EROS e peroxidação lipídica. Assim conclui-se que a eimeriose afeta negativamente o balanço energético a nível intestinal, e consequentemente favorece a síndrome da má absorção presente nas coccidioses.