EFEITOS DO ÔMEGA-3 NA MODULAÇÃO DO PROCESSO INFLAMATÓRIO DE CÃES EM PÓS-OPERATÓRIO

YARA P. ARAKAKI1, BRANA S. A. BONDER1; MARIANA Y. H. PORSANI1; FABIO A. TEIXEIRA1; VINICIUS V. DE OLIVEIRA1; GABRIEL S. DOS SANTOS1; CRISTINA DE O. M. S. GOMES1; CRISTIANA F. F. PONTIERI2; JULIANA T. JEREMIAS2; MÁRCIO A. BRUNETTO1

1Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/USP), São Paulo/Pirassununga, SP; 2Grandfood Ind. Com LTDA, Dourado, SP
Contato: ARAKAKI.YARA@GMAIL.COM

Resumo: O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos da ingestão de óleo de peixe na modulação da resposta inflamatória de cadelas em período pós-operatório à ovariohisterectomia (OSH). Os animais foram divididos em dois grupos: grupo A, receberam alimento extrusado sem acréscimo de ácido graxo eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA); grupo B, receberam alimento extrusado com acréscimo de EPA e DHA (0,2g/100 kcal). Os cães foram avaliados 21 dias prévio à OSH (T-21), no dia da OSH antes do procedimento (T0A), no dia da OSH após o procedimento (T0P), dez dias após a cirurgia (T10) e trinta dias após a cirurgia (T30). Determinou-se a composição corporal pelo método de isótopos de deutério. Foram avaliadas as concentrações séricas de citocinas [fator de necrose tumoral (TNF-); interleucina 6 (IL-6) e interleucina 10 (IL-10)); proteína C reativa (PC-R); fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1)]; linfoproliferação; perfil de coagulação [fibrinogênio; protrombina (PT) e tromboplastina parcial ativada (TTPA)]. A OSH não foi invasiva o bastante para produzir aumento imediato de citocinas inflamatórias e a ingestão de EPA+DHA não foi suficiente para modular a resposta inflamatória e alterar o perfil de coagulação e a composição corporal dos animais avaliados.
Palavras Chave: ovariohisterectomia, óleo de peixe, ácido graxo eicosapentaenóico, cães

EFFECTS OF OMEGA-3 IN MODULATION OF THE INFLAMMATORY PROCESS OF DOGS IN POST-OPERATIVE

Abstract: This study was conducted to assess the effects of fish oil intake on the modulation of the inflammatory response of bitches in the period after ovariohysterectomy (OHE). This was a randomized, double-blind clinical study, in which animals were divided into: group A, they were fed extruded food, without addition of eicosapentaenoic (EPA) and docosahexaenoic (DHA); group B, they received extruded food with EPA and DHA (0.2g/100kcal). Dogs were evaluated twenty one days before OHE (T-21), on the day of the surgery before undergoing it (T0A), on the day of the surgery after the procedure (T0P), ten days after surgery (T10) and thirty days after surgery (T30). Serum cytokines [tumor necrosis factor (TNF-), interleukin-6 (IL-6) and interleukin-10 (IL-10)] were measured; C-reactive protein (PC-R); insulin growth factor (IGF-1); lymphoproliferation; coagulation profile [fibrinogen, prothrombin (PT) and activated partial thromboplastin (APTT)] and body composition. OHE was not invasive enough for the immediate increase of inflammatory cytokines and the ingestion of EPA + DHA is not sufficient to modulate the inflammatory response, coagulation profile and a body composition of the animals.
Keywords: ovariohysterectomy; fish oil; eicosapentaenoic acid; canine

Introdução: O estresse imunológico secundário ao período pós-operatório pode ser modulado com a inclusão de ácidos graxos polinsaturados da séria ômega-3 na dieta (HAN et al., 2012). A suplementação de óleo de peixe foi estudada em pacientes humanos no período pós-operatório e os resultados demonstraram benefícios à imunidade e modulação da resposta inflamatória (HELLER et al., 2002; HAN et al., 2012). Em cães, são escassos os trabalhos que avaliaram os efeitos da ingestão de altas doses de EPA e DHA nesta condição. Dessa forma, este estudo objetivou avaliar os possíveis efeitos da ingestão de ômega-3 na modulação da resposta inflamatória, linfoproliferação, parâmetros de coagulação e na composição corporal de cadelas em período pós-operatório à ovariohisterectomia (OSH).

Material e Métodos: Foram incluídas 12 cadelas, divididas em dois grupos experimentais (A e B). Os animais de ambos os grupos receberam o alimento extrusado por 21 dias prévios a OSH e até 30 dias após a cirurgia. A dieta do grupo A era composta: 6g/100 kcal de proteína bruta (PB); 3,2g/100 kcal de extrato etéreo (EE); 2g/100 kcal de matéria mineral (MM); 0,8g/100 kcal de fibra bruta (FB); 0,5g/100 kcal de ômega-6; 0,1 g/100 kcal de ômega-3 e 3797 kcal/kg de energia metabolizável (EM)). Já a do grupo B: 9,1g/100 kcal de PB; 5,7g/100 kcal de EE; 1,2g/100 kcal de MM; 0,5g/100 kcal de FB; 0,8g/100 kcal de ômega-6; 0,3g/100 kcal de ômega-3; 0,2g/100 kcal de EPA+DHA e 4300 kcal/kg de EM. As reavaliações da ingestão, exame físico, pesagem, escore de condição corporal (ECC) e de massa muscular (EMM) foram realizadas em todos os períodos de avaliação. Nos tempos T10 e T30 foram avaliados hemograma, perfil bioquímico e a composição corporal determinada pelo método de isótopos. Avaliou-se o perfil de coagulação pelos kits: soluplastin (Weiner lab®Argentina) e APT teste ellágico (Weiner Lab ®, Argentina). As análises do PC-R e o IGF-1 por kits comerciais de ensaio imunoenzimático e a linfoproliferação por citometria de fluxo, seguindo a metodologia descrita por Quah, Warren & Parrish (2007). Já as citocinas foram analisadas em painéis multiplex. As análises estatísticas foram realizadas no

programa SPSS 20.0, sendo empregados testes paramétricos e não paramétricos, valores de p0,01 foram considerados significativos.

Resultado e Discussão: Não foram observadas diferenças entre os grupos quanto ao peso corporal (p=0,68), percentual de massa magra (p=0,10) e gordura corporal (p=0,10). Estas variáveis também não diferiram entre os tempos (p=0,99; 0,90 e 0,89). Tais achados eram esperados, devido a não variação da ingestão média de proteína (p=0,88), gordura (p=0,12) e caloria (p=0,02) entre os grupos experimentais. O hemograma e perfil bioquímico não diferiram entre os grupos ao longo do estudo. A OSH foi utilizada como desafio para avaliação da suplementação de EPA e DHA na cascata inflamatória (TSURUTA et al., 2017). Neste trabalho, não foi observado efeito da suplementação sobre a porcentagem de linfoproliferação e nas concentrações séricas de citocinas (Tabela 1), diferente dos resultados encontrados por LeBlanc et al. (2007), no qual cães saudáveis suplementados com óleo de peixe apresentaram redução na porcentagem de linfoproliferação e na concentração de IL-6. O baixo grau de experiência do cirurgião no procedimento de OSH foi associado à maior concentração de proteina C reativa em um estudo (MICHELSEN et al., 2012). No presente trabalho, as cirurgias foram realizadas sempre pelo mesmo cirurgião, com vasta experiência, o que pode ter gerado menor trauma tecidual e consequentemente menor inflamação. Não foram evidenciadas alterações nos parâmetros de coagulação (Tabela 1), como também já observado em estudo realizado com gatos após suplementação de óleo de peixe por doze semanas (SAKER et al., 1998), e em pacientes humanos após infusão de cinco dias no período pós-operatório (HELLER et al., 2002).

Tabela 1 - Concentrações séricas de fator de necrose tumoral alfa (TNF α), interleucina-6 (IL-6) e interleucina-10 (IL-10); fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1); proteina C reativa (PC-R); perfil de coagulação [fibrinogênio, tromboplastina parcial (TP) e tromboplastina parcial ativada (TTPA)] e porcentagem média de linfoproliferação (média ± desvio padrão) observadas no estudo.

Variável	Alimento A				Alimento B				Valor p*	Valor p**
	T_{0A}	T_{0P}	T_{10}	T_{30}	T_{0A}	T_{0P}	T_{10}	T_{30}		
TNF α (pg/mL)	25,2 ± 50,06	10 ±15,56	27,8 ±54,13	31,3 ± 3,63	5,09 ± 2,47	3,24 ± 1,89	3,96 ± 2,57	5,61 ± 6,89	0,18	0,86
IL-6 (pg/mL)	44,0 ± 78,70	27,2 ± 5,23	71,0 ± 44,75	48 ± 88,63	13,47 ± 6,36	8,92 ± 4,18	11,17 ± 6,11	13,7 ±10,40	0,80	0,87
IL-10 (pg/mL)	6,6 ± 3,04	6,5 ±2,81	10,8 ± 11,83	5,8 ± 3,23	74,3 ± 63,0	74,7 ±161,84	85,06 ± 90,55	111,42 ±258,46	0,20	0,99
Linfoproliferação (%)	-	43,8 ±12,51	-	43,4 ± ,87	-	40,4 ± 8,74	-	34,8 ± 5,19	0,10	0,42
IGF-1 (ng/mL)	1,0 ± 1,73	1,4 ± 2,15	0,6 ± 0,59	-	2,2 ± 2,76	1,62 ±2,28	1,63 ±1,94	-	0,33	0,85
PC-R (ng/mL)	0,4 ± 0,03	0,4 ± 0,01	0,4 ± 0,18	-	0,4 ± 0,02	0,4 ±0,02	0,39 ± 0,02	-	0,06	0,73
TP (segundos)	7,4 ±0,55	-	8,2 ± 0,63	8,1 ± 0,79	7,2 ± 0,16	-	7,28 ± 0,52	7,86 ± 1,13	0,10	0,07
TTPA (segundos)	13,9 ± 2,42	-	12,4 ± 2,7	13,2 ± 0,89	13,1 ± 1,39	-	12,65 ± 1,07	13,36 ± 2,09	0,82	0,43
Fibrinogênio (mg/dL)	320,0 ± 71,57	-	266,7 ± 54,58	282,3 ± 146,33	319,9 ± 106,14	-	269,5 ± 39,21	244,0 ± 94,34	0,75	0,25

*diferença entre grupos; valores de p obtidos pelo teste de T *Student;***diferença entre tempo; valores de p obtidos pelo teste de ANOVA; (T_{-21}) = 21° dia prévio ao procedimento cirúrgico; (T_{0A}) = no dia da cirurgia, antes do procedimento cirúrgico; (T_{0P}) = no dia da cirurgia, após o procedimento cirúrgico; (T_{10}) = dez dias após a cirurgia e (T_{30}) = trinta dias após a cirurgia.

Conclusão: A OSH não foi invasiva o bastante para produzir aumento das citocinas inflamatórias. Embora estudos indiquem que duas semanas de ingestão de alimento enriquecido com óleo de peixe induzam o aumento das concentrações séricas de EPA e DHA, nas condições de realização do presente trabalho não foram observadas diferenças nos parâmetros inflamatórios, perfil de coagulação e composição corporal dos cães

Referências Bibliográficas: QUAH, B. J.; WARREN, H. S.; PARISH, C. R. Monitoring lymphocyte proliferation in vitro and in vivo with the intracellular fluorescent dye carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester. Nat Protoc. v.2, n. 9, p.2049-2056, 2007.
HAN, Y. Y.; LAI, S. L.; KO, W. J.; CHOU, C. H.; LAI, H. S. Effects of fish oil on inflammatory modulation in surgical intensive care unit patients. Nutrition in clinical practice, v. 27, n. 1, p. 91–8, 2012.
HELLER, A. R.; FISCHER, S.; RÖSSEL, T.; GEIGER, S.; SIEGERT, G.; RAGALLER, M.; ZIMMERMANN, T.; KOCH, T. Impact of n-3 fatty acid supplemented parenteral nutrition on haemostasis patterns after major abdominal surgery. The British journal of nutrition, v. 87, n. 2002, p. S95–S101, 2002.
MICHELSEN, J.; HELLER, J.; WILLS, F.; NOBLE, G. Effect of surgeon experience on postoperative plasma cortisol and C-reactive protein concentrations after ovariohysterectomy in the dog: A randomised trial. Australian Veterinary Journal, v. 90, n. 12, 2012.
SAKER, K. E.; EDDY, A. L.; THATCHER, C. D.; KALNITSKY, J. Manipulation of dietary (n-6) and (n-3) fatty acids alters platelet function in cats. Journal of Nutrition, v. 128, n. 12 Suppl, p. 2645S–2647S, 1998.
TSURUTA, K.; BACKUS, R. C.; DECLUE, A. E.; FRITSCHE, K. L.; MANN, F. A. Effects of parenteral fish oil on plasma nonesterified fatty acids and systemic inflammatory mediators in dogs following ovariohysterectomy. Journal of Veterinary Emergency and Critical Care, v. 27, n. 5, p. 512–523, 2017.