

Efeitos da privação alimentar de 48 horas na resposta de fase aguda em cavalos

Effects of 48-hour feed deprivation on acute-phase response in horses

Paula Alessandra Di Filippo^{1*} , Bárbara Ribeiro Duarte¹ , Antônio Peixoto Albernaz¹ , Leandro Abreu da Fonseca² ,
Inácio Silva Viana³ , Célia Raquel Quirino¹ 

¹Universidade Estadual do Norte Fluminense "Darcy Ribeiro" (UENF), Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil

²Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, Minas Gerais, Brasil

³Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Jaboticabal, São Paulo, Brasil

*Correspondente: pdf@uenf.br

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da restrição alimentar na resposta de fase aguda em equinos. Vinte cavalos foram submetidos à restrição alimentar por 48 h enquanto outros 12 animais (controle) tiveram livre acesso à água e alimento. Os animais foram monitorados, examinados e amostras de sangue foram coletadas no início (0) do estudo e com 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 e 48 horas de restrição alimentar. Os dados foram submetidos à análise de variância bidirecional com medidas repetidas e a significância estatística foi $P \leq 0,05$. Os cavalos toleraram a restrição alimentar sem complicações clínicas relevantes. A restrição alimentar induziu uma resposta de fase aguda caracterizada pela elevação das concentrações séricas de α_2 -macroglobulina (24-38 h), ceruloplasmina (36-48 h), α_1 -antitripsina (30-48 h), α_1 -glicoproteína ácida (42-48 h) e haptoglobina (42-48 h). A privação de nutrientes eleva os níveis de cortisol circulante, que atua no sistema imunológico inato o qual, então induz a resposta de fase aguda. Em conclusão, a restrição alimentar é um fator estressor físico para equinos, capaz de induzir uma reação proteica de fase aguda, caracterizada pelo aumento na produção de α_2 -macroglobulina, ceruloplasmina, α_1 -antitripsina, α_1 -glicoproteína ácida e haptoglobina.

Palavras-chave: Equinos; Restrição alimentar; Inflamação; Resposta imune; Proteína; Estresse.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of feed restriction on acute-phase response in horses. Twenty horses were deprived of food for 48 h and others 12 animals (control) had free access to water and hay. They were closely monitored and examined, and blood samples were taken at the beginning (0) of the study and 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 and 48 hours afterward. Data were submitted to two-way analysis of variance with repeated measures and statistical significance was $P \leq 0.05$. The horses tolerated feed restriction without serious clinical complications. Feed restriction induced an increase in the acute-phase response by elevating serum concentrations of α_2 -macroglobulin (24-38 h), ceruloplasmin (36-48 h), α_1 -antitrypsin (30-48 h), α_1 -acid glycoprotein (42-48 h) and haptoglobin (42-48 h). Nutrient deprivation raised the levels of circulating cortisol, which acts on the innate immune system, which then induces the acute-phase response. In conclusion, food restriction is a physical stressor for horses, capable of inducing an acute-phase protein reaction, characterized by increased production of α_2 -macroglobulin, ceruloplasmin, α_1 -antitrypsin, α_1 -acid glycoprotein and haptoglobin.

Keywords: Equine; Feed restriction; Inflammation; Immune response; Proteins; Stress.

Recebido: 31 de março de 2022. Aceito: 13 de julho de 2022. Publicado: 9 de agosto de 2022.



Introdução

Os equinos estão inevitavelmente expostos ao estresse durante sua vida, incluindo estressores psicológicos, fisiológicos e físicos associados às práticas rotineiras de manejo⁽¹⁾. Um exemplo é a restrição alimentar. Existem várias situações na criação de cavalos em que o consumo de ração é deficiente, seja devido à escassez de ração (por exemplo, clima severo, confinamento físico, transporte, seca, superlotação, competições, exercícios) ou resultante de uma resposta adaptativa (por exemplo, medo, isolamento social, cirurgia, doença, mudança de rotina ou condições de vida)⁽²⁾. A diminuição da ingestão de energia e nutrientes pode afetar o desempenho e a defesa imunológica do hospedeiro. Essas respostas imunes induzidas pelo estresse podem desencadear uma resposta de fase aguda (RFA). Em bovinos, a privação de ração e água também pode perturbar a flora ruminal e causar morte microbiana, resultando na liberação de endotoxinas microbianas, que também podem ativar o sistema imunológico e causar uma resposta de fase aguda⁽³⁾.

A RFA sistêmica é um componente não específico da resposta imune inata. É a reação sistêmica a distúrbios locais ou sistêmicos causados por trauma, infecção, cirurgia, neoplasia, inflamação ou estresse, cujo objetivo é o restabelecimento da homeostase e cicatrização^(4,5). Nas primeiras horas de RFA, a síntese proteica no fígado e a secreção de hepatócitos são drasticamente alteradas, e há mudanças mensuráveis na concentração sérica de várias proteínas plasmáticas, denominadas proteínas de fase aguda (APPs)⁽⁵⁾. Nesse contexto, a privação alimentar na criação de cavalos impõe algum grau de estresse aos animais e afeta negativamente seu bem-estar. Os níveis séricos de proteínas de fase aguda são potenciais indicadores fisiológicos de estresse causado pela privação alimentar em bovinos^(4,5). No entanto, não foi determinado se isso também ocorre em cavalos e, em caso afirmativo, quanto tempo levaria para que uma resposta mensurável de APP aos estressores ocorresse em cavalos.

O presente estudo foi desenhado para determinar a resposta de fase aguda (RFA) em equinos submetidos à privação alimentar por 48 horas. Hipotetizamos que a privação alimentar provocaria reações de APP dentro de 48 h, provavelmente associadas ao estresse de inapetência.

Material e métodos

Animais e adaptação

O desenho deste estudo estava de acordo com as normas brasileiras de ética animal e foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro (protocolo número 384). Trinta e dois castrados sem raça definida foram estudados (idade $6,4 \pm 2,0$ anos, peso $404,19 \pm 46,93$ kg). Os animais pertenciam a uma única fazenda e o proprietário consentiu com seu uso neste estudo. O escore de condição corporal inicial (ECC) variou de 3,0 a 4,0 pontos, onde a escala de ECC varia de 0 = emaciado a 5 = obeso⁽⁶⁾. Os cavalos foram submetidos a exame físico antes

da inclusão no estudo e foram considerados clinicamente normais. Todos os cavalos foram vermifugados regularmente e nenhum recebeu qualquer outra medicação pelo menos nas últimas 4 semanas. A dieta dos cavalos consistia de feno de capim *ad libitum* no momento em que o estudo começou.

Design experimental

Os animais foram alocados em grupo controle (12 animais) e grupo restrito (grupo FR = 20 animais), com médias de ECC, peso corporal e idade semelhantes em ambos os grupos. Os dois grupos foram alojados separadamente em dois piquetes idênticos sob luz natural em um abrigo aberto ao ar livre. O piquete tinha piso de concreto sem vegetação. O estudo foi realizado no verão, no qual a temperatura média mínima foi de $24,2 \pm 0,4$ °C e a máxima de $32,6 \pm 0,6$ °C, com umidade relativa média de $75,0 \pm 1,8\%$. Os animais eram normalmente mantidos em piquete durante todo o ano com feno e sal mineralizado *ad libitum*. Durante o período experimental, o grupo controle (CT) teve acesso livre à água e feno, enquanto o grupo restrito (FR) teve acesso livre apenas à água.

Amostras e análises laboratoriais

O sangue foi primeiramente coletado (T0) da veia jugular externa direita com cateter 12G após um período de aclimação de 7 dias, 4 horas após o recebimento do feno pela manhã. Amostras de sangue adicionais foram coletadas 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 e 48 horas depois. As amostras foram retiradas com seringa de 10 ml e depois transferidas para tubos de coleta sem anticoagulante. As amostras foram centrifugadas (4380g) e o soro foi colocado em tubos Eppendorf, que foram armazenados a -20 °C por 7 dias até a análise bioquímica.

As proteínas totais foram determinadas pelo método Biuret⁽⁷⁾ (Labquest, CELM - E-225-D, BR). As proteínas de fase aguda sérica e peritoneal foram medidas por eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil sulfato de sódio (SDS)⁽⁸⁾, de acordo com as instruções do fabricante. Os pesos moleculares e as concentrações das frações proteicas foram determinados por videodensitometria computadorizada (CS 9000, Shimadzu Corp., Kyoto, Japão). Marcadores de referência (Sigma Chemical Co., St Louis, EUA) foram usados para caracterizar proteínas, com pesos moleculares de 29, 45, 66, 97.4, 116 e 205 kDa. Além disso, a migração eletroforética de proteínas foi comparada com a de proteínas puras, incluindo albumina, transferrina, haptoglobina, ceruloplasmina, IgA, IgG, α_1 -antitripsina e glicoproteína ácida. Todas as amostras foram analisadas no mesmo gel.

Análise estatística

Os dados foram expressos como média \pm DP e a significância estatística foi estabelecida em $P \leq 0,05$ para todas as análises. Os dados coletados sem jejum foram comparados com os dados gerados durante a privação

alimentar. ANOVA de duas vias com medidas repetidas, com tempo e estado de alimentação como fatores foi utilizada. O teste de Tukey foi aplicado para comparação post hoc. Todos os cálculos estatísticos foram realizados usando SAS⁽⁹⁾.

Resultados

Durante o estudo não foram observadas alterações clínicas e comportamentais graves nos cavalos privados de alimento, embora os cavalos com restrição alimentar fossem

mais letárgicos, permaneceram alertas e interessados em seus arredores. A restrição alimentar induziu um aumento na resposta de fase aguda em cavalos, elevando as concentrações séricas de α_2 -macroglobulina (24-38 h), ceruloplasmina (36-48 h), α_1 -antitripsina (30-48 h), α_1 -glicoproteína ácida (42-48 h) e haptoglobina (42-48 h) (Tabelas 1 e 2). No entanto, a restrição alimentar não afetou as concentrações da proteína sérica total, transferrina (Tf), cadeias pesadas de imunoglobulina G (IgG-H), cadeias leves de imunoglobulina G (IgG-L) e apolipoproteína (Apo).

Tabela 1. Efeitos da restrição alimentar na proteína sérica total, α_2 -macroglobulina (α_2 M), ceruloplasmina (CP), transferrina (Tf) e α_1 -antitripsina (α_1 -AT) em cavalos

Parâmetros		Horas de restrição alimentar								
		0	6	12	18	24	30	36	42	48
Proteína Total (g L ⁻¹)	CG	7,54 ^{Aa} ±0,45	7,61 ^{Aa} ±0,47	7,70 ^{Aa} ±0,59	7,75 ^{Aa} ±0,56	7,82 ^{Aa} ±0,80	7,87 ^{Aa} ±1,25	7,88 ^{Aa} ±0,89	8,13 ^{Aa} ±0,77	8,20 ^{Aa} ±0,93
	FA	7,32 ^{Aa} ±0,5	7,40 ^{Aa} ±0,93	7,60 ^{Aa} ±0,95	7,53 ^{Aa} ±1,07	7,60 ^{Aa} ±0,70	7,73 ^{Aa} ±0,88	7,88 ^{Aa} ±1,16	8,26 ^{Aa} ±1,28	8,06 ^{Aa} ±1,31
α_2 M (mg/dl)	CG	241,2 ^{Aa} ±94,4	237,2 ^{Aa} ±86,6	244,9 ^{Aa} ±113,2	225,0 ^{Aa} ±97,8	237,1 ^{Aa} ±87,5	261,3 ^{Aa} ±137,8	224,1 ^{Aa} ±68,4	277,2 ^{Aa} ±133,5	206,7 ^{Aa} ±133,5
	FA	183,6 ^{Aa} ±100,5	238,7 ^{Aa} ±182,4	220,5 ^{Aa} ±104,2	244,9 ^{Aa} ±146,8	287,0 ^{Aa} ±175,0	296,6 ^{Aa} ±197,2	322,0 ^{Aa} ±225,2	351,4 ^{Aa} ±200,4	262,1 ^{Aa} ±212,6
CP (mg/dl)	CG	110,0 ^{Aa} ±38,3	117,2 ^{Aa} ±43,0	128,3 ^{Aa} ±54,3	110,0 ^{Aa} ±59,9	115,7 ^{Aa} ±55,3	117,3 ^{Aa} ±72,4	125,0 ^{Ba} ±103,2	108,0 ^{Ba} ±76,1	102,4 ^{Ba} ±56,0
	FA	99,8 ^{Aa} ±49,3	112,7 ^{Aa} ±71,2	107,9 ^{Aa} ±64,0	109,6 ^{Aa} ±50,2	121,4 ^{Aa} ±71,0	123,7 ^{Aa} ±68,9	186,0 ^{Aa} ±81,9	183,5 ^{Aa} ±69,2	172,7 ^{Aa} ±93,7
Tf (mg/dl)	CG	611,9 ^{Aa} ±221,1	685,3 ^{Aa} ±277,6	639,3 ^{Aa} ±219,9	595,3 ^{Aa} ±229,1	678,9 ^{Aa} ±194,0	613,8 ^{Aa} ±265,6	636,9 ^{Aa} ±331,5	702,2 ^{Aa} ±289,8	667,2 ^{Aa} ±329,6
	FA	588,9 ^{Aa} ±187,1	672,2 ^{Aa} ±251,3	579,1 ^{Aa} ±228,4	620,5 ^{Aa} ±278,1	670,9 ^{Aa} ±243,0	585,8 ^{Aa} ±258,3	659,2 ^{Aa} ±272,5	719,4 ^{Aa} ±214,2	721,6 ^{Aa} ±234,2
α_1 -AT (mg/dl)	CG	245,0 ^{Aa} ±176,2	204,6 ^{Aa} ±72,8	274,1 ^{Aa} ±214,7	222,9 ^{Aa} ±149,9	224,0 ^{Aa} ±92,1	213,6 ^{Ba} ±105,7	193,2 ^{Ba} ±34,6	158,7 ^{Ba} ±102,8	209,1 ^{Ba} ±77,6
	FA	237,3 ^{Aa} ±82,2	274,7 ^{Aa} ±85,5	256,3 ^{Aa} ±76,2	301,4 ^{Aa} ±232,1	226,9 ^{Aa} ±79,3	331,7 ^{Aa} ±72,9	325,3 ^{Aa} ±69,6	284,3 ^{Aa} ±76,0	397,9 ^{Aa} ±108,2

GC = grupo controle; RA = restrição alimentar. As médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre os grupos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Médias seguidas de diferentes letras minúsculas na mesma linha indicam diferenças significativas entre os tempos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 2. Efeitos da restrição alimentar na concentração sérica de cadeias pesadas de imunoglobulina G (IgG-H), cadeias leves de imunoglobulina G (IgG-L), α_1 -glicoproteína ácida (AGP), haptoglobina (Hp) e apolipoproteína (Apo) em cavalos

Parâmetros		Horas de restrição alimentar								
		0	6	12	18	24	30	36	42	48
IgG-H (mg/dl)	CG	957,9 ^{Aa} ±421,1	973,9 ^{Aa} ±511,6	877,1 ^{Aa} ±389,9	896,3 ^{Aa} ±508,2	935,6 ^{Aa} ±284,1	965,8 ^{Aa} ±505,2	884,1 ^{Aa} ±331,6	1109,3 ^{Aa} ±533,9	941,4 ^{Aa} ±397,9
	RA	805,4 ^{Aa} ±396,7	940,9 ^{Aa} ±395,9	957,8 ^{Aa} ±406,3	877,2 ^{Aa} ±457,9	931,3 ^{Aa} ±357,5	916,3 ^{Aa} ±526,9	843,8 ^{Aa} ±374,4	1004,2 ^{Aa} ±395,3	898,7 ^{Aa} ±403,7
IgG-L (mg/dl)	CG	1159 ^{Aa} ±477,7	1062 ^{Aa} ±529,2	971 ^{Aa} ±503,7	1052 ^{Aa} ±388,1	1052 ^{Aa} ±324,7	1300 ^{Aa} ±507,1	1215 ^{Aa} ±502,5	1201 ^{Aa} ±434,2	1158 ^{Aa} ±487,6
	RA	1263 ^{Aa} ±544,1	1317 ^{Aa} ±477,0	1198 ^{Aa} ±546,1	1188 ^{Aa} ±557,1	1194 ^{Aa} ±406,0	1164 ^{Aa} ±466,5	1080 ^{Aa} ±261,8	1158 ^{Aa} ±521,7	1241 ^{Aa} ±549,7
AGP (mg/dl)	CG	161,0 ^{Aa} ±148,2	136,8 ^{Aa} ±76,1	145,4 ^{Aa} ±60,4	162,3 ^{Aa} ±137,6	147,5 ^{Aa} ±94,6	156,7 ^{Aa} ±106,9	137,1 ^{Aa} ±109,9	150,9 ^{Ba} ±127,5	136,1 ^{Ba} ±111,8
	RA	140,3 ^{Aa} ±46,1	149,2 ^{Aa} ±82,7	142,2 ^{Aa} ±83,8	162,1 ^{Aa} ±87,6	160,2 ^{Aa} ±86,9	164,6 ^{Aa} ±109,4	155,8 ^{Aa} ±83,6	209,9 ^{Aa} ±110,1	283,6 ^{Aa} ±95,5
Hp (mg/dl)	CG	300,2 ^{Aa} ±180,4	291,4 ^{Aa} ±144,9	327,3 ^{Aa} ±190,8	285,4 ^{Aa} ±146,9	325,2 ^{Aa} ±176,8	343,1 ^{Aa} ±199,1	352,7 ^{Aa} ±206,4	342,3 ^{Ba} ±221,0	336,9 ^{Ba} ±182,3
	RA	286,3 ^{Aa} ±114,72	307,9 ^{Aa} ±142,9	328,9 ^{Aa} ±207,6	319,1 ^{Aa} ±169,4	337,6 ^{Aa} ±166,3	319,4 ^{Aa} ±146,0	327,6 ^{Aa} ±148,8	484,7 ^{Aa} ±156,5	450,4 ^{Aa} ±169,0
Apo (mg/dl)	CG	589,9 ^{Aa} ±206,5	556,9 ^{Aa} ±296,0	513,0 ^{Aa} ±61,2	487,7 ^{Aa} ±102,2	465,9 ^{Aa} ±81,72	552,3 ^{Aa} ±188,1	590,6 ^{Aa} ±235,4	534,1 ^{Aa} ±147,6	552,6 ^{Aa} ±125,1
	RA	509,9 ^{Aa} ±253,4	512,8 ^{Aa} ±150,4	480,5 ^{Aa} ±183,0	531,8 ^{Aa} ±203,6	523,4 ^{Aa} ±169,4	565,8 ^{Aa} ±187,9	500,5 ^{Aa} ±167,6	539,0 ^{Aa} ±197,2	550,7 ^{Aa} ±198,9

GC = grupo controle; RA = restrição alimentar. As médias seguidas de letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas entre os grupos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Médias seguidas de diferentes letras minúsculas na mesma linha indicam diferenças significativas entre os tempos pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Discussão

Todos os animais submetidos à restrição alimentar de 48 horas tornaram-se mais letárgicos em relação aos animais controle, mas não apresentaram alterações comportamentais graves. Os animais em geral possuem um mecanismo sutil que lhes permite lidar com estímulos ambientais e manter a homeostase. Muitos fatores ambientais podem causar estresse, e esses estressores podem ser separados em estresse psicológico, estresse físico e uma combinação de ambos⁽¹⁰⁾. Quando os animais são transportados, manuseados, misturados e/ou isolados, sofrem estresse psicológico^(11, 12, 13). Temperaturas extremas ou escassez de alimentos são exemplos de estresse físico e induzem diretamente respostas de estresse no corpo. Alguns estressores, como ruído, dor, contenção e desmame são tanto psicológicos quanto físicos⁽¹⁴⁾. O estresse em animais tem importantes implicações econômicas e é reconhecido como um problema de saúde¹⁵. A resposta imune é um dos mecanismos pelos quais os animais se defendem frente os desafios ambientais⁽¹⁰⁾. A resposta de fase aguda é um componente não específico da imunidade inata capaz de identificar essas situações estressantes em animais⁽³⁾.

Neste estudo, descobrimos que a restrição alimentar influenciou a resposta da fase aguda. Os cavalos apresentaram concentração significativamente elevada de α_2 -macroglobulina, ceruloplasmina, α_1 -antitripsina, α_1 -glicoproteína ácida e haptoglobina. Estudos anteriores também investigaram mudanças na resposta de fase aguda como potenciais biomarcadores de estresse. Kim et al.⁽¹⁰⁾ relataram que o desmame (incluindo restrição de leite) causou aumentos significativos na relação neutrófilos e significativa redução de linfócitos. Neste mesmo estudo, a concentração de haptoglobina e amiloide A sérica também aumentou significativamente, assim como os níveis séricos de fator de necrose tumoral- α e cortisol. Este estudo também revelou que houve uma diminuição significativa dos níveis de interferon- γ em relação aos valores obtidos antes do desmame. O desmame também diminuiu significativamente a porcentagem de células T CD25+ no sangue periférico. Para os autores, o estresse, psicológico e físico, do desmame pode induzir uma resposta de fase aguda possivelmente pela elevação da produção de cortisol e citocinas de modulação da inflamação.

A privação de ração e água durante longos períodos de transporte (24 horas) também contribuiu para a resposta de fase aguda e afetou negativamente o desempenho em bovinos de corte⁽¹⁷⁾. Para os autores, a restrição de ração e água são as principais causas para a reação de fase aguda e confinamento desempenho de recepção tipicamente detectado em gado de corte transportado⁽¹⁷⁾. De acordo com Marques et al.⁽¹⁸⁾ a privação alimentar por 24 h com acesso regular à água é a principal fonte de reação neuroendócrina e de fase

aguda, incluindo concentração elevada de cortisol circulante, AGNE e ceruloplasmina em novilhas de corte em crescimento. Em ratos, um estudo revelou que a desnutrição induziu a expressão de IL-6 e α_2 -macroglobulina nesses animais⁽¹⁹⁾. A elevação de glicocorticóides durante a privação de nutrientes tem sido sugerida como um possível mecanismo para induzir citocinas pró-inflamatórias e a resposta de APP induzida por estresse em bovinos^(4, 20). Por outro lado, os efeitos específicos da restrição alimentar na resposta de fase aguda e proteínas de fase aguda não foram ainda foi determinado em cavalos. Além disso, eventos de privação de nutrientes também podem perturbar a flora ruminal e causar morte microbiana, resultando na liberação de endotoxinas microbianas, que por sua vez podem desencadear uma resposta de fase aguda⁽³⁾.

Acredita-se que as proteínas de fase aguda sejam os melhores marcadores de infiltração do conteúdo luminal intestinal, e essas proteínas produzidas no fígado como resposta secundária a estímulos tóxicos têm sido amplamente utilizadas como indicadores de inflamação sistêmica⁽²¹⁾. a concentração ruminal leva 72 h para retornar aos seus níveis iniciais⁽²²⁾, diminuindo a capacidade fermentativa ruminal e o consumo de ração de bovinos^(23, 24). Em um estudo com 28 vacas Holandesas, a restrição alimentar a 40% da ingestão *ad libitum* por 5 dias afetou negativamente a arquitetura intestinal, caracterizada particularmente pela redução da altura das vilosidades do íleo e da profundidade das criptas⁽²⁵⁾. Existem várias situações na criação de cavalos em que o consumo de ração é subótimo. Além da resposta da APP induzida pelo estresse, essas situações podem ter importantes implicações intestinais nesses animais.

Corroborando com os achados de proteína de fase aguda descritos, achados publicados anteriormente revelaram que durante o jejum, houve redução da resposta leucocitária. Houve também uma diminuição nos sons gastrointestinais em comparação com os cavalos controle. No entanto, o jejum não teve efeito sobre a massa corporal e escore de condição corporal, frequência cardíaca, frequência respiratória, tempo de enchimento capilar e temperatura corporal⁽²⁶⁾. A ulceração grave da mucosa epitelial escamosa gástrica, causada pelo excesso de acidez, pode se desenvolver rapidamente em cavalos privados de ração ou que não consomem ração⁽¹⁶⁾. No estudo citado, a ulceração gástrica foi induzida em equinos alternando períodos de 24 horas de privação alimentar e acesso *ad libitum* ao feno, totalizando 96 horas de privação alimentar⁽¹⁶⁾. Entretanto, em nosso estudo, não foram observados sinais clínicos compatíveis com o desenvolvimento de úlceras gástricas, mas o exame gastroscópico seria a técnica mais indicada para esse diagnóstico. E os animais foram submetidos a um menor período de restrição alimentar (48 horas).

Conclusão

Os resultados obtidos no presente estudo sugerem que a restrição alimentar por 48 horas nos equinos induziu reação proteica de fase aguda caracterizada pelo aumento da produção de α_2 -macroglobulina, ceruloplasmina, α_1 -antitripsina, α_1 -glicoproteína ácida e haptoglobina. Os achados são devido ao estresse e liberação de cortisol. O estresse desencadeado pela restrição alimentar provavelmente tem implicações importantes para a saúde dos equinos.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Contribuições do autor

Análise formal: P. A. Di Filippo, I. S. Viana, A. P. Albernaz, B. R. Duarte, L.A. Fonseca e C. R. Quirino. *Metodologia:* P.A. Di Filippo e B.R. Duarte. *Supervisão:* P.A. Di Filippo. *Aquisição de financiamento:* P.A. Di Filippo. *Redação (esboço original, revisão e edição):* P. A. Di Filippo e I.S. Viana.

Agradecimentos

Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal Universitário (CAPES) - Código de Finanças 001.

Referências

- Park SK, Jung HJ, Choi YL, Kwon OS, Jung YH, Cho C, Yoon M. The Effect of Living Conditions on Stress and Behavior of Horses. *Journal of Animal Science and Technology*. 2013;55: 325-330. <https://doi.org/10.5187/JAST.2013.55.4.325>.
- Mason G, Clubb R, Latham N, Vickery S. Why and how should we use environmental enrichment to tackle stereotypic behaviour? *Applied Animal Behaviour Science*. 2007;102:163-188. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2006.05.041>.
- Carroll JA, Reuter RR, Chase CCJR, Coleman SW, Riley DG, Spiers DE, Arthington JD, Galyean ML. Profile of the bovine acute-phase response following an intravenous bolus-dose lipopolysaccharide challenge. *Innate Immunity*. 2009;15(2):81-89. <https://doi.org/10.1177/1753425908099170>.
- Murata H, Shimada N, Yoshioka M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *Veterinary Journal*. 2004;168:28-40. [https://doi.org/10.1016/S1090-0233\(03\)00119-9](https://doi.org/10.1016/S1090-0233(03)00119-9).
- Cray C, Zaias J, Altman NH. Acute phase response in animals: a review. *Comparative Medicine*. 2009;59(6):517-526. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2798837/>
- Carroll CL, Huntington PJ. Body condition scoring and weight estimation of horses. *Equine Veterinary Journal*. 1988, 20(1):41-45. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1988.tb01451.x>.
- Kaneko, J. J.; harvey, J. W.; bruss, M. L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6^a ed. San Diego: Academic Press, 2008.
- Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970;227(5259):680-685. <https://www.nature.com/articles/227680a0>.
- SAS. Institute. *Statistical Analysis System: user guide [CD-ROM]*. Version 8. Cary (NC): SAS Institute, 1999.
- Kim MH, Yang JY, Padhaya SD, Lee HJ, Yun CH, Ha JK. The stress of weaning influences serum levels of acute-phase proteins, iron-binding proteins, inflammatory cytokines, cortisol, and leukocyte subsets in Holstein calves. *Journal Veterinary Science*. 2011;12(2):151-157. <https://doi.org/10.4142/jvs.2011.12.2.151>.
- Grandin T. Assessment of stress during handling and transport. *Journal of Animal Science*. 1997;75:249-257. <https://doi.org/10.2527/1997.751249x>.
- Arthington JD, Eichert SD, Kunkle WE, Martin FG. Effect of transportation and commingling on the acute-phase protein response, growth, and feed intake of newly weaned beef calves. *Journal of Animal Science*. 2003;81(5):1120-1125. <https://doi.org/10.2527/2003.8151120x>.
- Sunil Kumar BV, Singh G, Meur SK. Effects of addition of electrolyte and ascorbic acid in feeding during heat stress in buffalo. *Asian-Australas Journal of Animal Science*. 2010;23:880-888. <https://doi.org/10.5713/ajas.2010.90053>.
- Kelley KW. Stress and immune function: a bibliographic review. *Annales Recherche Veterinaire*. 1980; 11:445-478. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00901297/document>.
- Lee H, Khan MA, Lee W, Kim H, Ki K, Kang S, Hu TY, Choi Y. Growth, Blood Metabolites, and Health of Holstein Calves Fed Milk Replacer Containing Different Amounts of Energy and Protein. *Journal of Animal Sciences*. 2008;21:198-203. <https://doi.org/10.5713/ajas.2008.70261>.
- Murray MJ, Eichorn ES. Effects of intermittent feed deprivation, intermittent feed deprivation with ranitidine administration, and stall confinement with *ad libitum* access to hay on gastric ulceration in horses. *American Journal of Veterinary research*. 1996;57(11):1599-603. <http://dx.doi.org/10.2376/0005-9366-120-134>.
- Marques RS, Cooke RF, Francisco CL, Bohnert DW. Effects of twenty-four hour transport or twenty-four hour feed and water deprivation on physiologic and performance responses of feeder cattle. *Journal of Animal Science*. 2012;90(13):5040-5046. <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5425>.
- Marques RS, Bohnert DW, Sousa OA, Brandão AP, Schumacher TF, Schubach KM, Vilela MP, Rett B, Cooke RF. Impact of 24-h feed, water, or feed and water deprivation on feed intake, metabolic, and inflammatory responses in beef heifers. *Journal of Animal Science*. 2019;97(1):398-406. <https://doi.org/10.1093/jas/sky397>.
- Lyoumim S, Tamion F, Petit J, Déchelotte P, Dauguet C, Scotté M, Hiron M, Leplingard A, Salier JP, Daveau M, Lebreton JP. Induction and modulation of acute-phase response by protein malnutrition in rats: comparative effect of systemic and localized inflammation on interleukin-6 and acute-phase protein synthesis. *Journal of Nutrition*. 1998; 128(2):166-74. <https://doi.org/10.1093/jn/128.2.166>.
- Cooke RF. Invited paper: nutritional and management considerations for beef cattle experiencing stress-induced inflammation. *The Professional Animal*. 2017; 33:1-11. doi: <https://doi.org/10.15232/pas.2016-01573>.
- Ceciliani F, Ceron JJ, Eckersall PD, Sauerwein H. Acute phase proteins in ruminants. *Journal of Proteomics*. 2012;75(14):4207-4231. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2012.04.004>.
- Galyean ML, Lee RW, Hubbert ME. Influence of fasting and

transit on ruminal and blood metabolites in beef steers. *Journal of Animal Science*. 1981;53:7–18. <https://doi.org/10.2527/jas1981.5317>.

23. Cole NA, Phillips WA, Hutcheson DP. The effect of pre-fast diet and transport on nitrogen metabolism of calves. *Journal of Animal Science*. 1986;62:1719–1731. <https://doi.org/10.2527/jas1986.6261719x>.

24. Cole NA, Hutcheson DP. Influence of prefast feed intake on recovery from feed and water deprivation by beef steers. *Journal of Animal Science*. 1985;60:772–780. <https://doi.org/10.2527/jas1985.603772x>.

25. Kvidera SK, Horst EA, Sanz Fernandez MV, Abuajamieh M, Ganesan S, Gorden PJ, Green HB, Schoenberg KM, Trout WE, Keating AF, Baumgard LH. Characterizing effects of feed restriction and glucagon-like peptide 2 administration on biomarkers of inflammation and intestinal morphology. *Journal Dairy Science*. 2017;100(11):9402-9417. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13229>.

26. Di Filippo PA, Duarte BR, Albernaz AP, Quirino CR. Effects of feed deprivation on physical and blood parameters of horses. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*. 2021;43(1): e000321. <https://doi.org/10.29374/2527-2179.bjvm000321>