

INDICADORES BIOQUÍMICOS DA INFLAMAÇÃO¹

Introdução

Quando ocorrem infecções microbianas, lesões teciduais, reações imunológicas, processos inflamatórios e neoplásicos, o organismo animal desenvolve um conjunto de alterações denominadas de “resposta de fase aguda” (RFA) com o objetivo de eliminar o agente infeccioso e ou auxiliar no reparo tecidual. São vários os estímulos que induzem a RFA, mas todos possuem um denominador comum: a produção de dano ou morte celular.

A resposta de fase aguda é uma reação inflamatória não específica do hospedeiro, esta resposta tem como objetivo impedir a ação do patógeno e o dano celular. Durante o desenvolvimento desta resposta são liberadas citocinas e outros mediadores que iniciam alterações sistêmicas e localizadas além de alterações na concentração de algumas proteínas plasmáticas, também chamadas proteínas de fase aguda (APPs), algumas das quais ocorre diminuição da concentração (APPs negativas), tal como a albumina, globulina e transferrina, e outras um aumento (APPs positiva), como a proteína C-reativa (PCR), proteína amilóide sérica (PAS), haptoglobina, α -1 glicoproteína-ácida, ceruloplasmina, fibrinogênio, proteína ligante de manose (PLM), e α -1-antitripsina. As PFAs positivas são principalmente a PCR, a PAS e a haptoglobina que são liberadas pelos hepatócitos após a estimulação pelas citocinas. Estas glicoproteínas são sintetizadas principalmente pelos hepatócitos a partir do estímulo de citocinas pró-inflamatórias liberadas para a corrente sanguínea.

Na medicina humana e cada vez mais na veterinária a avaliação das concentrações destas proteínas plasmáticas, proporciona uma valiosa informação sobre as doenças que cursam com inflamação. Podendo ser utilizadas não somente para diagnóstico, mas também para monitoração da evolução e resposta ao tratamento.

Proteínas de fase aguda (PFA) e sua classificação

Proteínas de fase aguda (APPs) são moléculas do soro, que são sintetizados por muitas categorias de células, especialmente pelos hepatócitos. Geralmente, a estrutura de APP e a resposta de fase aguda são semelhantes em todas as espécies, tendo caráter universal em

¹ Seminário apresentado pela aluna FRANCIELE SONAGLIO na disciplina BIOQUÍMICA DO TECIDO ANIMAL no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, no primeiro semestre de 2013. Professor responsável pela disciplina: Félix H. D. González.

animais. Apesar dessas observações, o termo de "proteínas de fase aguda" foi conservado, e se refere a um amplo grupo de moléculas com estrutura e características homogênea estrutural e funcional, com diferenças entre as espécies e doenças, e com uma característica em comum: as alterações na intensidade da sua síntese durante vários processos patológicos, independentemente do seu tipo de evolução.

As funções mais importantes das APPs são: contribuir para a defesa do organismo neutralizando agentes inflamatórios, minimizando o dano tecidual, assim como participam no reparo e regeneração teciduais. Induzem um rápido aumento na concentração plasmática de muitos componentes do sistema complemento, estimulam a quimiotaxia de neutrófilos, macrófagos e proteínas plasmáticas para o local da lesão, além de participam da morte de agentes infecciosos, formação de debris celulares e reparo de tecido lesionados. Estas proteínas foram consideradas indicadores potenciais de doença e bem-estar em animais, individualmente, bem como da saúde do rebanho.

As proteínas de fase aguda (PFAs) são consideradas os indicadores mais confiáveis da resposta sistêmica frente aos processos inflamatórios/infecciosos, quando comparadas a outros achados como febre e presença de leucocitose associada à neutrofilia. O estímulo para o aumento de síntese dessas proteínas acontece dentro de 6 a 8 horas após a agressão e a concentração máxima ocorre dentro de 2 a 5 dias, sendo tal concentração variável dependendo do metabolismo do animal.

A concentração sanguínea das PFAs (liberadas pelos hepatócitos) é modulada por citocinas pró-inflamatórias como interleucina-1 (IL-1), IL-6 (maior mediador da secreção hepática da maioria das PFAs) e fator de necrose tumoral (TNF) (Figura 1). A IL-6, por sua vez diminui a síntese hepática de albumina, além causar a supressão da produção dessas citocinas pelos macrófagos. A concentração destas proteínas normalmente é baixa, não sendo detectável em animais sadios. Assim, a elevação dos níveis plasmáticos das PFAs é utilizada no diagnóstico e monitoramento de processos. Em humanos, aumento dos níveis séricos é proporcional à intensidade da agressão e da subsequente destruição tecidual.

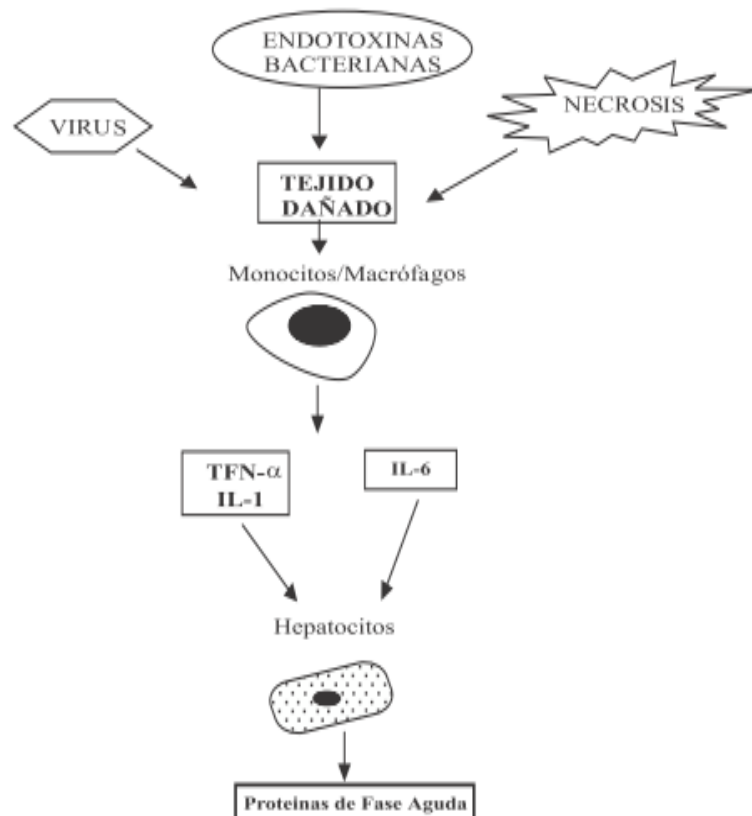


Figura 1. Desencadeamento da resposta de fase aguda.

As proteínas de fase aguda são classificadas segundo dois critérios: o tipo de resposta quantitativa diante de um estímulo e a função biológica que desempenham com base no tipo de variação dos níveis (diminuídos ou aumentados) (Figura 2).

1. Proteínas de fase aguda negativas: são aquelas as quais os níveis diminuem quando se produz a resposta de fase aguda. Dentro deste grupo estão: albumina, pré-albumina e transferrina.

2. Proteínas de fase aguda positivas: são aquelas as quais os níveis aumentam com a resposta de fase aguda. Dentro deste critério existem diferenças entre os tipos de proteínas, como:

- aquelas cujos níveis aumentam em 50%.
- aquelas que apresentam aumentos de 2 a 3 vezes sua concentração normal.
- aquelas que apresentam aumentos rápidos de até 1000 vezes sua concentração normal.

Segundo suas funções biológicas se diferenciam em:

a. Proteínas de Fase aguda que interferem na defesa do hospedeiro. Neste grupo estão as proteínas que intervêm na adaptação ou defesa do organismo frente ao patógeno como:

- Proteína C reactiva (PCR)

- Proteína amilóide A sérica (SAA)
- Componentes do complemento
- Fibrinogênio

b. Proteínas inibidoras das proteases séricas. Estas proteínas tem um papel muito importante, limitando a atividade das enzimas liberadas pelas células fagocíticas protegendo a integridade dos tecidos do hospedeiro. Dentro deste grupo estão:

- α 1-antitripsina
- α 1-antiquimiotripsina

c. Proteínas transportadoras com atividade antioxidante. Este grupo de proteínas tem uma importante função protegendo os tecidos do hospedeiro dos metabolitos do oxigênio que são liberados pelas células fagocíticas durante a inflamação. Neste grupo estão:

- Ceruloplasmina
- Haptoglobina
- Hemopexina

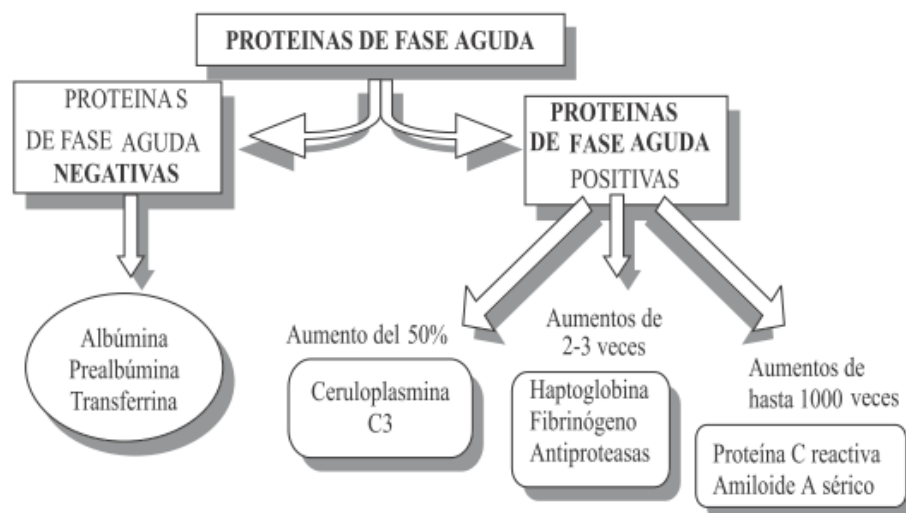


Figura 2. Classificação das proteínas de fase aguda, segundo o tipo e a magnitude de sua resposta (MARTINEZ-SUBIELA et al., 2001).

Estudos demonstram que as proteínas de fase aguda tem comportamento em cada espécie. As proteínas que apresentam um maior aumento são diferentes em cada espécie, em bovinos a proteína amilóide sérica e a haptoglobina são consideradas as principais proteínas de fase aguda, já no porco predomina a proteína C reativa assim como na espécie canina. Em equinos a principal proteína de fase aguda é a proteína amiloide sérica A (MARTINEZ-SUBIELA et al., 2001).

Proteínas de fase aguda nas diferentes espécies

Caninos

A proteína C-reativa (PCR) é a mais importante das APPs. A PCR é uma α -globulina característica de vertebrados que foi descoberta por Tillet e Francis, em 1930, no soro dos pacientes com pneumonia aguda produzida por *Streptococcus*. A PCR é a primeira proteína descrita com relação a um processo patológico agudo. O termo "proteína C-reativa" é derivado de sua capacidade em reagir com a proteína pneumocócica C através de fosforilcolina. A ligação da PCR com bactérias, fungos e parasitas são dependentes de Ca^{2+} , estando associada com a via clássica da ativação do complemento, resultando na formação de C3b. Após a interação com vários ligantes a PCR exerce outras funções, semelhantes aos anticorpos, como a aglutinação, mas sem especificidade. A PCR amplifica mecanismos de quimiotaxia fagocitose de macrófagos e neutrófilos. Semelhante a outras APPs, a PCR é sintetizada pelos hepatócitos, e sua síntese é amplificada em infecções agudas, inflamações, doenças neoplásicas e autoimunes. Nessas condições patológicas, a concentração de PCR sérica aumenta rapidamente, sendo evidente em algumas horas após a infecção. Conclusivamente, a PCR tem funções inespecíficas, independentes do sistema imunológico, em resposta precoce e mecanismos de defesa contra doenças infecciosas e outras condições patológicas.

Hoje, a PCR é a APPs de maior interesse em seres humanos, nos quais é um importante marcador de infecção, doença autoimune, trauma, malignidade e necrose do miocárdio incluindo infarto. Em estudo realizado em mais de 900 casos de inflamação em cães com várias doenças, as concentrações de PCR foram correlacionados com a doença, enquanto apenas pouco ou nenhuma correlação foi encontrada com a contagem total de leucócitos e bastonetes.

Os animais saudáveis apresentam concentração sérica de PCR entre 0 e 13,93 $\mu\text{g/mL}$. Estes valores são semelhantes com estudos reportados sobre níveis da concentração de PCR em cães normais.

Vários estudos têm demonstrado uma associação entre os níveis de APPs e da gravidade da doença. Em estudo realizado com cães apresentando babesiose de ocorrência natural, os níveis de PCR foram significativamente mais elevados em cães com doença grave ou complicada. Na leishmaniose canina, a PCR foi aumentada em animais assintomáticos, mas não sintomáticos.

Alem disso, em estudo realizado em cães obesos pode-se concluir que a produção de PCR é inibida pela obesidade e resistência à insulina em cães. Assim como estudos demonstram que a PCR é um marcador de prognóstico válido em várias condições específicas, incluindo síndrome abdômen agudo, doença inflamatória intestinal, anemia hemolítica autoimune, pancreatite aguda, poliartrite, leptospirose, neoplasias como, por exemplo, osteossarcoma e neoplasias mamárias, além de complicações cirúrgicas.

Ruminantes

Na espécie bovina as proteínas de fase aguda que tem maior incremento durante a inflamação são haptoglobina e o amilóide A sérico, por este motivo são as proteínas mais avaliadas nesta espécie. As concentrações plasmáticas de haptoglobina se incrementam em condições inflamatórias ou infecciosas, considerando-se como uma das principais proteínas de fase aguda em quase todas as espécies, especialmente bovinos, uma vez que em condições fisiológicas, os níveis de haptoglobina nesta espécie não são detectáveis, aumentando consideravelmente na presença de um processo inflamatório.

Em ruminantes pode-se utilizar a haptoglobina como indicador de transtornos metabólicos como a lipidose hepática, acidose, cetose e estresse. Além disso estudos indicam que o aumento da haptoglobina ocorre juntamente com o aumento de células somáticas na mastite subclínica.

Em bovinos, o aumento da concentração de haptoglobina no soro ou plasma foi encontrado depois após inflamação induzida experimentalmente, trauma e também depois doenças inflamatórias naturais. Também esta relacionada com a gravidade de infecções respiratórias experimentais. Em estudo realizado a campo em bovinos com hipocalcemia e cetose não foram encontrados aumentos na concentração.

Na doença respiratória experimental induzida causada por duas vacinas separadas de bovino *herpesvírus* tipo 1 e de *Pasteurella haemolytica* sorotipo A1, ocorreu um aumento da concentração sérica. O aumento foi encontrado em apenas alguns animais, após a primeira inoculação (vírus herpes bovina 1). Em bezerros apenas infectados com *P. haemolytica* sorotipo A1, não houve aumento na concentração sérica de Hp. Em relação às doenças do trato respiratório observou-se uma alta, porém variável, elevação.

Suínos

Em suínos as APPs mais utilizadas são a haptoglobina, proteína C reativa e a Pig-MAP. Segundo estudos as concentrações séricas de haptoglobina e proteína C reativa P não mudam significativamente no antes de 6 a 21 semanas de idade, exceto após a vacinação, porém a Pig-MAP mostrou um perfil diferente, sua concentração sérica foi maior nas 6 semanas e diminuiu progressivamente até as 10 semanas. Estes resultados se mostram similares aos descritos em suínos de engorda, o que sugere que valores maiores eram devido ao estresse causado pelo desmame. Destaca-se que não se observaram diferenças nas concentrações séricas de nenhuma das três APPs após o transporte. Tem se demonstrado que a haptoglobina e proteína C reativa são biomarcadores sensíveis para a enfermidade e vacinação frente à doença de Aujeszky, porém a Pig-MAP não é muito sensível à vacinação e poderia necessitar um maior tempo de reação para aumentar após a infecção.

Quando se trata de rebanhos este método de análise fornece escassos resultados quanto a infecções e certificação de bem-estar. Porém, permite um rastreamento contínuo de saúde geral dos rebanhos e com relação a problemas de saúde pública.

Equinos

Na espécie equina a APP mais estudada e relevante é proteína amiloide A sérica (SAA). Que tem sido estudado como um indicador de rendimento em equinos utilizados em esportes. Além disso já é utilizado como indicador de condição e escore corporal.

No monitoramento da prenhez os níveis SAA estudos demonstram que este está aumentada mais de 20 vezes em cavalos nas primeiras fases embrionárias. Assim como monitoramento pós-cirúrgico e monitoramento da doença articular.

A avaliação de marcadores inflamatórios como as proteínas de fase aguda (APPs) pode refletir o tipo e a severidade dos processos patológicos subjacentes de cavalos com dor abdominal aguda (cólica). Essa avaliação pode, portanto, auxiliar a avaliação clínica. APPs são principalmente produzidas no fígado, em resposta à inflamação sistêmica e são caracterizadas por um rápido aumento acentuado em resposta à inflamação e rápido retorno à normalidade após a resolução da doença. No entanto, em resposta a estímulos da inflamação local, ocorre uma síntese extra-hepática de APPs em equinos como amiloide sérico A (SAA) e haptoglobina, descrita em vários tecidos incluindo o epitélio intestinal de ratos. Avaliação de APPs no líquido peritoneal (PF) poderia, assim, possivelmente, fornecer informações rápidas e específicas relativas a inflamação intra-abdominal. A SAA é elevada no soro de cavalos com cólica.

Referências bibliográficas

- BAUMANN, H.; GAULDIE, J. The acute phase response. *Immunology Today* 1994; 15(2): 74-80.
- CERÓN, L.L.; ECKERSALL, P.D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. *Veterinary Clinical Pathology*, v. 34, n. 2, p. 85-99, 2005.
- CRAY C, ZAIAS J, ALTMAN NH. Acute Phase Response in Animals: A Review. *Comparative Medicine*. 2009; 59:517–526.
- DINARELLO, C.A. Interleukin-1 and the pathogenesis of the acute-phase response. *The New England Journal of Medicine*, v.311, n.22, p.1413-1418, 1984.
- ECKERSALL, P.D. et al. An immunoturbidimetric assay for canine C-reactive protein. *Veterinary Research Communication*, v.15, p.17-24, 1991.
- FELSBURG, P. J., Immunoglobulins. IN: P.P. PASTORET, P. GRIEBEL, H. BAZIN U. A. GOVAERTS (Hrsg.): *Handbook of vertebrate immunology*. Academic Press, San Diego, London, 268-269, 1998.
- GABAY, C.; KUSHNER, I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *The New England Journal of Medicine* 1999; 11: 448-53.
- GONZÁLEZ F.H.D., MARTÍNEZ-SUBIELA S., CERÓN J.J. Haptoglobina en rumiantes: generalidades y posibles aplicaciones clínicas. *Anales de Veterinaria* 23:5-17. 2007.

- HARR, KE: Diagnosis of systemic inflammatory disease in manatees (*Trichechus manatus latirostris*) [dissertation]. Florida: University of Florida, 2004.
- HEEGAARD P. M. H. Optimal combinations of acute phase proteins for detecting infectious disease in pigs. *Veterinary Research* 2011, 42:50.
- HOSHIYA T, WATANABI D, MATSUOKA T, HORIGUCHI K, MIKI Y, MIZUGUCHI H, ISHII T, NOMURA N, NAGASHIMA Y, OKANIWA A: Acute phase response in toxicity studies II. Findings in Beagle dogs injected with endotoxin or subjected to single-dose toxicity studies. *J Toxicol Sci* 26(2): 95-102, 2001.
- JERGENS AE, SCHREINER CA, FRANK DE, NIYO Y, AHRENS FE, ECKERSALL PD, BENSON TJ, EVANS R. 2003. A scoring index for disease activity in canine inflammatory bowel disease. *J Vet Intern Med*, 17:291–297.
- MARTINEZ-SUBIELA S, TECLES F, ECKERSALL PD, CERON JJ. 2002. Serum concentrations of acute phase proteins in dogs with leishmaniasis. *Vet Rec* 150:241–244.
- MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; TECLES, F.; PARRA, M.D.; CERÓN, J.J. Proteínas de fase aguda: conceptos básicos y principales aplicaciones en medicina veterinaria. *Anales de Veterinaria*. 2001, 17: 99.
- MURATA, H., SHIMADA, N., YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *The Veterinary Journal*, v. 168, p. 28–40, 2004.
- NAKAMURA M, TAKAHASHI M, OHNO K, KOSHINO A, NAKASHIMA K, SETOGUCHI A, FUJINO Y, TSUJIMOTO H. C-reactive protein concentration in dogs with various diseases. *J Vet Med Sci* 70:127–131. 2008.
- OLIVEIRA S.T., MESSICK J.B., BIONDO A.W., SANTOS A.P., GUIMARÃES A.M.S., MOHAMED A.S., PIRES NETO J.A.S., DALMOLIN M.L., GONZÁLEZ F.H.D. 2010. Serum and Urinary C-Reactive Protein Concentrations in dogs with leptospirosis. *Acta Scientiae Veterinariae*. 38(3): 245-249, 2010.
- PEPYS, M.B., BALTZ, M.L. Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentaxine) and serum amyloid A protein. *Adv. Immunol.*, 1983, 34:141-212.
- PEPYS, M.B. e HIRSCHFIELD, G.M. C-reactive protein: a critical update. *The Journal of Clinical Investigation* 2003, 111(12): 1805-1811.
- PETERSEN H. H., NIELSEN J.P., HEEGAARD P.M.H. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Vet. Res.* 35 (2004) 163–187
- PETERSEN, H. H.; NIELSEN, J. P.; HEEGAARD, P. M. H. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Veterinary Research*, v. 35, p. 163-187, 2004.
- SANTOS, V.M.; Cunha, S.F.C.; Cunha, D.F. Velocidade de sedimentação das hemácias: utilidade e limitações. *Rev. Ass. Méd. Brasil* 2000; 46(3): 232-6.
- SCOTT, K.D.; OPPENHEIM, J.J. Proinflammatory cytokines and immunity. In: Paul, W.E. *Fundamental Immunology*. 3ªed. New York: Raven Press; 1993, cap.21, p.801-836.
- TAMAMOTO T, OHNO K, OHMI A, SEKI I, TSUJIMOTO H.. Time course monitoring of serum amyloid A in a cat with pancreatitis. *Vet Clin Pathol* 38:83–86. 2009.
- THOMAS, J.S. Overview of plasma proteins. In: Feldman, B.F.; Zinkl, J.G.; Jain, N.C. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5ªed. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins; 2000, p.891-898.
- VEIGA, A. P. M., PRICE, C. A., OLIVEIRA, S. T., SANTOS A. P., CAMPOS R., BARBOSA P. R., GONZÁLEZ F. H. D., Association of canine obesity with reduced serum levels of C-reactive protein. *J Vet Diagn Invest* 20:224–228 (2008).
- YAMAMOTO, S.; TAGATA, K.; NAGAHATA, H.; ISHIKAWA, Y.; MORIMATSU, M.; NAIKI, M. Isolation of canine C-reactive protein and characterization of its properties. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 1992, 30(4): 329-39.