

Endotoxemia por lipopolissacarídeo (LPS) de *Escherichia coli*, em eqüinos: efeitos de antiinflamatórios nas concentrações sérica e peritoneal do fator de necrose tumoral alfa (TNF-a)

Campebell, R.C.¹;
Peiró, J.R.¹;
Rosa, P.C.S.¹;
Valadão, C.A.A.¹;
Bechara, G.H.¹;
Massoco, C.O.¹

1- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária – Universidade Estadual Paulista – Campus de Jaboticabal – SP

A endotoxina, presente em altas concentrações no lúmen intestinal, não causa alterações patológicas normalmente, devido à barreira mucosa intestinal prevenir sua absorção sistêmica. No entanto, a ruptura desta barreira permite a absorção, que inicia uma cascata de eventos levando ao choque séptico/endotóxico. Dentre as respostas às injeções de LPS em baixas concentrações, a liberação de citocinas, como o fator de necrose tumoral (TNF-a), é um dos principais deflagradores da seqüência de eventos da resposta inflamatória. Os fármacos antiinflamatórios não esteroidais (AINES) têm sido amplamente utilizados por atenuarem os efeitos adversos da endotoxina. Dentre estes, o diclofenaco sódico inibe a síntese de prostaglandina, por inibir a ciclooxigenase, competindo com o ácido aracdônico, de maneira dose dependente. Os glicocorticóides, entre outras atividades antiinflamatórias, reduzem a produção de eicosanóides, inibem a síntese e a atividade do TNF-a e interleucina-1 (IL-1) pelos macrófagos, estabilizam as membranas e previnem da ativação de neutrófilos. Este estudo foi realizado para avaliar o efeito do pré-tratamento com diclofenaco sódico e dexametasona, sobre os níveis de TNF-a no sangue e líquido peritoneal, em eqüinos com endotoxemia induzida por dose subletal (0,1 mg/kg, i.v.) de LPS de *Escherichia coli*. A realização deste estudo foi aprovada pelo Comitê de Ética Animal da instituição de origem. Foram utilizados 15 cavalos machos não castrados, da raça Mangalarga Paulista, com idade entre 2 a 3 anos. Os eqüinos foram divididos em três grupos de cinco animais cada: controle (C); diclofenaco sódico (DS) e dexametasona (DM). A endotoxemia subletal foi induzida pela infusão IV de 0,1 mg/kg de endotoxina de *E. coli* 055:B5 (Sigma Chemical Co, St Louis, USA), administrada em 250 mL de solução de cloreto de sódio a 0,9%, durante 15 minutos. Os cavalos do grupo C receberam solução de cloreto de sódio a 0,9% administrada IV, 30 minutos antes da injeção de LPS. Nos animais do grupo DS foi administrado diclofenaco sódico (Farmavida, Bragança Paulista, SP) (2,2 mg/kg) VO, 1 hora antes do LPS. No grupo DM, os eqüinos receberam dexametasona (Schering-Plough, Rio de Janeiro, RJ) (1,1 mg/kg) IV, 30 minutos antes da injeção de endotoxina. Foram efetuadas as colheitas de sangue venoso e líquido peritoneal de cada animal, antes e 1:15, 3 e 6 horas após a aplicação do LPS. A mensuração da concentração do TNF-a (pg/mL) no soro e líquido peritoneal foi realizada através de ensaio de citotoxicidade, modificando-se um bioensaio *in vitro*, estabelecido por Flick e Gifford, com células da linhagem L929 de fibrossarcoma murino sensíveis ao TNF-a. Os dados foram apresentados como médias \pm erro padrão. Para detectar diferenças das médias entre os grupos, foi utilizada a análise de variância de uma via (One Way ANOVA) seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls. Para detectar diferenças entre os momentos, dentro de cada grupo, foi utilizado a análise de variância de repetições múltiplas de uma via (One Way-RM ANOVA). As diferenças foram consideradas significativas quando $p \leq 0,05$. No soro dos eqüinos do grupo C observou-se aumento significativo de TNF-a 1:15 hora após a indução da endotoxemia (Tabela 1), tanto em relação ao valor basal, quanto aos dos grupos DS e DM. No líquido peritoneal não ocorreu nenhuma diferença estatisticamente significativa. O pico de atividade do TNF-a à 1:15 hora, corrobora com os dados da literatura, que demonstram o aumento da atividade do TNF-a 15 a 30 minutos após indução da endotoxemia, com o pico entre 1 e 2 horas. A quantificação do TNF-a foi realizada inicialmente com células da linhagem WEHI 164 clone 13, mas resultados confiáveis só foram obtidos com linhagem de

Tabela 1. Valores médios e erro padrão da média da concentração sérica de TNF- α (pg/mL), após injeção intravenosa de 0,1 mg/kg de lipopolissacarídeo (LPS) de *E. coli* nos grupos C (controle), DS (diclofenaco sódico) e DM (dexametasona), em eqüinos.

GRUPO	TEMPO (horas)			
	0:00	1:15	3:00	6:00
C	20,1 \pm 1,65	23,4 \pm 0,26*#	21,7 \pm 0,53	21,2 \pm 0,93
DS	20,4 \pm 1,56	19,9 \pm 0,97	19,6 \pm 0,92	19,9 \pm 1,08
DM	20,1 \pm 1,12	20,2 \pm 0,54	19,7 \pm 1,06	19,2 \pm 1,72

*Diferença significante em relação ao valor basal.

#Diferença significante entre os grupos no momento indicado.

ausência de febre, provavelmente pela diminuição ou inibição da produção de PGE₂ e pela inibição da síntese de TNF- α , devido a redução da transcrição do gene TNF e a tradução do TNF RNAm já presente. Concluiu-se que em endotoxemia por LPS IV em eqüinos, houve aumento nos níveis de TNF- α sérico, mas não no líquido peritoneal e que o diclofenaco e a dexametasona inibiram a produção de TNF- α sérico.

célula L929. Barton e Collatos relataram que diferenças nas técnicas de ensaios biológicos, tipo de amostra e na definição de “aumento” de atividade de TNF- α podem induzir a variações na quantificação da citocina. Foi observado que o diclofenaco sódico inibiu a síntese de TNF- α e, conseqüentemente, atenuou os sinais clínicos de hipertermia e hipomotilidade intestinal, por reduzir a ativação da cascata inflamatória. Nos animais que receberam dexametasona, observou-se

Modelo experimental de neurorrafia em eqüinos

Delistoianov, N.¹;
Macoris, D.G.¹;
Godoy, R.F.¹;
Alessi, A.C.¹

1- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista – Campus de Jaboticabal – SP

A reparação cirúrgica de nervos tem como principal meta a restauração da função motora e da sensibilidade. Com a introdução de novas técnicas microcirúrgicas, várias alternativas têm sido propostas para a reparação ou reconstrução de feixes nervosos que sofreram injúria. Na espécie eqüina não foram encontradas pesquisas que avaliem a neurorrafia nessa espécie. Dessa forma, o presente trabalho objetivou avaliar um modelo para técnica de neurorrafia, utilizando o nervo digital palmar (NDP), e também estabelecendo protocolo de avaliação clínica e anatomopatológica. Foram utilizados seis eqüinos adultos clinicamente saudáveis. Os animais foram divididos em três grupos - GI, GII e GIII, cada um com dois animais. A medicação pré-anestésica incluiu tranquilização com xilazina 10%. Decorridos 10 minutos efetuou-se o derrubamento com a administração de éter glicérol guaiacol e a indução da anestesia geral com tiopental sódico. Em seguida os animais foram entubados com sonda orotraqueal e mantidos sob anestesia geral inalatória pelo halotano vaporizado em oxigênio com circuito semifechado. Os animais foram posicionados em decúbito lateral direito e, ao final dos procedimentos, em decúbito lateral esquerdo, para a cirurgia no respectivo membro contralateral. Realizou-se a colocação de uma banda de smarch no sentido do casco até o terço distal do terceiro metacarpiano para evacuação de sangue daquela região, e a anti-sepsia do campo cirúrgico. A neurectomia do NDP lateral e do medial foi realizada segundo a técnica de guilhotina. Após a neurectomia foi realizada a neurorrafia, utilizando-se a sutura epineural (SE), pela aposição dos cotos com pontos simples separados (quatro pontos) com fio náilon 9-0 em um membro. No membro oposto a neurorrafia foi feita utilizando tubo flexível de silicone (SCS). A retenção da câmara de silicone no nervo foi realizada por sutura do epineuro em suas bordas. A seguir foi realizada uma sutura de reaproximação do subcutâneo e, ao término, a sutura de pele com pontos simples separados com fio de náilon. Após a realização da SE e SCS no animal em decúbito lateral direito no NDP lateral de um membro e no NDP medial do outro membro, o animal foi colocado em decúbito oposto para ser realizado o mesmo procedimento cirúrgico, tomando-se o