

ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS DA INFLAMAÇÃO INDUZIDA POR *Aeromonas hydrophila* EM *Piaractus mesopotamicus* ALOXANA-DIABÉTICOS

Jefferson YUNIS-AGUINAGA^{1*}; Victor Alexander CUEVA-QUIROZ¹; Gustavo S. CLAUDIANO², Fernando C. RAMOS-ESPINOZA¹; Fausto A. MARINHO-NETO²; Bruno L. M. VERRI¹; Antônio VICENTE MUNDIM³; Flávio RUAS DE MORAES^{1,2}; Julieta RODINI ENGRÁCIA DE MORAES^{1,2}

¹ Centro de Aquicultura da Unesp, Caunesp, Jaboticabal, SP

² Departamento de Patologia Veterinária FCAV, UNESP, Jaboticabal, SP

³ Universidade Federal de Uberlândia, MG

* jefyunis@gmail.com

Apoio financeiros: FAPESP Processo nº 2015/14289-8 e CNPq Processo nº 446917/2014-1

Palavras chave: lisozima; glicemia; imunidade inata; atividade respiratória dos leucócitos

INTRODUÇÃO

Devido às similaridades da doença em animais e humanos, diversos modelos experimentais animais são propostos para o estudo da diabetes, principalmente roedores, peixes e invertebrados. No segundo caso, o *Danio rerio*, “zebrafish” em inglês, é amplamente usado como modelo de estudo para enfermidades metabólicas incluindo a diabetes (PRINCE et al., 2016). O *Piaractus mesopotamicus*, pacu, é usado como modelo para o estudo da inflamação aguda (CLAUDIANO et al., 2013). Xu et al. (2004) usaram 150 mg de aloxana por quilograma de tilápias-do-Nilo para induzir diabetes com resultados satisfatórios. Assim o objetivo deste estudo foi avaliar a inflamação induzida pela inoculação de *Aeromonas hydrophila* inativada em pacus diabéticos, visando fornecer dados para estabelecer o pacu como modelo para estudo desta doença.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 350 pacus, adquiridos de piscicultura comercial, distribuídos em dois grupos, sendo que o primeiro foi injetado via endovenosa com solução de citrato buffer e o segundo com 150 mg/Kg de aloxana diluída na mesma solução. Cada um dos grupos foi subdividido em dois, injetado na bexiga natatória com solução salina estéril e outro inoculado com a DL50 de *Aeromonas hydrophila*. Nos tempos pré-determinados de 0, 1, 3, 6 e 9 horas após injeção de salina ou inoculação da bactéria, animais de cada grupo sofreram eutanásia para determinações hematológicas, bioquímicas e avaliação de variáveis de imunidade inata. A dose de aloxana utilizada foi de 150 mg/Kg (XU et

al., 2004) diluída em buffer citrato 0,01M 5 pH 4, injetada via endovenosa 5 dias antes do estímulo e coleta de material. Após verificação que o peixe apresentava mais de 130 mg/dL de glicose, foi considerado como diabético.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na atividade respiratória dos leucócitos sanguíneos não foram observadas diferenças dentro de cada grupo avaliado ($P < 0,05$). Porém foi observado que os peixes não diabéticos na maioria de tempos avaliados apresentaram maior ($p > 0,05$) atividade respiratória. Na concentração de lisozima no soro e na atividade de aglutinação bacteriana não foram observadas diferenças dentro de cada grupo avaliado ou entre grupos ($P < 0,05$). Finalmente, na histopatologia foram observados focos de necrose nos túbulos renais, degeneração vacuolar no fígado (Figura 1).

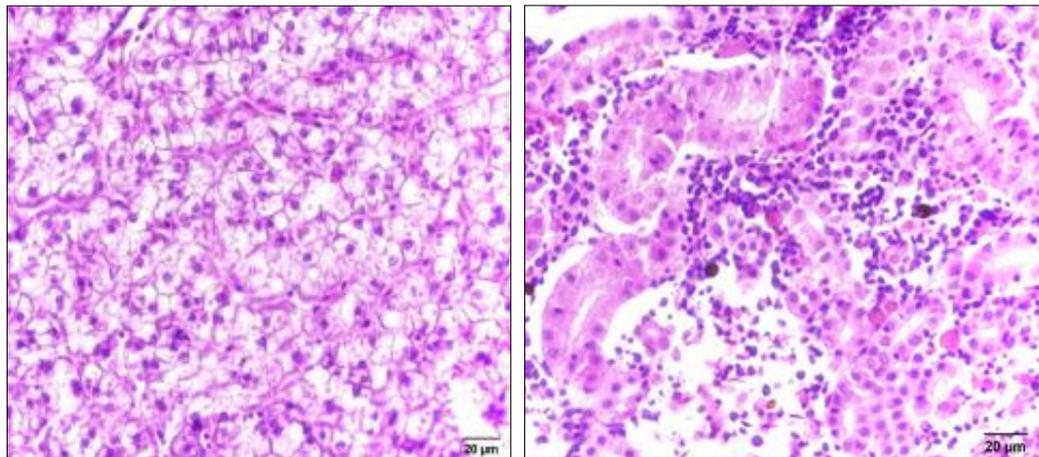


Figura 1. (A) Rim de pacu aloxana-diabético. Escassos focos isolados de necrose nos túbulos renais. (B) Fígado de pacu aloxana-diabético. Moderada degeneração vacuolar.

Níveis altos de proteína total, albumina e globulina estão associados com uma resposta imune inata mais vigorosa em peixes (WIEGERTJES et al., 1996). No presente estudo observou-se que os peixes diabéticos apresentaram diminuição progressiva destas proteínas o qual pode resultar em comprometimento da resposta contra patógenos, diferente do observado em peixes não diabéticos. A atividade respiratória dos leucócitos sanguíneos é um parâmetro utilizado de maneira rotineira em experimentos que visam avaliar a função dos leucócitos com base na produção de ânion superóxido (YUNIS-AGUINAGA et al., 2016). No presente estudo, foi observado no grupo controle que não houve diferença entre os grupos. Especula-se que a produção de ânion superóxido não tenha sido ativada e se manteve em níveis basais. Após a

inoculação da bactéria foi observado que os peixes diabéticos na maioria de tempos avaliados apresentaram menor atividade respiratória dos leucócitos. O nível de lisozima plasmática permaneceu constante entre os pacientes estudados. O fato de não ter observado diferenças nos tempos avaliados pode ser provavelmente porque a avaliação só foi realizada até nove horas após desafio. Porém foi possível verificar uma tendência progressiva de aumento desta proteína.

REFERÊNCIAS

- CLAUDIANO G.S., PETRILLO T.R., MANRIQUE W.G., MARCUSSO P.F., CASTRO M.P., LOUREIRO B.A., BELO M.A.A., MORAES J.R.E., MORAES F.R. 2013 Acute aerocystitis in *Piaractus mesopotamicus*: participation of eicosanoids and pro-inflammatory cytokines. *Fish Shellfish Immunology*, 4: 1-6.
- PRINCE V.E., ANDERSON R.M., DALGIN G. 2016 Zebrafish Pancreas Development and Regeneration: Fishing for Diabetes Therapies. *Current Topics in Developmental Biology*. IN PRESS.
- WIEGERTJES G.F., STET R.J.M., PARMENTIER H.K., VAS MUISWINKEL W.B. 1996 Immunogenetics of disease resistance in fish: a comparable approach. *Developmental & Comparative Immunology*, 20: 365-381.
- XU B.Y., MORRISON C.M., YANG H., WRIGHT J.R. 2004 Tilapia islet grafts are highly alloxan-15 resistant. *General and Comparative Endocrinology*, 137(2): 132-140.
- YUNIS-AGUINAGA J., FERNANDES D.C., ETO S.F., CLAUDIANO G.S., MARCUSSO P.F., MARINHO-NETO F.A., FERNANDES J.B., MORAES F.R., MORAES J.R.E. 2016 Dietary camu camu, *Myrciaria dubia*, enhances immunological response in Nile tilapia. *Fish & Shellfish Immunology*, 58: 284-291.