

ESTRESSE E MODULAÇÃO DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA DO SISTEMA COMPLEMENTO PELO CORTISOL E GLUTAMATO DIETÉTICO EM JUVENIS DE PACU, *Piaractus mesopotamicus*

Camila de Fátima Pereira FARIA¹ e Elisabeth Criscuolo URBINATI²

¹Doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura no Centro de Aquicultura da Unesp – CAUNESP, Jaboticabal, SP camilaf17@gmail.com;

²Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-UNESP /Centro de Aquicultura-CAUNESP, Campus de Jaboticabal, SP bethurb@fcav.unesp.br

Apoio financeiro: CNPq.

Palavras-chave: aquicultura; estressor agudo; crônico; sistema imune

INTRODUÇÃO

A aquicultura é um dos setores da produção animal que mais cresce no mundo. A intensificação da produção expõe os animais a condições de estresse, que podem se diferenciar dependendo do caráter do estressor, agudo (respostas para ajuste e adaptação às condições alteradas) ou crônico (exaustão biológica, perda da capacidade adaptativa e prejuízos biológicos que podem levar a imunossupressão) (WENDELAAR BONGA, 1997). A elevação do cortisol plasmático é um importante indicador de estresse em peixes (BARTON E IWAMA, 1991) e atua como modulador das respostas biológicas, incluindo as imunológicas. O sistema imune inato dos peixes apresenta mecanismos de defesa mediados por células e fatores humorais (SECOMBES e WANG, 2012). Ambos os mecanismos são processos, assim como a resposta geral de estresse, energeticamente caros, impondo uma sobrecarga metabólica aos sistemas celulares de produção de energia, o que pode afetar o balanço redox celular e originar estresse oxidativo. Tratamentos preventivos que minimizem estes processos celulares são práticas que podem promover a saúde e a qualidade de vida nos peixes no ambiente de criação, como é o caso da incorporação na alimentação de substâncias antioxidantes. Um exemplo é o aminoácido L-glutamato (L-Glu), precursor da síntese de glutathiona reduzida, atuando como antioxidante nos enterócitos e fígado (REEDS *et al*, 1997). Este estudo avaliou as respostas de estresse agudo e crônico e do sistema imune inato em juvenis de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) alimentados com L-Glu dietético.

MATERIAL E MÉTODOS

288 juvenis de pacu ($113,7 \pm 35,12\text{g}$) foram mantidos em 24 caixas de 100L, com renovação de água e aeração, por 7 dias, para aclimação. Os peixes foram alimentados por 30 dias, com dietas feitas a partir de ração comercial com adição de L-Glu: Controle 0 g Glu/kg de ração; 08 g/kg e 16 g/kg. Em cada tratamento, metade dos peixes foi mantida sem manipulação pelo período de alimentação, enquanto a outra metade foi manipulada (estresse crônico - os animais foram perseguidos com puçá por 5 min), duas vezes ao dia. Ao final, 8 peixes de cada tratamento foram amostrados (coleta inicial) e os peixes restantes submetidos a exposição aérea por 3 min (estressor agudo), devolvidos às caixas e amostrados novamente 30 min, 3, 6 e 24 depois. Em cada amostragem, os animais foram anestesiados (benzocaína, 50mg/L) e o sangue retirado para quantificação: da concentração de cortisol e atividade hemolítica do sistema complemento (BILLER-TAKAHASHI *et al.*, 2012). O experimento foi conduzido em DIC e os dados avaliados pelos testes de normalidade (Cramer-von Mises) e homocedasticidade (Brown-Forsythe). Com as premissas satisfeitas, foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O cortisol liberado nas condições aguda e crônica de estresse potencializou a ação do sistema complemento a partir de 3 h após a presença do estressor, enquanto o L-Glu reduziu a concentração de cortisol às 3h na condição de estresse crônico em relação ao grupo controle (Fig.1). O estressor agudo (exposição aérea) desencadeou a principal resposta de estresse (cortisol) em 30 min, tanto nos animais sem prévia manipulação (condição EA) quanto naqueles que foram manuseados previamente, por 30 dias (condição EC), indicando a eficácia dos manejos estressores na ativação dos eixos do sistema nervoso em peixes. A atividade hemolítica do complemento (AHC_{50}) aumentou 30 min após o estressor agudo e assim permaneceu até 24 h depois, em ambas as condições de estresse, exceto às 3 h na condição EC (Fig.1). A AHC_{50} resulta na geração de fragmentos proteicos ativados que atuam no combate a patógenos, fagocitose, reações inflamatórias, entre outras (CLAIRE *et al.*, 2002). O L-Glu ativou o sistema complemento as 6 e às 24 h na condição de estresse crônico. De acordo com Tort (2011), se o estressor é agudo, o padrão de resposta é estimulatório, e o sistema imune dos peixes mostra uma fase de ativação que melhora as respostas inatas. Se o estressor é crônico, a resposta imune mostra efeitos imunossupressores. Diferentemente, no presente estudo, os peixes

tiveram o sistema complemento ativado nas duas condições de estresse (agudo e crônico), indicando que a elevação do cortisol atuou como um promotor da ativação e não como supressor.

O cortisol elevado no estresse ativou resposta imune inata. Os estressores, agudo e crônico, não impediram a ativação do sistema complemento. O L-Glu diminuiu os níveis de cortisol às 3h e melhorou a atividade do sistema complemento 6 e 24 h após a exposição aérea em peixes sob estresse crônico.

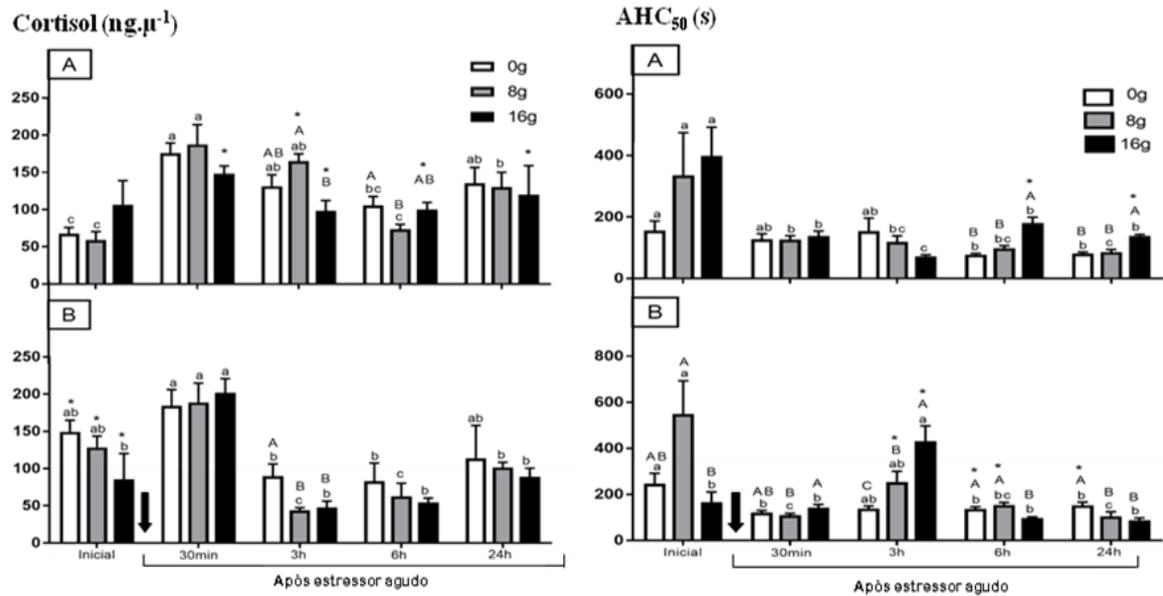


Figura 1. Concentração plasmática de cortisol e atividade hemolítica do sistema complemento (via alternativa) AHC₅₀, em pacus alimentados com dietas contendo 0 g, 8 g e 16 g de L-Glu, antes, 30 min, 3, 6 e 24 h após estressor agudo. (A) estresse agudo e (B) estresse crônico + estressor agudo. Seta (estressor agudo). Letras minúsculas indicam diferenças entre os tempos de amostragem em um mesmo tratamento, letras maiúsculas diferença entre tratamentos em um mesmo tempo e asterisco diferença entre condição de estresse ($p < 0,05$). Ausência de símbolos indica a falta de diferença estatística.

REFERÊNCIAS

- BARTON, B.A.; IWAMA, G.K. 1991 Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Review of Fish Diseases*, 1: 3-26.
- BILLER-TAKAHASHI, J.D.; TAKAHASHI, L.S.; MARZOCCHI-MACHADO, C.M.; ZANUZZO, F.S.; URBINATI, E.C. 2012 Hemolytic activity of alternative complement system as an indicator of innate immunity in pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41(2): 237-241.

- CLAIRE M., HOLLAND, H., LAMBRIS, J.D. 2002 The complement system in teleosts. *Fish & Shellfish Immunology*, 12: 399–420.
- REEDS, P.J., BURRIN, D.G., STOLL, B., JAHLOOR, F., WYKES, L., HENRY, J. & FRAZER, M.E. 1997 Enteral glutamate is the preferential source for mucosal glutathione synthesis in fed piglets. *Am. J. Physiol.*, 273: E408–E415.
- SECOMBES, C.J.; WANG, T. 2012 The innate and adaptive immune system of fish. In: Infectious disease. In: Aquaculture Prevention and Control, A volume in Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, p.3-68.
- TORT, L. 2011 Stress and immune modulation in fish. *Developmental and Comparative Immunology*, 35(12): 1366-1375.
- WENDELAAR BONGA, S.E. 1997 The stress response in fish. *Physiological Reviews*, 77: 591-625.