

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS DE ARAÇATUBA**

**ESTRESSE OXIDATIVO EM OVINOS DAS RAÇAS
SUFFOLK E SANTA INÊS EXPERIMENTALMENTE
INFECTADOS POR *Haemonchus contortus***

Lillian Baptistioli
Médica Veterinária

ARAÇATUBA – SP
2014

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CÂMPUS DE ARAÇATUBA**

**ESTRESSE OXIDATIVO EM OVINOS DAS RAÇAS
SUFFOLK E SANTA INÊS EXPERIMENTALMENTE
INFECTADOS POR *Haemonchus contortus***

Lillian Baptistioli

Orientador: Prof. Adjunto Paulo César Ciarlini

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – Unesp, Campus de Araçatuba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal (Fisiopatologia Médica e Cirúrgica).

ARAÇATUBA – SP
2014

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

B222e Baptistioli, Lillian.
Estresse oxidativo em ovinos das raças Suffolk e Santa Inês experimentalmente infectados com *Haemonchus contortus* / Lillian Baptistioli. - Araçatuba, 2014

58 f. ; tab. + 1 CD-ROM

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária, Câmpus de Araçatuba

Orientador: Prof. Paulo César Ciarlini

1. Antioxidante 2. Hemoncose 3. Índice de estresse oxidativo 4. Parasita gastrintestinal 5. Peroxidação lipídica I. T.

CDD 636.0896

unesp



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba
Seção Técnica de Graduação e Pós-Graduação



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

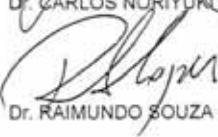
TÍTULO: Estresse oxidativo em ovinos das raças Suffolk e Santa Inês experimentalmente
infectados por *Haemonchus contortus*.

AUTORA: LILLIAN BAPTISTIOLLI

ORIENTADOR: Dr. PAULO CÉSAR CIARLINI


Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRA em CIÊNCIA ANIMAL
(FISIOPATOLOGIA MÉDICA E CIRÚRGICA) pela Comissão Examinadora.


Dr. CARLOS NORIYUKI KANETO


Dr. RAIMUNDO SOUZA LOPES


Dr. PAULO CÉSAR CIARLINI

DATA DA REALIZAÇÃO: 15 de dezembro de 2014.


Presidente da Comissão Examinadora
Dr. PAULO CÉSAR CIARLINI
- Orientador -

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

LILLIAN BAPTISTIOLLI – Natural de Osvaldo Cruz, São Paulo, nascida em 15 de setembro de 1989, filha de Sueli Conceição Baptistiolli. Em 2007, ingressou no curso de Medicina Veterinária das Faculdades Adamantinenses Integradas, onde se graduou como Médica Veterinária em janeiro de 2012 com Trabalho de Conclusão de Curso intitulado “Pancreatite aguda canina” sob orientação da Prof. José Antônio Marciano. Ingressou no curso de Mestrado em Ciência Animal, área de concentração Fisiopatologia Médica e Cirúrgica, na Faculdade de Medicina Veterinária, Unesp, Campus de Araçatuba-SP, em março de 2013, sob orientação do Prof. Adjunto Paulo César Ciarlini, obtendo bolsa de mestrado vinculada a CAPES. Desde então tem participado dos projetos de pesquisa do grupo com os temas relacionados a estresse oxidativo e metabolismo oxidativo.

*“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém
ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê”.*

(Arthur Schopenhauer)

À minha família, às pessoas de luz que encontrei ao longo da minha jornada e em especial à minha estrela-guia, à minha guerreira: vó Rosa.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente e principalmente a Deus, pelas oportunidades oferecidas, pela orientação e proteção.

Na minha vida, Deus veio em formato de uma mulher, bem humorada, amante da vida, capaz de compreender os contrários da condição humana, capaz de amar os avessos, sua passagem no mundo foi rápida, mas o suficiente para deixar eternizado “a boa parte da vida”. Deus visitou o mundo e usou o rosto de uma mulher chamada Rosa Garcia Baptistioli. Especialmente ao meu anjo, vó Rosa, que no mês de agosto deste ano, fez de sua morada o céu; e de lá que ela comemora comigo esta vitória.

À minha família, minha mãe Sueli, meu irmão Jhonny, minha tia Fátima, meus tios Paulo, Reginaldo, meus padrinhos Luis Carlos e Silvia e meus primos Raphael e Natália, por sempre acreditarem em mim e pelas orações e boas vibrações transmitidas.

A toda esta típica família de italianos que amo muito, meu eterno amor e gratidão por todos os momentos compartilhados e conhecimentos adquiridos.

Ao meu orientador de mestrado Prof. Adjunto Paulo César Ciarlini pela confiança, apoio, orientação e ensinamentos transmitidos. Pelo seu exemplo de dedicação, de amor à profissão, pela sua ética e comprometimento com o ensino.

Aos amigos do Laboratório Clínico Veterinário do Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal, Luis Gustavo, Breno Fernando, Anelise Bosco, Jucilene Souza, Priscila Preve, Laine Gabas, Renata Figueiredo, Rafaela Torrecilha, Daniela Matono, Gabriela Quideroli, Mirtes da Silva e Luciana de Moraes.

Ao professor Dr. Carlos Noriyuki Kaneto por todo o auxílio na execução desse projeto de pesquisa e pela tão estimada disposição a ajudar no que fosse preciso.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado durante o primeiro ano do curso.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, pela oportunidade oferecida para a realização do curso de Mestrado.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram na execução dessa pesquisa, sem vocês nada disso seria possível!

Meus sinceros agradecimentos!

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	13
1 Contextualização do problema.....	13
2 Pesquisa bibliográfica.....	14
3 Importância da parasitose na ovinocultura.....	15
4 Estresse oxidativo e hemoncose.....	16
5 Resistência racial.....	20
6 Objetivo.....	22
REFERÊNCIAS.....	22
CAPÍTULO 2 - ESTRESSE OXIDATIVO EM OVINOS DAS RAÇAS SUFFOLK E SANTA INÊS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS POR Haemonchus contortus.....	33
1 INTRODUÇÃO.....	34
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
2.1 Seleção e manejo dos animais.....	36
2.2 Delineamento experimental.....	37
2.3 Colheita e acondicionamento das amostras.....	37
2.4 Análises laboratoriais.....	38
2.5 Quantificação dos marcadores de estresse oxidativo.....	39
2.6 Exames coproparasitológicos.....	39
2.8 Análise estatística.....	40
3 RESULTADOS.....	40

3.1 Diferença da carga parasitária pós-infecção com <i>H. contortus</i> em ovinos da raça Suffolk e Santa Inês.....	40
3.2 Variação dos marcadores de estresse oxidativo pós-infecção com <i>H. contortus</i>	42
3.3 Correlação entre o aumento da carga parasitária, o estresse oxidativo, a anemia e hipoalbuminemia em ovinos infectados experimentalmente por <i>H. contortus</i>	43
4 DISCUSSÃO.....	44
4.1 Ovinos da raça Santa Inês são mais resistentes que os da raça Suffolk à infecção experimental por <i>H. contortus</i>	44
4.2 O estresse oxidativo aumenta durante a infecção com <i>H. contortus</i> e varia conforme a raça.....	45
4.3 Correlação entre o aumento da carga parasitária, o volume globular do sangue, a hipoalbuminemia e o estresse oxidativo em ovinos infectados com <i>H. contortus</i>	47
5 CONCLUSÃO.....	50
6 AGRADECIMENTOS.....	50
REFERÊNCIAS.....	50

ESTRESSE OXIDATIVO EM OVINOS DAS RAÇAS SUFFOLK E SANTA INÊS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS POR *Haemonchus contortus*

RESUMO – Há algumas poucas evidências de que danos teciduais causados por parasitas gastrintestinais em ovinos promovem estresse oxidativo, porém os mecanismos que causam o desequilíbrio entre os oxidantes e antioxidantes não estão bem estabelecidos. O presente trabalho objetivou comprovar a hipótese de que o estresse oxidativo ocorre em ovinos infectados por *Haemonchus contortus* e que este varia com a resistência racial. Para tanto foram investigadas as relações entre o estresse oxidativo causado pela infecção por *H. contortus*, a carga parasitária, a anemia e a hipoalbuminemia. Para tal, ovinos da raça Suffolk (n=15) e Santa Inês (n=22) foram desverminados e após confirmado a ausência de ovos nas fezes (dia 0), todos animais foram infectados por via oral com 5000 larvas de terceiro estágio (L3) de *H. contortus*. A quantidade de ovos por grama de fezes (OPG) e a concentração de diferentes marcadores plasmático de estresse oxidativo (peroxidação lipídica, albumina, ácido úrico, bilirrubina total, capacidade antioxidante total, concentração de oxidante total e o índice de estresse oxidativo) foram quantificadas antes (dia 0) e com 28, 32 e 42 dias da infecção experimental, em ambas as raças. As alterações dos biomarcadores de estresses oxidativo pós-infecção variaram com a raça, tendo em comum ovinos Suffolk e Santa Inês um aumento de TOC no dia 28, seguido de um aumento de TAC no dia 42. Ovinos da raça Suffolk apresentaram maior carga parasitária em todos os momentos pós-infecção, sendo que nesta raça o OPG correlacionou-se com a concentração de oxidante total (TOC) ($r=0,58$; $p<0,02$) e na raça Santa Inês o OPG se correlacionou com a bilirrubina ($r=0,49$; $p<0,02$). As alterações dos marcadores de estresse oxidativo pós-infecção não foram associados à anemia e à hipoalbuminemia. Durante os primeiros 42 dias pós-infecção com *H. contortus*, o índice de estresse oxidativo variou de acordo com a raça, em parte devido ao aumento na produção de oxidante causada provavelmente pela lesão tecidual e também em função de um provável aumento compensatório na síntese de antioxidante. A diferença racial observada no presente estudo quanto ao perfil dos marcadores de estresse oxidativo é provavelmente uma das primeiras evidências de que o status antioxidante pode contribuir para resistência ao *H. contortus* em ovinos. Os resultados obtidos sugerem ainda que o emprego de antioxidantes potencialmente podem contribuir para controle da hemocose ovina, assim como sendo importante ampliar os estudos nesta linha de investigação uma vez que a ovinocultura necessita de meios alternativos para controle dessa parasitose.

Palavras-Chave: antioxidante, hemocose, índice de estresse oxidativo, parasita gastrintestinal, peroxidação lipídica

OXIDATIVE STRESS IN SHEEP OF SUFFOLK AND SANTA INES BREEDS EXPERIMENTALLY INFECTED WITH *Haemonchus contortus*

SUMMARY – There are some little evidence that tissue damage caused by gastrointestinal parasites in sheep promote oxidative stress, but the mechanisms that cause the imbalance between oxidants and antioxidants are not well established. This study aimed to prove the hypothesis that oxidative stress occurs in sheep infected with *Haemonchus contortus* and that this varies with racial resistance. Therefore, we investigated the relationship between oxidative stress caused by infection with *H. contortus*, the parasite load, anemia and hypoalbuminemia. To this end, Suffolk sheep breed (n = 15) and Santa Inês (n = 22) were wormed and after confirmed the absence of eggs in the feces (day 0), all animals were infected orally with 5000 third-stage larvae (L3) from *H. contortus*. The number of eggs per gram of feces (EPG) and the concentration of different plasma markers of oxidative stress (lipid peroxidation, albumin, uric acid, total bilirubin, total antioxidant capacity, total oxidant concentration and oxidative stress index) were quantified before (day 0) and 28, 32 and 42 days of experimental infection in both breeds. The amendments to the post-infection oxidative stress biomarkers varied with the race, having in common Suffolk and Santa Inês sheep the total oxidant concentration (TOC) increase on the 28th, followed by an increase of TAC on day 42. Breed Sheep Suffolk had higher parasite burden in all post-infection times, and this race the OPG correlated with the TOC ($r = 58$; $p < 0.02$) and Santa Ines the OPG correlated with bilirubin ($r = 0.49$; $p < 0.02$). The amendments to the post-infection oxidative stress markers were not associated with anemia and hypoalbuminemia. During the first 42 days post-infection with *H. contortus*, oxidative stress index varied according to race, in part due to increased oxidant production probably caused by tissue injury and also because of a probable compensatory increase in the synthesis antioxidant. The racial differences observed in this study on the profile of oxidative stress markers are probably one of the first evidence that the antioxidant status may contribute to resistance to *H. contortus* in sheep. The results also suggest that the use of antioxidants can potentially contribute to control of hemocose sheep, as well as being important to increase the studies in this line of investigation whereas the breeding sheep requires alternative means for controlling this disease.

Keywords: antioxidant, hemocose, oxidative stress index, gastrointestinal parasite, lipid peroxidation

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1 Contextualização do problema

Infecção por parasitas gastrintestinais são responsáveis por grandes prejuízos na ovinocultura. O *Haemonchus contortus* é o principal nematódeo de ovinos, já tendo sido anteriormente relacionado ao desenvolvimento de estresse oxidativo. Recentemente foram observadas diferenças raciais em ovinos naturalmente infectados, sendo a raça Santa mais resistente que a raça Suffolk segundo a contagem de ovos nas fezes. Já, as alterações nos marcadores de estresse oxidativo devido à hemoncose podem aumentar os níveis de oxidantes e da peroxidação lipídica e causar diminuição da capacidade antioxidante. Numa segunda etapa as próprias larvas de *H. contortus* ou seus restos mortais podem desencadear o processo de estresse oxidativo pela geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) levando ao aumento da peroxidação lipídica. Para melhor entendimento do tema é essencial mais investigações quanto à capacidade de antioxidante total e a concentração de oxidante total tanto do próprio hospedeiro quanto do parasita. Somente assim, medidas de prevenção e de melhoramento animal podem surgir e evitar perdas econômicas para a ovinocultura. O fato é que até o momento não foi bem determinado quais os principais fatores envolvidos no estresse oxidativo de ovinos infectados por parasitos gastrintestinais e quais desses fatores estão relacionados com a resistência parasitária. Neste sentido torna-se essencial realizar estudos mais controlados que permitam avaliar o efeito isolado de diferentes infecções sobre o estresse oxidativo de modo a promover um melhor entendimento sobre a associação entre esta condição e a resistência parasitária em diferentes raças de ovelhas.

2 Pesquisa bibliográfica

Antes e durante a realização do presente estudo foi realizada uma revisão de literatura sistemática sobre o tema. Para tal foi investigada duas perguntas estruturadas com os três elementos (situação, intervenção e desfecho) preconizado por Castro (2001).

Pergunta 1: Ovinos parasitados por Haemonchus contortus apresentam estresse oxidativo?. Esta pergunta selecionou duas diferentes estratégias e utilizaram-se os seguintes bancos de dados:

Banco de dados do Portal Periódicos da Capes: (("sheep"[MeSH Terms] OR "sheep"[All Fields]) AND ("oxidative stress"[MeSH Terms] OR ("oxidative"[All Fields] AND "stress"[All Fields]) OR "oxidative stress"[All Fields])). A busca resultou em 177 referências. Com base no resumo de trabalho, foram selecionados somente aqueles que contribuíram de alguma maneira para a resposta da pergunta, sendo nove referências selecionadas por contribuírem com alguma informação para resposta da pergunta.

Um complemento da revisão foi realizado no Banco de dados do Google Acadêmico: oxidative stress in sheep infected with haemonchus contortus, obteve-se 488 referências. Novos filtros foram adicionados: - antioxidant oxidant status. Resultando em 75 trabalhos. Destes, 21 foram utilizados, devido à compatibilidade de ideias.

Pergunta 2: Há diferença racial quanto aos marcadores de estresse oxidativo mais especificamente entre ovinos da raça Suffolk e Santa Inês?. Tal pergunta selecionou duas diferentes estratégias para busca em dois diferentes bancos de dados:

Banco de dados do Portal Periódicos da Capes:

Suffolk[All Fields] AND Santa[All Fields] AND Ines[All Fields] AND ("nematoda"[MeSH Terms] OR "nematoda"[All Fields] OR "nematodes"[All Fields]) AND immunological[All Fields] AND resistance[All Fields] AND OPG[All Fields] AND ("oxidative stress"[MeSH Terms] OR ("oxidative"[All Fields] AND "stress"[All Fields]) OR "oxidative stress"[All Fields] OR ("stress"[All Fields] AND

"oxidative"[All Fields]) OR "stress oxidative"[All Fields]). Este método de busca obteve 204 trabalhos, dos quais 20 foram utilizados em nossa pesquisa.

O Banco de dados do Google Acadêmico foi utilizado como complemento da revisão com a seguinte estratégia de busca: correlation between parasite load and oxidative stress from sheep infected for haemonchus contortus. Resultando em 138 resultados. A fim de especificar mais a revisão um filtro foi adicionado: "correlation" "association" "relationship" between parasite load and oxidative stress. Tal pergunta resultou em 47 referências, sendo apenas 8 utilizadas.

Devido à abundância de periódicos científicos nestes bancos de dados supracitados, foi que se optou pelo uso dos mesmos. Em toda a revisão sistemática para o tema abordado não foi utilizado limite de busca quanto ao idioma e localização. O período da pesquisa bibliográfica teve início em 10/02/2013 e se estendeu até o dia 12/11/2014.

3 Importância da parasitose na ovinocultura

A ovinocultura possui aumento considerável em relação ao ano de 2011, atualmente há dados de 17,6 milhões de cabeças de ovinos (IBGE, 2012); porém, a produção de ovinos se depara com alguns fatores limitantes, dentre os principais há a infecção por parasitas gastrintestinais (DE CAMARGO, et al., 2010).

Os parasitos nematódeos são os maiores responsáveis pelas perdas econômica na ovinocultura, devido a sua alta prevalência e elevada patogenicidade (AMARANTE; SALES, 2007). O *Haemonchus contortus*, esta presente em regiões tropicais e temperadas (LEE, et al, 2011), sendo a principal espécie endoparásita de ovinos no Brasil (AMARANTE; SALES, 2007) capaz de sugar uma quantidade significativa de sangue, desafia a saúde das ovelhas, causando anemia, hipoproteinemia, redução do ganho de peso e até a morte (BORBA, 1996; BURKE et al., 2012).

4 Estresse oxidativo e hemoncose

Embora algumas verminoses gastrintestinais de ruminantes possam ser semelhantes à infecção humana, a relação dos parasitos com o estresse oxidativo em ovinos foi pouco investigada. Assim, estes estudos relatam a ocorrência de estresse oxidativo em animais infectados com parasitos, bem como o sistema de defesa antioxidante que existe entre os parasitos e os hospedeiros mamíferos. (CELI, 2010).

Acredita-se que nas infecções por helmintos os danos teciduais sejam causados por excesso de espécies reativas de oxigênio (ERO) promovido pelo influxo local de eosinófilos (CORRIGAN; KAY, 1992; PETRECCIA et al., 1987; YAMASHITA; SOMEYA, 1987) e neutrófilos (BEHNKE et al., 2003; KEMP et al., 2009). Por outro lado, a ativação desses leucócitos promove um importante efeito antiparasitário (KHAN, 2008; COLLINS, 2004), uma vez que a ERO produzida danifica diretamente os tecidos do parasito (COLASANTI, et al., 2000; DJORDJEVIC, 2004).

A consequência do ataque de ERO às membranas celulares caracteriza o processo de peroxidação lipídica, estando o desenvolvimento de estresse oxidativo relacionado ao desequilíbrio entre agentes oxidantes e antioxidantes (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). As defesas antioxidantes existem para proteger o organismo das ERO, assim, a ausência ou falha dessa defesa favorece a peroxidação lipídica e morte celular (WOLKMER, 2009).

O desequilíbrio entre os agentes oxidantes e antioxidantes ocorre em muitas doenças, dentre elas as infestações parasitárias, incapacidade das células produzir quantidades suficientes de antioxidantes, deficiência nutricional e excesso de produção de ERO (ELLAH et al., 2010). Porém, já se atribuiu à diminuição da capacidade de antioxidante total (TAC) em ovinos infectados, ao consumo de enzimas antioxidantes durante o estresse oxidativo (ESMAEILNEJAD et al., 2010).

Na anemia a produção de ERO também aumenta, e estes oxidantes quando não neutralizados podem ser tóxicos para as células, tecidos ou órgãos

(STENVINKEL, 2003). O sistema antioxidante enzimático eritrocitário representa o maior componente da capacidade antioxidante do sangue de forma que a anemia pode contribuir para o estresse oxidativo e à lipoperoxidação dos tecidos uma vez que a inadequada oxigenação tecidual promove alterações no metabolismo celular energético, eleva o catabolismo de catecolaminas e ativa os leucócitos (SARADA et al., 2002; STENVINKEL, 2003).

Outros importantes antioxidantes endógenos que participam da linha de defesa classificam-se em albumina (ROCHE et al., 2008; LUCENA, 2010), bilirrubina (NEUIIL; STOCKER, 1993) e o ácido úrico (AMES et al., 1981). Porém, há dificuldades de se avaliar o estresse oxidativo uma vez que são necessárias mensurações diretas ou indiretas de vários oxidantes e antioxidantes (LYKKESFELDT; SVENDSEN, 2007). Como não é possível quantificar todos marcadores de estresse e nem sempre todos se alteram, vários métodos têm sido desenvolvidos para avaliar a capacidade de antioxidante total (TAC) e da concentração de oxidante total (TOC). Acredita-se que a determinação de um índice de estresse oxidativo (TOC/TAC) permita estabelecer uma melhor relação entre o nível de estresse oxidativo e sua causa (ARGUELLES et al., 2004).

A TAC plasmática tem sido utilizada como marcador de estresse oxidativo em ovinos (NICOLODI et al., 2010), porém até o momento não encontramos investigações que tenham quantificado os níveis plasmáticos de TOC e do índice de estresse oxidativo (TOC/TAC) em ovelhas infectadas experimentalmente por *H. contortus* e ou que tenham comparado as raças Santa Inês e Suffolk quanto aos marcadores de estresse oxidativo (Tabela 1).

Tabela 1 - Resumo dos estudos sobre os marcadores de estresse oxidativo em ovinos infectados por nematódeos gastrintestinais, ou mais especificamente por *H. contortus*

Raça	Parasita	Infecção	Parâmetros	Autor
Suffolk	NTGI	IN	Cortisol, NBT-E, NBT-NE	CIARLINI et al., 2002
Corriedale	<i>H. contortus</i>	IE	NBT-E, NBT-NE	DE CAMARGO et al., 2010
Württemberg	<i>Strongyloides papillosus</i>	IN	CAT, TBARS, NPTH, atividade de Cu, Zn, SOD, LDH1-LDH5	DIMITRIJEVIĆ et al., 2012
Corriedale	<i>H. contortus</i>	IE	TBARS, GSH-Px	DO REO LEAL et al., 2010
Corriedale X Texel	<i>H. contortus</i>	IE	TBARS, CAT, GSH	LEAL et al., 2014
Merino cross	<i>H. contortus</i>	IE	PCR- glutationa, glutationa peroxidase	LEES et al., 2011
Suffolk	<i>Teladorsagia circumcincta</i>	IE	Albumina vitamina A e E, TAC, Grupo de proteínas sulfídricas (-SH)	LIGHTBODT et al., 2001
Merino	<i>Fasciola hepática</i>	IE	TBARS, albumina,	MARTÍNEZ-PÉREZ et al., 2014
Texel misto	<i>H. contortus</i>	IE	Albumina, TBARS e GSH-Px	NICOLODI et al., 2010
-*	PTGI	IN	Óxido nítrico e vitaminas antioxidantes (C, E, B-caroteno e retinol	OSMAN; GAEDE, 2012
-*	<i>H. contortus</i>	IN	Cu, Zn, TBARS, NPTH	ROCHA et al., 2012

-*: raça não descrita; IE: Infecção experimental; IN: Infecção natural; NTGI: Nematódeos do trato gastrointestinal; TAC: capacidade de antioxidante total; TOC: capacidade de oxidante total; NBT-E: nitroazul de tetrazólio-estimulado; NBT-NE: nitroazul de tetrazólio-não estimulado; TBARS: ácido tiobarbitúrico; GSH: Glutaciona; GSH-Px: glutaciona- peroxidase; CAT: catalase; NPTH: concentrações de proteína do grupo carbonila e tiol no plasma.

Há evidência de que *H. contortus in vitro* utiliza a catalase como defesa contra o peróxido de hidrogênio gerado durante o estresse oxidativo da infecção (KOTZE, 2003) e que ovinos da raça Corriedale infectados com 500 L3 e suplementados com selênio apresentam melhora na capacidade antioxidante (DE CAMARGO et al., 2009). Estudo pioneiro realizado por Lightbody et al., (2001), revelou que a capacidade antioxidante plasmática de caprinos e ovinos diferem, sendo que cabritos são mais suscetíveis que os cordeiros para infecção experimental e causa uma diminuição transitória da TAC e albumina nos animais infectados.

Ovelhas Sulffolk naturalmente infectadas por helmintos a produção neutrofílica de superóxido diminui próximo ao parto e aumenta após o desmame, sugerindo que tal variação na produção de ERO está associada com aumento e a diminuição da carga parasitária (CIARLINI et al., 2002). Nicolodi et al. (2010), observaram uma diminuição significativa da albumina e glutathione peroxidase plasmática em 10 ovinos experimentalmente infectados por *H. contortus*, porém, contrariando a hipótese inicial dos autores, tais alterações não promoveram aumento da peroxidação lipídica.

Tanto a produção de ERO como os antioxidantes são importantes componentes na resistência do hospedeiro contra os parasitas gastrintestinais (BEN-SMITH et al., 2002.; DZIK, 2006; KOTZE, 2003). A imunossupressão pode ser causada por várias alterações patológicas, é provável que as ERO causem disfunção da resposta imune durante a infecção por parasitas (DIMIRI et al, 2010). Estudos demonstraram a necessidade de defesas antioxidantes eficazes para o desenvolvimento de imunidade contra a infecção por parasitas gastrintestinais (AU YEUNG et al., 2005; RAO et al., 2001; SMITH et al., 2005).

Segundo Lightbody et al. (2001), a TAC plasmática de ovinos pode ter implicações importantes em termos de resiliência para a infecção do parasita. Portanto é provável que o efeito de infecção por nematoides sobre a TAC seja uma resposta ao aumento do estresse oxidativo (CELI et al., 2010). Colaborando com esta hipótese, recentemente foram investigadas as mudanças na expressão de genes-chave relacionados com a produção de oxidantes e antioxidantes em ovelhas resistentes e não resistentes infectadas por *H. contortus* e ficou comprovado que ovelhas hiperimunizadas apresentam uma resposta inflamatória específica para infecção por *H. contortus*, caracterizada por um aumento na expressão de moléculas relacionada com a produção de oxidantes (DUOX2/DUOXA2) e de antioxidantes (LEES et al., 2011).

Assim, torna-se importante também impedir o início da formação de radicais livres através da suplementação na alimentação animal que poderá ser feito pelo manejo adequado de antioxidantes natural ou sintético (CABEL et al.,

1988; RACCANICI et al., 2000), melhorando o status antioxidantes e prevenindo o estresse oxidativo originário de processos infecciosos (LEAL et al., 2011). Sendo possível também diminuir a OPG e controlar a infecção por *H. contortus* (LEAL et al., 2014). Ainda, há muito a ser descoberto sobre a relação estresse oxidativo, parasitoses e terapias antioxidantes e quais seus efeitos na saúde e produção de ruminantes. Porém, apesar de falta de clareza na compreensão da fisiopatologia do estresse oxidativo em animais de produção, é inquestionável que o estresse oxidativo está associado a parasitoses gastrintestinais. (CELI, 2011).

5 Resistência racial

A efetividade da infecção ou mesmo do desenvolvimento do quadro de hemoncose são estimados pela carga parasitária através da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) (ALBA-HURTADO et al., 2010; AMARANTE et al., 2004; AMARANTE et al., 2005; AMARANTE et al., 2009; CHIEZEY; OYEDIPE, 2009; GOOD et al., 2006; MILLER et al., 1998; MEXIA et al., 2011; ROCHA et al., 2004; ROCHA et al., 2005;) e contagem de larvas no abomaso (ALBA-HURTADO et al., 2010; AMARANTE et al., 2004; AMARANTE et al., 2005; AMARANTE et al., 2009; CHIEZEY; OYEDIPE, 2009; GOOD et al., 2006; ROCHA et al., 2004).

Concomitantemente, parâmetros hematológicos de importância para a patologia em questão como o volume globular sanguíneo (ALBA-HURTADO et al., 2010; AMARANTE et al., 2004; AMARANTE et al., 2009; CHIEZEY; OYEDIPE, 2009; MILLER et al., 1998; ROCHA et al., 2004; ROCHA et al., 2005) e a contagem de leucócitos, neutrófilos, basófilos, monócitos, linfócitos (SKAKYA et al., 2011) e eosinófilos (ROCHA et al., 2004; ROCHA et al., 2005; SKAKYA et al., 2011) são indícios indiretamente relevantes na resistência parasitária contra nematoides do trato gastrintestinal.

A forma mais específica e direta utilizada como indicativo de parasitoses gastrintestinais é a busca de células de defesa no tecido do abomaso

(AMARANTE et al., 2005; SKAKYA et al., 2011). Muitos processos infecciosos em diversas raças de ovinos, já tem sido observado a presença de anticorpos devido à resistência imunológica (LEE et al., 2011; LEES et al., 2011; MILLER; HOROHOV, 2006;) e genética (KNIGHT et al., 2011; McMANUS et al., 2009; MILEER; HOROHOV, 2006; PAIVA et al., 2005).

A raça Santa Inês é conhecida pela resistência às infecções por nematódeos gastrintestinais (ROCHA et al., 2004; ROCHA et al., 2005) e em verminoses por *H. contortus*, estes ovinos demonstraram resistência quando comparados à Suffolk e Ile de France (AMARANTE et al., 2004). Já a raça Suffolk tem demonstrando maior suscetibilidade às infecções por nematódeos gastrintestinais (BUENO et al., 2002; MORAES et al., 2000).

Porém, poucos são os estudos que avaliaram os marcadores de estresse oxidativo em ovinos, porém até o momento, os existentes não correlacionaram o efeito da infecção experimental por *H. contortus* entre as raças Santa Inês e Suffolk e não se atentaram ao índice de estresse oxidativo (TOC/TAC) tampouco aos seus status oxidantes. Assim, este é um trabalho pioneiro na pesquisa do índice de estresse oxidativo em ovinos Santa Inês e Suffolk na infecção experimental por *H. contortus*. (Tabela 2).

Tabela 2 - Resumo dos estudos sobre a infecção por nematoides gastrintestinais realizados em ovinos das raças Santa Inês e ou Suffolk

Raça Resistente	Raça Susceptível	Parasita	Infecção	Parâmetros	Autor
Crioula Native to the Mexican Plateau	Suffolk	<i>H. contortus</i>	IE	Par, Hem, FMC, PV	Alba-Hurtado et al., 2010
Santa Inês	Suffolk e Ile de France	NTGI	IN	Par, Hem, Hist, Imunol	Amarante et al., 2005
Santa Inês	Dorper x Santa Inês Ile de France x Santa Inês Suffolk x Santa Inês Texel x Santa Inês	NTGI	IN	Par, Hem, Imunol, Hist	Amarante et al., 2009
Texel	Suffolk	NTGI	IN	Par	Good et al., 2006
Santa Inês	Texel e Bergamácia	NTGI	IN	Par	Mexia et al., 2011
Gulf Coast	Suffolk	NTGI	IN	Par, Hem	Miller et al., 1998
Santa Inês	Ile de France	NTGI	IN	Par, Hem, Bioq, PV	Rocha et al., 2004
Santa Inês	Ile de France	NTGI	IN	Par, Hem, Bioq	Rocha et al., 2005
Guf Coast Native	Suffolk	H. contortus	IE	Par, Imunol, Hist	Shakya et al., 2011

IE: Infecção experimental; IN: Infecção natural; NTGI: Nematódeos do trato gastrointestinal; Par: parasitológico (contagem de ovos por fezes, carga de vermes); Hem: hematológico; Imunol: Imunológico (anticorpos); Hist: contagem de células no abomaso (eosinófilos, leucócitos, mastócitos, etc); Bioq: perfil bioquímico; PV: peso vivo; FMC: Famacha.

6 Objetivos

Testar a hipótese de que o estresse oxidativo ocorre em ovinos infectados por *Haemonchus contortus* e que este varia com a resistência racial.

Testar a hipótese de que há relações entre os marcadores de estresse oxidativo com a carga parasitária, a anemia e a hipoalbuminemia em ovinos infectados com *H. contortus*.

REFERÊNCIAS

ALBA-HURTADO, F.; ROMERO-ESCOBEDO, E.; MUÑOZ-GUZMÁN, M. A.; TORRES-HERNÁNDEZ, G.; BECERRIL-PÉREZ, C. M. Comparison of parasitological and productive traits of Criollo lambs native to the central Mexican Plateau and Suffolk lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v. 172, n. 3, p. 277-282, 2010.

AMARANTE, A. F. T.; SUSIN, I.; ROCHA, R. A.; SILVA, M. B.; MENDES, C. Q.; PIRES, A. V. Resistance of Santa Ines and crossbred ewes to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v. 165, n. 3, p. 273-280, 2009.

AMARANTE, A. F. T.; SALES O. de, R.de. Controle de Endoparasitoses dos Ovinos: Uma Revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 1, n. 2, p. 14-36, 2007.

AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A.; HUNTLEY, J. F.; MAZZOLIN, L. P.; GOMES, J. C. Relationship of abomasal histology and parasite-specific immunoglobulin A with the resistance to *Haemonchus contortus* infection in three breeds of sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 128, n. 1, p. 99-107, 2005.

AMARANTE, A. D.; BRICARELLO, P. A.; GENNARI, S. M. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France sheep to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v. 120, n. 1, p. 91-106, 2004.

AMES, B. N.; CATHCART, R.; SCHWIERS, E.; HOCHSTEIN, P. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant-and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 78, n. 11, p. 6858-6862, 1981.

ARCHIBALD, A. L.; BURGESS, S, TG.; SMITH, D. W.; MILLER, H. RP.; MORRISON, I. W. Novel gene expression responses in the ovine abomasal

mucosa to infection with the gastric nematode *Teladorsagia circumcincta*. **Veterinary Research**, v. 42, p. 78, 2011.

ARGÜELLES, S.; GARCÍA, S.; MALDONADO, M. MACHADO, A.; AYALA, A. Do the serum oxidative stress biomarkers provide a reasonable index of the general oxidative stress status?. **Biochimica et Biophysica Acta General Subjects**, v. 1674, n. 3, p. 251-259, 2004.

AU YEUNG, K. J.; SMITH, A.; ZHAO, A.; MADDEN, K. B.; ELFREY, J.; SULLIVAN, C.; LEVANDER, O.; URBAN, J. F.; SHEA-DONOHUE, T. Impact of vitamin E or selenium deficiency on nematode-induced alterations in murine intestinal function. **Experimental Parasitology**, v.109, n. 4, p. 201-208, 2005.

BEHNKE, J. M.; IRAGI, F.; MENGE, D.; BAKER, R. L.; GIBSON, J.; WAKELIN, D. Chasing the genes that control resistance to gastrointestinal nematodes. **Journal Of Helminthology**, v. 77, n. 02, p. 99-109, 2003.

BEN-SMITH, A.; LAMMAS, D. A.; BEHNKE, J. M. Effect of oxygen radicals and differential expression of catalase and superoxide dismutase in adult *Heligmosomoides polygyrus* during primary infections in mice with differing response phenotypes. **Parasite Immunology**, v. 24, n. 3, p. 119-129, 2002.

BORBA, M.F.S. Efeito do parasitismo gastrintestinal sobre o metabolismo do hospedeiro. In: **Nutrição de Ovinos. Jaboticabal, FUNEP**, 1996. 258p

BUENO, M. S.; CUNHA, E. A.; VERÍSSIMO, C. J.; SANTOS, L. E.; LARA, M. A. C.; OLIVEIRA, S. M.; SPOSITO FILHO, E.; REBOUÇAS, M. M. Infeccion por nematodos em razas de ovejas carnicas criadas intensivamente em la region del sudeste del Brasil. **Archivos de Zootecnia**, v.51, p.271-278, 2002.

BURKE, J. M.; MILLER, J. E.; MOSJIDIS, J. A.; TERRILL, T. H. Use of a mixed sericea lespedeza and grass pasture system for control of gastrointestinal nematodes in lambs and kids. **Veterinary Parasitology**, v. 186, n. 3, p. 328-336, 2012.

CABEL, M. C.; WALDROUP, P. W.; SHERMER, W. D.; CALABOTTA, D. F. Effects of ethoxyquin feed preservative and peroxide level on broiler performance. **Poultry Science**, v. 67, n. 12, p. 1725-1730, 1988.

CELI, P. Biomarkers of oxidative stress in ruminant medicine. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 33, n. 2, p. 233-240, 2011.

CELI, P. The role of oxidative stress in small ruminants' health and production. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, p. 348-363, 2010.

CHIEZEYAND, N. P.; OYEDIPE, E. O. Variability in the response of Yankasa sheep to graded experimental infections of *Haemonchus contortus*. **Research Journal of Parasitology**, v. 4, n. 2, p. 45-55, 2009.

CIARLIN, P. C.; CIARLINI, L. D. R. P.; ALENCAR, N. X.; HOHAYAGAWA, A.; RODRIGUES, C. F. C. Metabolismo oxidativo de neutrófilos em ovelhas naturalmente infectadas por nematódeos gastrintestinais e correlação entre nível sérico de cortisol e carga parasitária. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.54, n.3, p.242-247, 2002.

COLASANTI, M.; SUZUKI, H. The dual personality of NO. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 21, n. 7, p. 249-252, 2000.

CORRIGAN, C. J.; KAY, A. B. T cells and eosinophils in the pathogenesis of asthma. **Immunology Today**, v. 13, n. 12, p. 501-507, 1992.

DE CAMARGO, E. V.; LOPES, S. T. D. A.; COSTA, M. M.; PAIM, F.; BARBOSA, C. S.; LEAL, M. L. R. SHORT COMMUNICATION: Neutrophil oxidative metabolism and haemogram of sheep experimentally infected with *Haemonchus contortus* and supplemented with selenium and vitamin E. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 94, n. 5, p. e1-e6, 2010.

DJORDJEVIĆ, V. B. Free radicals in cell biology. **International Review Of Cytology**, v. 237, p. 57-89, 2004.

DIMITRIJEVIĆ, B.; BOROZAN, S.; KATIĆ-RADIVOJEVIĆ, S.; STOJANOVIĆ, S. Effects of infection intensity with *Strongyloides papillosus* and albendazole treatment on development of oxidative/nitrosative stress in sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 186, n. 3, p. 364-375, 2012.

DIMIRI, U.; SHARMA, M. C.; YAMDAGNI, A.; RANJAN, R.; ZAMA, M. M. S. Psoroptic mange infestation increases oxidative stress and decreases antioxidant status in sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 168, n. 3, p. 318-322, 2010.

DO REO LEAL, M. L.; DE CAMARGO, E. V.; ROSS, D. H.; MOLENTO, M. B.; DOS ANJOS, S. T. L.; DA ROCHA, J. B. T. Effect of selenium and vitamin E on oxidative stress in lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus*. **Veterinary Research Communications**, v. 34, n. 6, p. 549-555, 2010.

DZIK, J. M. Molecules released by helminth parasites involved in host colonization. **Acta Biochimica Polonica**, v. 53, n. 1, p. 33-64, 2006.

ELLAH, M. R. A. Involvement of free radicals in animal diseases. **Comparative Clinical Pathology**, v. 19, n. 6, p. 615-619, 2010.

FERREIRA, A. L.; MATSUBARA, L. S. Free radicals: concepts, associated diseases, defense system and oxidative stress. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.43, n. 1, p. 61, 1997.

GOOD, B.; HANRAHAN, J. P.; CROWLEY, B. A.; MULCAHY, G. Texel sheep are more resistant to natural nematode challenge than Suffolk sheep based on faecal egg count and nematode burden. **Veterinary Parasitology**, v. 136, n. 3, p. 317-327, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE [2012] (Ed.). **Estatísticas: pecuária (rebanhos)**. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 15 out. 2014.

KEMP, J. M.; ROBINSON, N. A.; MEEUSEN, E. N.; PIEDRAFITA, D. M. The relationship between the rapid rejection of *Haemonchus contortus* larvae with cells and mediators in abomasal tissues in immune sheep. **International Journal For Parasitology**, v. 39, n. 14, p. 1589-1594, 2009.

KNIGHT, P. A.; GRIFFITH, S. E.; PEMBERTON, A. D.; PATE, J. M.; GUARNERI, L.; ANDERSON, K.; TALBOT, R, T.; SMITH, S.; WADDINGTON, D.; FELL, M.; ARCHIBALD, A.; BURGESS, S. TG.; SMITH, D. W.; MILLER, H. RP.; MORRISON, I. W. Novel gene expression responses in the ovine abomasal mucosa to infection with the gastric nematode *Teladorsagia circumcincta*. **Veterinary Research**, v. 42, p. 78, 2011.

KOTZE, A. C. Catalase induction protects *Haemonchus contortus* against hydrogen peroxide in vitro. **International Journal For Parasitology**, v. 33, n. 4, p. 393-400, 2003.

LEAL, M. L. DO.; PIVOTO, F. L.; FAUSTO, G. C.; AIRES, A. R.; GRANDO, T. H.; ROOS, D. H.; SUDATI, J. H.; WAGNER, C.; COSTA, M. M.; MOLENTO, M. B.; DA ROCHA, J. B. T. Copper and selenium: Auxiliary measure to control infection by *Haemonchus contortus* in lambs. **Experimental Parasitology**, v. 144, p. 39-43, 2014.

LEAL, M. L. DO.; PIVOTO, F. L.; FAUSTO, G. C.; AIRES, A. R.; GRANDO, T. H.; ROOS, D. H.; SUDATI, J. H.; WAGNER, C.; COSTA, M. M.; MOLENTO, M. B.; DA ROCHA, J. B. T. Copper and selenium: Auxiliary measure to control infection by *Haemonchus contortus* in lambs. **Experimental Parasitology**, v. 144, p. 39-43, 2014.

LEE, C. Y.; MUNYARD, K. A.; GREGG, K.; WETHERALL, J. D.; STEAR, M. J.; GROTH, D. M. The influence of MHC and immunoglobulins A and E on host resistance to gastrointestinal nematodes in sheep. **Journal Of Parasitology Research**, v. 2011, 2011.

LEES, M. S.; ROBINSON, N. A.; INGHAM, A. B.; KOTZE, A. C.; PIEDRAFITA, D. M. Dual oxidase 2 and glutathione peroxidase gene expression are elevated in hyperimmunised sheep challenged with *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v. 179, n. 1, p. 113-122, 2011.

LIGHTBODY, J. H.; STEVENSON, L. M.; JACKSON, F.; DONALDSON, K.; JONES, D. G. Comparative aspects of plasma antioxidant status in sheep and goats, and the influence of experimental abomasal nematode infection. **Journal of Comparative Pathology**, v. 124, n. 2, p. 192-199, 2001.

LYKKESFELDT, J.; SVENDSEN, O. Oxidants and antioxidants in disease: oxidative stress in farm animals. **The Veterinary Journal**, v. 173, n. 3, p. 502-511, 2007.

LUCENA, C. F. Antioxidantes em exercícios aeróbios: papel do selênio e glutathiona peroxidase. **Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte**, v. 9, n. 1, 2010.

MARTÍNEZ-PÉREZ, J. M.; ROBLES-PEREZ, D.; BENAVIDES, J.; MORAN, L.; ANDRES, S.; GIRALDEZ, F. J.; ROJO-VAZQUEZ, F. A.; MARTINEZ-VALLADARES, M. Effect of Dietary Supplementation With Flaxseed Oil Or Vitamin E on Sheep Experimentally Infected with *Fasciola hepatica*. **Research in Veterinary Science**, 2014.

MCMANUS, C.; LOUVANDINI, H.; PAIVA, S. R.; DE OLIVEIRA, A. A.; AZEVEDO, H. C.; MELO, C. B. Genetic factors of sheep affecting gastrointestinal parasite infections in the Distrito Federal, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 166, n. 3, p. 308-313, 2009.

MEXIA, A. A.; DE MACEDO, F. DE. A. F.; DE OLIVEIRA, C. A. L.; ZUNDT, M.; YAMAMOTO, S. M.; SANTELLO, G. A.; CARNEIRO, R. DEL. C.; SASA, A. Susceptibilidade a nematóides em ovelhas Santa Inês, Bergamácia e Texel no Noroeste do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4Sup1, p. 1921-1928, 2011.

MILLER, J. E.; BAHIRATHAN, M.; LEMARIE, S. L.; HEMBRY, F. G.; KEARNEY, M. T.; BARRAS, S. R. Epidemiology of gastrointestinal nematode parasitism in Suffolk and Gulf Coast Native sheep with special emphasis on relative susceptibility to *Haemonchus contortus* infection. **Veterinary Parasitology**, v. 74, n. 1, p. 55-74, 1998.

MILLER, J. E.; HOROHOV, D. W. Immunological aspects of nematode parasite control in sheep. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 13 suppl, p. E124-E132, 2006.

MORAES, F. R.; THOMAZ-SOCCOL, V.; ROSSI JÚNIOR, P.; WOLFF, F. M.; CASTILHO, G. Susceptibilidade de ovinos das raças Suffolk e Santa Inês à infecção natural por tricostrongilídeos. **Archives of Veterinary Science**, v. 6, n. 1, p. 63-69, 2000.

NEUŽIL, J.; STOCKER, R. Bilirubin attenuates radical-mediated damage to serum albumin. **Federation of European Biochemical Societies Letters**, v. 331, n. 3, p. 281-284, 1993.

NICOLODI, P. R. S. J.; DE CAMARGO, E. V.; ZENI, D.; DA ROCHA, R. X.; CYRILLO, F. C.; DE SOUZA, F. N.; LIBERA, A. M. M. D.; BONDAN, C.; LEAL, M. L. D. R. Protein Profile and oxidative metabolism of lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus* and supplemented with selenium and vitamin E. **Ciência Rural**, v. 40, n. 3, p. 561-567, 2010.

OSMAN, F. A. Evaluation of the concentrations of products of nitric oxide oxidation and some antioxidant vitamins in sheep naturally infested with parasites. **International Journal For Agro Veterinary And Medical Sciences**, v. 6, n. 2, p. 107-114, 2012.

PAIVA, S. R.; SILVÉRIO, V, C.; EGITO, A. A.; MCMANUS, C.; DE FARIA, D. A.; MARIANTE, A. DA. S.; CASTRO, S. R.; ALBUQUERQUE, M. DO. S. M.; DERGAM, J. A. Genetic variability of the Brazilian hair sheep breeds. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 40, n. 9, p. 887-893, 2005.

PETRECCIA, D. C.; NAUSEEF, W. M.; CLARK, R. A. Respiratory burst of normal human eosinophils. **Journal Of Leukocyte Biology**, v. 41, n. 4, p. 283-288, 1987.

RAO, A. V.; BALACHANDRAN, B. Role of oxidative stress and antioxidants in neurodegenerative diseases. **Nutritional Neuroscience**, v. 5, n. 5, p. 291-309, 2002.

RACANICCI, A. M. C.; GAIOTTO, J. B.; PEDROSO, A. A. Efeito da Adição do Antioxidante BHT e do Armazenamento Sobre a Qualidade da Farinha de Carne e Ossos Para Frangos de Corte. **Revista Brasileira Ciência Avícola.**, v. 2, n. 2, 2000.

ROCHA, R. X.; CAMARGO, E. V.; ZENI, D.; NICOLODI, P. R. S.; LEAL, M. L. R.; CECIM, M. S. Eritrograma, estresse oxidativo e interação mineral em cordeiros naturalmente infectados por parasitas gastrintestinais suplementados com diferentes formas de ferro oral. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 2, p. 723-730, 2012.

ROCHA, R. A; AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A. Comparison of the susceptibility of Santa Inês and Ile de France ewes to nematode parasitism around parturition and during lactation. **Small Ruminant Research**, v. 55, n. 1, p. 65-75, 2004.

ROCHA, R. A; AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A. Resistance of Santa Inês and Ile de France suckling lambs to gastrointestinal nematode infections. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 14, n. 1, p. 17-20, 2005.

ROCHE, M.; RONDEAU, P.; SINGH, N. R.; TARNUS, E.; BOURDON, E. The antioxidant properties of serum albumin. **Federation of European Biochemical Societies Letters**, v. 582, n. 13, p. 1783-1787, 2008.

SHAKYA, K. P.; MILLER, J. E.; LOMAX, L. G.; BURNETT, D. D. Evaluation of immune response to artificial infections of *Haemonchus contortus* in Gulf Coast

Native compared with Suffolk lambs. **Veterinary Parasitology**, v. 181, n. 2, p. 239-247, 2011.

SARADA, S. K. S.; DIPTI, P.; ANJU, B.; PAULINE, T.; KAIN, A. K.; SAIRAM, M.; SHARMA, S. K.; ILAVAZHAGAN, G.; KUMAR, D.; SELVAMURTHY, W. Antioxidant effect of beta-carotene on hypoxia induced oxidative stress in male albino rats. **Journal Of Ethnopharmacology**, v. 79, n. 2, p. 149-153, 2002.

SMITH, A.; MADDEN, K. B.; AU YEUNG, K. J.; ZHAO, A.; ELFREY, J.; FINKELMAN, F.; LEVANDER, O.; SHEA-DONOHUE, T.; JR URBAN, J. F. Deficiencies in selenium and/or vitamin E lower the resistance of mice to *Heligmosomoides polygyrus* infections. **The Journal Of Nutrition**, v.135, n. 4, p. 830-836, 2005.

STENVINKEL, P. Anaemia and inflammation: what are the implications for the nephrologist?. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 18 Suppl 8, p. viii17-22, 2003.

WOLKMER, P.; DA SILVA, S. A.; TRAESEL, C. K.; PAIM, F. C.; CARGNELUTTI, J. F.; PAGNONCELLI, M.; PICADA, M. E.; MONTEIRO, S. G.; LOPES, S. T. D. A. Lipid peroxidation associated with anemia in rats experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. **Veterinary Parasitology**, v. 165, n. 1-2, p. 41-46, 2009.

YAMASHITA, T.; SOMEYA, A. Comparative study on the stimulation of superoxide production in guinea-pig eosinophils by the calcium ionophore A23187. **Biochim Biophysica Acta**, v. 927, n. 3, p. 359-65, 1987.

CAPÍTULO 2 - ESTRESSE OXIDATIVO EM OVINOS DAS RAÇAS SUFFOLK E SANTA INÊS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS POR *Haemonchus contortus*.

Resumo - Há algumas poucas evidências de que danos teciduais causados por parasitas gastrintestinais em ovinos promovem estresse oxidativo, porém os mecanismos que causam o desequilíbrio entre os oxidantes e antioxidantes não estão bem estabelecidos. O presente trabalho objetivou comprovar a hipótese de que o estresse oxidativo ocorre em ovinos infectados por *Haemonchus contortus* e que este varia com a resistência racial. Para tanto foram investigadas as relações entre o estresse oxidativo causado pela infecção por *H. contortus*, a carga parasitária, a anemia e a hipoalbuminemia. Para tal, ovinos da raça Suffolk (n=15) e Santa Inês (n=22) foram desverminados e após confirmado a ausência de ovos nas fezes (dia 0), todos animais foram infectados por via oral com 5000 larvas de terceiro estágio (L3) de *H. contortus*. A quantidade de ovos por grama de fezes (OPG) e a concentração de diferentes marcadores plasmático de estresse oxidativo (peroxidação lipídica, albumina, ácido úrico, bilirrubina total, capacidade antioxidante total, concentração de oxidante total e o índice de estresse oxidativo) foram quantificadas antes (dia 0) e com 28, 32 e 42 dias da infecção experimental, em ambas as raças. As alterações dos biomarcadores de estresses oxidativo pós-infecção variaram com a raça, tendo em comum ovinos Suffolk e Santa Inês um aumento de TOC no dia 28, seguido de um aumento de TAC no dia 42. Ovinos da raça Suffolk apresentaram maior carga parasitária em todos os momentos pós-infecção, sendo que nesta raça o OPG correlacionou-se com a concentração de oxidante total (TOC) ($r=58$; $p<0,02$) e na raça Santa Inês o OPG se correlacionou com a bilirrubina ($r=0,49$; $p<0,02$). As alterações dos marcadores de estresse oxidativo pós-infecção não foram associados à anemia e à hipoalbuminemia. Durante os primeiros 42 dias pós-infecção com *H. contortus*, o índice de estresse oxidativo variou de acordo com a raça, em parte devido ao aumento na produção de oxidante causada

provavelmente pela lesão tecidual e também em função de um provável aumento compensatório na síntese de antioxidante. A diferença racial observada no presente estudo quanto ao perfil dos marcadores de estresse oxidativo é provavelmente uma das primeiras evidências de que o status antioxidante pode contribuir para resistência ao *H. contortus* em ovinos. Os resultados obtidos sugerem ainda que o emprego de antioxidantes potencialmente podem contribuir para controle da hemocose ovina, assim como sendo importante ampliar os estudos nesta linha de investigação uma vez que a ovinocultura necessita de meios alternativos para controle dessa parasitose.

Palavras-Chave: antioxidante, hemocose, índice de estresse oxidativo, parasita gastrointestinal, peroxidação lipídica

1 Introdução

Os parasitas nematódeos do trato gastrointestinal são os responsáveis por perdas econômicas significantes, sendo o *Haemonchus contortus*, a principal espécie endoparasita que acometem ovinos (AMARANTE; SALES, 2007). O *H. contortus* é capaz de sugar quantidade significativa de sangue, causando anemia, hipoproteinemia, redução do ganho de peso e até a morte (BURKE et al., 2012; NICOLODI et al., 2010).

Na patogenia da infecção por *H. contortus* as larvas infectantes L3 evoluem rapidamente para forma L4 (UENO; GONÇALVES, 1998), sendo as larvas L4 e os vermes adultos responsáveis pela espoliação de sangue no organismo do hospedeiro (BETHONY, et al., 2006; GUEDES et al., 2010). Dependendo da quantidade de larvas inoculadas, das cepas e da própria resistência dos ovinos à verminose, o período pré-patente da hemocose experimental pode variar de 16 (BENEVENGA, 1981; SANTIAGO; DA COSTA) a 21 dias (BRICARELLO, et al., 2002). Há relato de que em ovinos ocorre

diminuição significativa de eritrócitos 20 dias após a infecção experimental com *H. contortus* (DE CAMARGO, et al., 2010).

O estresse oxidativo é um desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, sendo a lipoperoxidação uma consequência do ataque de espécies reativas e oxigênio (ERO) às membranas celulares (FERREIRA; MATSUBARA, 1997). As defesas antioxidantes existem para proteger o organismo das ERO, assim, a ausência ou falha dessa defesa favorece a peroxidação lipídica e morte celular (WOLKMER, 2009).

A albumina é um dos principais antioxidantes plasmáticos (LUCENA, 2010), estando diminuída em ovinos experimentalmente infectados por *H. contortus* (NICOLODI et al., 2010). Esta proteína antioxidante pode ainda ser oxidada em condição de estresse oxidativo, aumentando a peroxidação lipídica plasmática (ROCHE et al., 2008). Quando albumina está ligada à bilirrubina, ocorre prevenção da peroxidação lipídica (NEUIIL; STOCKER, 1993). Outro importante antioxidante endógeno capaz de impedir o estresse oxidativo devido à sua função de sequestrar ERO é o ácido úrico (AMES et al., 1981). O envolvimento desses antioxidantes endógenos tem sido comprovado em algumas infecções em diferentes espécies (ALMEIDA et al., 2013), porém o seu papel no estresse oxidativo por paratitoses gastrintestinais em ovinos até o momento é pouco conhecido. Ovinos experimentalmente infectados por *Teladorsagia circumcincta* apresentaram hipoalbuminemia e diminuição da capacidade antioxidante total (LIGHTBODY et al., 2001). Posteriormente, Nicolodi et al. (2010) observaram também hipoalbuminemia e aumento da peroxidação lipídica em ovinos da raça Texel infectados experimental com *H. contortus*.

Cordeiros da raça Santa Inês são naturalmente mais resistentes aos parasitos gastrintestinais que os da raça Suffolk e Ile de France (AMARANTE et al., 2004). Há escassas evidências de que a resistência parasitária em ovinos está associada com status antioxidante (LIGHTBODY et al., 2001; LEES et al., 2011). Porém, até o momento, não é conhecido os mecanismos pelos quais a infecção por *H. contortus* causa estresse oxidativo nesta espécie, e os

estudos realizados apenas avaliaram parcialmente o status antioxidante e não consideraram a produção de oxidante e o índice de estresse oxidativo.

Neste sentido, o presente trabalho objetivou comprovar a hipótese de que a infecção experimental de ovinos com larvas infectantes de *H. contortus* causa estresse oxidativo. Para tanto, foi investigada a hipótese de que o estresse oxidativo varia com raça e que este está associado à carga parasitária, à anemia e à hipoalbuminemia resultante da infecção experimental.

2 Material e métodos

O experimento foi realizado de acordo com os princípios éticos na experimentação animal da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus Araçatuba segundo as resoluções brasileiras (Lei nº. 6.638, de 8 de maio de 1979 e Decreto nº. 26.645 de 10 e julho de 1934) e com aprovação da Comissão de Ética no uso de animais dessa mesma Instituição (Processo 939-2013).

2.1 Seleção e manejo dos animais

Foram selecionados 37 cordeiros, com idade variando entre 105 e 120 dias de idade, sendo da raça Suffolk 15 machos e da raça Santa Inês 10 fêmeas e 12 machos, com peso médio de 21,99 kg e procedentes de duas diferentes propriedades comerciais da Região de Araçatuba, São Paulo, Brasil.

Os ovinos negativos para nematoides gastrintestinais foram aleatoriamente distribuídos e alojados em baias de acordo com a raça por todo o experimento. Os ovinos foram mantidos em seis baias cobertas com piso de cimento com 15 m² (taxa de lotação 0,5 animal/m²), alimentados duas vezes ao dia com concentrado comercial (400 g/animal/dia), feno (500g/animal/dia) e água à vontade.

2.2 Delineamento experimental

Após um período de sete dias de adaptação às baias, todos os ovinos foram desverminados utilizando Monepantel (Zolvix, Vericore Ltd- Novartis, Reino Unido) na dose de 2,5 mg/kg. Sete dias após a desverminação, a higidez dos ovinos foi comprovada pela ausência de ovos de nematoides nas fezes ou de qualquer alteração nos exames clínico geral e laboratorial (hemograma completo, concentração plasmática de ácido úrico, albumina, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, bilirrubina total, colesterol, creatinina, globulina, proteína total, triglicerídeos e ureia).

Uma vez comprovada a higidez dos ovinos, todos os ovinos foram inoculados por via oral com 5.000 larvas infectantes (L3) de *H. contortus* segundo protocolo de Ueno e Gonçalves (1998). As larvas infectantes de *H. contortus* oriundas de duas ovelhas adultas da raça Dopper foram cedidas pelo Laboratório de Parasitologia da FMVA-UNESP. Imediatamente antes (dia 0), 28, 34 e 42 dias após da inoculação das larvas infectantes, de todos os ovinos foi quantificada a carga parasitária, o volume globular do sangue total e os biomarcadores de estresse oxidativo plasmático (EREL, 2004; EREL, 2005).

2.3 Colheita e acondicionamento das amostras

Utilizando-se agulhas hipodérmicas (1,20x40mm) e seringas descartáveis, colheram-se 10 mL de sangue total, sendo oito mililitros acondicionados em tubo heparinizado (10 UI heparina/mL de sangue) para realização das análises bioquímicas plasmáticas como o perfil bioquímico, determinação da capacidade antioxidante total (TAC), capacidade oxidante total (TOC) e peroxidação lipídica plasmática. O plasma obtido foi armazenado a -20°C e protegido da luz até o momento das análises por um período máximo de dois meses. Outros dois mL de sangue total foram acondicionados em tubos plásticos contendo 40µL Na₂EDTA a 10% para realização do hemograma.

As amostras de fezes de cada ovino foram obtidas diretamente da ampola retal e acondicionadas refrigeradas a 4°C até o momento da realização do exame coproparasitológico. Os hemogramas e exames coproparasitológicos foram realizados em até cinco horas após a colheita.

2.4 Análises laboratoriais

A concentração total de leucócitos, eritrócitos e hemoglobina foi obtida com auxílio de contador eletrônico de células sanguíneas veterinário (BC-2800 Vet, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Nanshan, China). O volume globular foi obtido pelo método microcapilar de Strumia (centrifugação 12700 G por 10 minutos).

Todas as análises bioquímicas plasmáticas foram realizadas em analisador bioquímico automatizado (BS 200, Shenzhen Mindray Bio-Medical Electronics Co., Nanshan, China), previamente calibrado com calibrador comercial e controles níveis I e II (Biosystems, Barcelona, Spain). Utilizando conjunto de reativos comerciais (Biosystems, Barcelona, Spain), foi mensurada a concentração plasmática de ácido úrico pelo método enzimático (uricase/peroxidase); albumina pelo método do verde de bromocresol; alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) pelo método enzimático UV (urease/glutamato desidrogenase); bilirrubina total pelo método sulfanílico diazotado; colesterol pelo método enzimático oxidase/peroxidase; creatinina pelo método cinético (picrato alcalino); proteína total pelo método do biureto; triglicérides pelo método do glicerol fosfato oxidase/peroxidase e ureia pelo método enzimático UV (urease/glutamato desidrogenase).

Todas as reações bioquímicas foram processadas a 37°C conforme orientações dos fabricantes, sendo o teor de globulina determinado pela diferença entre proteína total e albumina.

2.5 Quantificação dos marcadores de estresse oxidativo

As quantificações da capacidade de antioxidante total e da concentração de oxidante total plasmática foram realizadas em analisador bioquímico semi-automatizado Labquest (Labtest, Lagoa Santa, MG, Brasil). A TAC foi mensurada pelo método de inibição de formação de cátion de ABTS® (2,2'-azino-bis 3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid). Os resultados foram expressos em mmol de equivalente de Trolox/L após comparação das amostras com uma curva padrão com diversas concentrações de Trolox (EREL, 2004).

Obteve-se a TOC plasmática por calorimetria com o uso de Laranja de xilenol, sal dissódico (Sigma, Aldrich, São Paulo, Brasil). Os resultados foram expressos em μmol de peróxido de hidrogênio equivalente/L, antes da comparação das amostras com a curva padrão de concentrações variadas de peróxido de hidróxido (EREL, 2005). Já, o índice de estresse oxidativo (TOC/TAC) foi obtido seguindo as recomendações de Aycicek et al., (2005).

A peroxidação lipídica plasmática foi determinada pela quantificação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), utilizando conjunto de reativo comercial (TBARS Assay Kit, ZeptoMetrix Corporation, USA) com auxílio de uma leitora automática (Robonik, Elisa Plate Analyser, India) de microplacas de 96 poços (TPP®, Tissue culture testplate 98 F, Europa) e absorvância 540 nm.

2.6 Exames coproparasitológicos

A carga parasitária foi estimada quantificando a quantidade de ovos de nematoide por grama de fezes (OPG), conforme técnica de Gordon & Whitlock, modificada (1939). A coprocultura foi realizada segundo recomendações de Roberts & O'Sullivan (1950). As larvas infectantes obtidas foram identificadas

de acordo com Ueno e Gonçalves (1998) e a inoculação foi realizada por via oral, com 5.000 L3, em dose única conforme descrito em Le Jambre (1983).

2.7 Análise estatística

Após os estudos das distribuições das variáveis quanto à normalidade (teste Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (teste de Bartlett), conforme preconizado por Zar (1984). Para determinar a significância dos momentos entre animais da mesma raça, foram utilizados os testes de Friedman e ANOVA para as variáveis não paramétricas e paramétricas, respectivamente.

Para determinar a significância quanto à diferença racial entre momentos iguais foram utilizados o teste t pareado para variáveis paramétricas e o teste de Mann Whitney para as variáveis não paramétricas. Para correlação entre as variáveis paramétricas foi determinado o coeficiente de Pearson e para variáveis não paramétricas o coeficiente de Spearman. As análises estatísticas supracitadas foram feitas com auxílio de um programa computacional estatístico (Graph Pad Prism 5, Software) considerando significativo $p < 0,05$.

3 RESULTADOS

3.1 Diferença da carga parasitária pós-infecção com *H. contortus* em ovinos das raças Suffolk e Santa Inês

Sete dias após a desverminação, a contagem de OPG zerou (dia 0) e se manteve zerada até o dia 11 pós-infecção, comprovando a eficiência do tratamento com o anti-helmíntico Monepantal. Antes da inoculação das larvas infectantes de *H. contortus* (dia 0) não foram observadas alterações no exame clínico geral e os valores do hemograma e do perfil bioquímico plasmático estavam dentro da faixa de normalidade da espécie (JAIN, 1986; KANEKO et al., 2008). Vinte e dois dias após a inoculação das larvas infectantes, todos os

ovinos de ambas as raças apresentaram resultados positivos para contagem de OPG, comprovando o sucesso do protocolo de infecção experimental.

Comparado ao momento pré-infecção (dia 0), o OPG aumentou significativamente nos dias 22, 28, 34 e 42 pós-infecção em ambas as raças. A carga parasitária, em ambas as raças, atingiu valores máximos 42 dias após a infecção. Durante todo o período experimental os valores de OPG foram maiores na raça Suffolk quando comparado ao da raça Santa Inês, porém tal diferença só foi significativa no 28º dia pós-infecção (Tabela 1).

Tabela 1- Médias e desvios padrão da contagem de ovos nas fezes (OPG), dos marcadores de estresse oxidativo e do volume globular sanguíneo dos ovinos Suffolk (S) e Santa Inês (SI), antes (dia 0) e depois de infectados com 5000 larvas L3 de *H. contortus*

Variáveis	Raça	Dia 0	Dia 28pi	Dia 34pi	Dia 42pi
OPG	S	0,00 ± 0,00 ^{Aa}	92,06 ± 232,30 ^{Ba}	74,82 ± 136,56 ^{Ba}	277,64 ± 371,89 ^{Ba}
	SI	0,00 ± 0,00 ^{Aa}	11,68 ± 5,94 ^{Bd}	40,30 ± 169,70 ^{Ba}	24,43 ± 254,91 ^{Ba}
TOC/TAC (µmol/L)	S	7,64 ± 2,83 ^{ABa}	8,84 ± 4,08 ^{Ba}	10,24 ± 4,25 ^{Ba}	4,25 ± 1,29 ^{Aa}
	SI	8,35 ± 3,77 ^{ABa}	6,41 ± 1,61 ^{Ba}	8,51 ± 2,38 ^{Ab}	6,67 ± 1,13 ^{Bd}
TOC (µmol/L)	S	30,04 ± 4,38 ^{Ba}	37,94 ± 5,16 ^{Aa}	29,38 ± 3,07 ^{Ba}	29,40 ± 4,74 ^{Ba}
	SI	26,57 ± 5,41 ^{Bd}	38,39 ± 7,04 ^{Aa}	26,55 ± 2,81 ^{Bd}	29,84 ± 4,62 ^{Ba}
TAC (mmol/L)	S	0,44 ± 0,14 ^{ABa}	0,51 ± 0,21 ^{Ba}	0,30 ± 0,06 ^{Aa}	0,73 ± 0,14 ^{Ca}
	SI	0,38 ± 0,12 ^{BCa}	0,62 ± 0,11 ^{Aa}	0,32 ± 0,05 ^{Ca}	0,46 ± 0,08 ^{Bd}
TBARS (µmol/L)	S	22,32 ± 8,78 ^{Aa}	33,90 ± 15,22 ^{Aa}	38,78 ± 31,81 ^{Aa}	35,44 ± 37,73 ^{Aa}
	SI	19,34 ± 0,77 ^{Ba}	41,81 ± 29,13 ^{Aa}	54,94 ± 42,39 ^{Ca}	27,47 ± 21,19 ^{ABa}
Ácido úrico (mg/dL)	S	0,09 ± 0,03 ^{Aa}	0,05 ± 0,02 ^{Ba}	0,07 ± 0,04 ^{ABa}	0,09 ± 0,05 ^{Aa}
	SI	0,10 ± 0,05 ^{Aa}	0,04 ± 0,02 ^{Ba}	0,06 ± 0,04 ^{Ba}	0,10 ± 0,04 ^{Aa}
Albumina (mg/dL)	S	35,67 ± 5,35 ^{Aa}	34,35 ± 2,36 ^{Aa}	31,46 ± 2,72 ^{Ba}	32,49 ± 4,21 ^{ABa}
	SI	27,52 ± 3,18 ^{Ad}	30,71 ± 2,24 ^{Bd}	27,69 ± 2,68 ^{Ad}	30,69 ± 5,75 ^{ABd}
Bilirrubina	S	0,36 ± 0,18 ^{ABa}	0,42 ± 0,06 ^{Aa}	0,31 ± 0,12 ^{BCa}	0,25 ± 0,07 ^{Ca}
Total (mg/dL)	SI	0,29 ± 0,07 ^{Aa}	0,39 ± 0,05 ^{Ba}	0,26 ± 0,06 ^{ACa}	0,18 ± 0,06 ^{Cd}
Volume Globular (%)	S	33,33 ± 3,31 ^{ABa}	34,93 ± 2,92 ^{Aa}	32,93 ± 3,90 ^{ABa}	31,20 ± 3,76 ^{Ba}
	SI	30,95 ± 5,51 ^{ABa}	32,00 ± 2,83 ^{Ab}	29,32 ± 2,98 ^{BCd}	26,86 ± 2,36 ^{Cd}

S- Suffolk; SI-Santa Inês; OPG- ovos por grama de fezes; pi- pós- infecção

*Letras diferentes e maiúsculas na mesma linha, diferem entre si quanto aos momentos da mesma raça ($p < 0,05$). Letras diferentes e minúsculas, na mesma coluna, diferem entre si quanto a diferença racial do mesmo momento ($p < 0,05$).

3.2 Variação dos marcadores de estresse oxidativo pós-infecção com *H. contortus*

No dia pré-infecção (dia 0), o TOC e a albumina plasmática de ovinos da raça Suffolk foi significativamente maior do que da raça Santa Inês, não havendo outras diferenças raciais quanto aos demais marcadores de estresse oxidativo (Tabela 1).

Durante o período pós-infecção o status antioxidante variou com a raça e de acordo com o momento da infecção. De modo geral, o índice de estresse oxidativo aumentou do dia 28 aos 34 e diminuiu no 42º dia pós-infecção, porém em relação ao momento pré-infecção, estas alterações não foram significantes (Tabela 1).

No 28º dia pós-infecção, na raça Santa Inês, não obstante tenha ocorrido um aumento significativo de TOC, foi observada uma discreta diminuição do índice de estresse oxidativo associada a um aumento significativo de TAC, albumina e de bilirrubina total no plasma (Tabela 1). Diferentemente, neste mesmo momento, ovinos da raça Suffolk, apresentaram uma discreta elevação do índice de estresse oxidativo que coincidiu com um significativo aumento de TOC e diminuição do antioxidante ácido úrico. Em ambas as raças foram observadas aumento da peroxidação lipídica plasmática, sendo, porém os valores de TBARS foram significantes apenas na raça Santa Inês.

Com o avançar da infecção, no 34º dia pós-infecção, foram observados os maiores valores de peroxidação lipídica plasmática e do índice de estresse oxidativo em ambas as raças, entretanto, só foi significativo o aumento de TBARS em ovinos da raça Santa Inês em relação ao momento pré-infecção e o maior do índice de estresse oxidativo em Suffolk que na Santa Inês.

Neste estágio o aumento do índice de estresse oxidativo em ambas as raças coincidiu com a diminuição de TAC e bilirrubina. Quando comparado ao dia 0, tal elevação do índice de estresse oxidativo (TOC/TAC) na raça Suffolk, é concomitante com a diminuição plasmática de bilirrubina total, ácido úrico e

TAC, assim como um decréscimo significativo de albumina. Já, em ovinos da raça Santa Inês o aumento do índice de estresse oxidativo se deve a diminuição plasmática de TAC, bilirrubina total e há um decréscimo significativo do ácido úrico.

Posteriormente, em relação ao dia 0, ovinos com 42 dias pós-infecção, de ambas as raças, apresentaram diminuição do índice de estresse oxidativo concomitante ao aumento de TAC. Houve também a diminuição da peroxidação lipídica plasmática em ovinos da raça Santa Inês, quando comparado ao momento anterior (dia 34). Dentre os antioxidantes endógenos mensurados, nenhum aumentou de modo significativo neste estágio da infecção. Já, o TOC diminuiu significativamente apenas em relação ao dia 28.

As diferenças raciais foram demonstradas com a presença da menor peroxidação lipídica plasmática concomitante aos significantes, e maiores valores do índice de estresse oxidativo e menores valores de TAC, albumina e bilirrubina em os ovinos da raça Santa Inês. (Tabela 1).

3.3. Correlação entre o aumento da carga parasitária, o estresse oxidativo, a anemia e hipoalbuminemia em ovinos infectados experimentalmente por *H. contortus*

O aumento do índice de estresse oxidativo acompanhou o aumento da carga parasitária até o 34º dia pós-infecção em ovinos da raça Suffolk, fato não observado na raça Santa Inês. Esta, por sua vez, apresentou os menores índices de estresse oxidativo quando possuía a menor carga parasitária (28 dias) e a maior (34 dias) (Tabela 1). O pico do índice de estresse oxidativo observado durante esse período da parasitose coincide com o declínio da TAC plasmática em ambas as raças.

Já, o pico da carga parasitária estimada pelo OPG ocorreu com 42 dias após a infecção, momento em que houve o menor índice de estresse oxidativo e maior elevação do TAC plasmático. Não obstante, no 28º dia pós-infecção o

OPG se correlacionou apenas com o TOC ($r=0,58$; $p=0,0245$) em ovinos da raça Suffolk e com a bilirrubina total ($r= 0,49$; $p= 0,0200$) na raça Santa Inês.

O aumento da carga parasitária ao longo do período pós-infecção promoveu em ambas as raças um declínio progressivo do volume globular (VG) sanguíneo (Tabela 1). Tal declínio do VG coincide com os maiores índices de estresse oxidativo e maior concentração de TBARS. Em ovinos da raça Santa Inês, a diminuição de VG foi significativa apenas 42 dias pós-infecção, fato não verificado na raça Suffolk (Tabela 1).

O efeito espoliador de sangue do *Haemonchus spp* sobre a concentração plasmática de albumina só foi significativa em ovinos da raça Suffolk com 34 dias pós-infecção, sendo que neste momento ocorreu o maior índice de estresse oxidativo e maior peroxidação lipídica do plasma (Tabela 1).

4 DISCUSSÃO

4.1 Ovinos da raça Santa Inês são mais resistentes que os da raça Suffolk à infecção experimental por *H. contortus*

Apesar do grande interesse em selecionar raças de ovinos mais resistentes à hemoncose, pouco se sabe a respeito e sobre quais os mecanismos envolvidos neste processo de resistência parasitária. Diferença quanto a carga parasitária estimada pelo OPG entre ovinos de diversas raças (AMARANTE et al., 2004;; BASSETO et al., 2009; BRICARELLO et al., 2004; NICOLODI et al., 2010) já foram relatadas anteriormente. Há uma única evidência de que ovinos jovens da raça Santa Inês, comparados à Suffolk, são naturalmente mais resistente à verminose gastrintestinal (AMARANTE et al, 2004).

O maior OPG observado na raça Suffolk em todo o período da infecção experimental indica que ovinos da raça Santa Inês de fato sejam mais resistentes ao *H. contortus*, concordando com as observações realizadas à campo por AMARANTE et al. (2014). Entretanto, o fato de que a diferença

racial em relação ao OPG só tenha sido observada no dia 28 pós-infecção, sugere que as condições de manejo adotado no estudo experimental minimizaram as diferenças entre raças quanto à resistência parasitária. Neste sentido é razoável supor que nas condições experimentais e de confinamento nas quais o presente estudo foi realizado, a diferença de resistência parasitária entre as duas raças estudadas foram menores que o relatado em estudo realizado à campo por AMARANTE et al. (2014).

4.2 O estresse oxidativo aumenta durante a infecção com *H. contortus* e varia conforme a raça

No dia pré-infecção (dia 0) o status antioxidante das duas raças foram similares, o índice de estresse oxidativo não diferiu apesar entre ovinos das raças Santa Inês e Suffolk apresentarem diferenças quanto ao TOC e a albumina plasmática. Não obstante tais diferenças, todos os parâmetros bioquímicos e hematológicos mensurados ficaram dentro do intervalo de normalidade descrita para espécie (KANEKO, 2008; JAIN, 1986), confirmando a boa condição clínica e nutricional dos animais selecionados antes da infecção. Não foi encontrada na literatura valores de TOC e índice de estresse oxidativo em ovinos, sendo este parâmetro provavelmente quantificado pela primeira vez na espécie.

Pouco se sabe sobre o estresse oxidativo na infecção por parasitos gastrintestinais e os estudos existentes apenas se limitaram a quantificar a diminuição de alguns antioxidantes isoladamente ou da TAC (LIGHTBODY et al., 2001; NICOLODI et al., 2010). O aumento da produção do oxidante superóxido em larvas infectantes de *H. contortus* foi observado *in vitro* (HADAŚ; STANKIEWICZ, 1998), porém não há registro de outros estudos que tenham quantificado o TOC em ovinos.

No dia 28 pós-infecção, já passado o período de pré-patente de até 21 dias (BRICARELLO, et al., 2002), em ambas as raças o estresse oxidativo foi detectado pelo aumento de TOC e peroxidação lipídica plasmática. A relação

TOC/TAC, proposta por Aycicek et al. (2005) como um marcador mais sensível, não foi capaz de expressar o estresse oxidativo neste momento pós-infecção. Os ovinos da raça Suffolk apresentaram diminuição de ácido úrico sem aumento da peroxidação lipídica, enquanto que na raça Santa Inês foi observada elevação da peroxidação lipídica apesar do aumento de TAC, da albumina e da bilirrubina total plasmática. A diminuição por consumo do antioxidante ácido úrico plasmático já havia sido demonstrada em outras condições de estresse infeccioso (ALMEIDA et al., 2013), porém não descrita em parasitoses gastrintestinais.

O avanço da infecção por *H. contortus* promoveu um aumento do estresse oxidativo, sendo observados os maiores valores de peroxidação lipídica plasmática e do índice de estresse oxidativo em ambas as raças no dia 34 pós-infecção. Neste estágio da infecção, a relação TOC/TAC foi maior em ovinos da raça Suffolk e coincidiu em ambas as raças com a diminuição de TAC, ácido úrico e bilirrubina. A diminuição de TAC já havia sido descrita em ovinos infectados com *T. circumcincta* (LIGHTBODY et al., 2001) e *H. contortus* (LEAL et al., 2014). Comparado ao momento anterior (28 dias), onde o estresse oxidativo deveu-se ao marcante aumento de oxidante (TOC), neste estágio mais avançado da infecção o status antioxidante foi afetado pelo decréscimo do TAC. É provável que o declínio de TAC (34 dias) tenha sido resultante do consumo de antioxidante causado o pico TOC observado no momento anterior da infecção (28 dias).

A albumina é um importante antioxidante endógeno (LUCENA, 2010) e a maior peroxidação lipídica observada em ovinos Santa Inês, pode ser explicada em parte, pela presença da menor concentração de albumina nesta raça que na Suffolk. Já a diminuição da concentração plasmática do antioxidante bilirrubina tem sido descrito em outras causas de estresse oxidativo em humanos (NEUIIL; STOCKER, 1993) e, portanto também pode ter contribuído para o aumento do índice de estresse oxidativo. Porém há de se considerar que parte da bilirrubina do sangue é ligada à albumina (NEUIIL; STOCKER, 1993) e que o declínio dessa proteína plasmática causada pela ação

hematófaga da *H. contortus* (NICOLODI et al., 2010) pode ter contribuído para diminuição desse pigmento antioxidante.

No estágio mais avançado da infecção por *H. contortus* (42 pós-infecção) foram observados os menores índices de estresse oxidativo, os maiores valores de TAC e concomitante decréscimo da peroxidação lipídica, sugerindo uma resposta mais eficaz do sistema antioxidante ao estresse oxidativo causado pela infecção. É aceito que Infecções parasitárias causam danos teciduais responsáveis pela maior produção de ERO (WOLKMER et al., 2009). Considerando que neste estágio mais avançado da infecção foi observada a maior carga parasitária e a menor relação TOC/TAC, é razoável supor que o estresse oxidativo observado nos momentos anteriores da infecção seja consequência em parte das lesões teciduais geradas na fase migratória das larvas infectantes e das lesões da mucosa gástrica ocasionadas pelas formas adultas de *H. contortus*.

Provavelmente esta é uma das primeiras evidências de que o *H. contortus* causa estresse oxidativo e de que na hemonose ovina o status antioxidante varia com a raça e com o momento da infecção. Entretanto, os resultados obtidos não permitem afirmar que a maior resistência ou susceptibilidade racial ao *H. contortus* se deve ao desequilíbrio entre antioxidante e oxidante, sendo necessárias mais investigações sobre este tema.

4.3 Correlação entre o aumento da carga parasitária, o volume globular do sangue, a hipoalbuminemia e o estresse oxidativo em ovinos infectados com *H. contortus*

Há evidências de que a lesão causada por larvas de *H. contortus* promove aumento de oxidantes a partir da ativação da produção de superóxido em ovinos (HADAŚ; STANKIEWICZ, 1998) e que larvas infectantes de *Strongyloides papillosus* mortas após a desverminação também estimulam a produção espécies reativas de oxigênio até que os seus restos sejam

totalmente eliminados (DIMITRIJEVIC et al., 2012). Esta seria a provável explicação para o fato dos ovinos Suffolk, mais susceptíveis a hemoncose, tenham apresentado um TOC significativamente maior mesmo após o tratamento anti-helmíntico ter zerado a sua carga parasitária.

Segundo Dimitrijevic et al., (2012) o grau de danos oxidativos depende da intensidade da infecção parasitária. Fortalecendo a hipótese de que há relação entre a hemoncose e o estresse oxidativo, no presente estudo o aumento do índice de estresse oxidativo pode ter ocorrido como consequência ao aumento proporcional da carga parasitária do dia 28 ao o 34º dia pós-infecção. Já, o pico do estresse oxidativo pode ter refletido no declínio da TAC plasmática em ambas as raças, sugerindo um consumo de antioxidante neste momento pós-infecção (34 dias), uma vez que houve no momento anterior um aumento significativo de oxidante. Entretanto, durante o pico da carga parasitária (42 dias pós-infecção) foi verificado o menor índice de estresse oxidativo e maior elevação do TAC plasmático. Este resultado aparentemente contraditório sugere que o status antioxidante sofre um desequilíbrio causado pelo aumento de oxidantes na fase inicial da infecção por *H. contortus*. É provável que o aumento inicial de TOC (dia 28) tenha causado a queda transitória de antioxidante no momento posterior (dia 34) o que promoveu no hospedeiro um aumento da síntese de antioxidante capaz de diminuir o estresse oxidativo no dia 42 pós-infecção.

Estudos demonstraram a necessidade de defesas antioxidantes eficazes para o desenvolvimento de imunidade contra a infecção por parasitos gastrintestinais (AU YEUNG, 2005; RAO et al., 2001; SMITH et al., 2005). É necessário considerar que tanto a produção de ERO como de antioxidantes são importantes componentes na resistência do hospedeiro contra infecções gastrintestinais (BEN-SMITH et al., 2002; DZIK, 2006; KOTZE, 2003). Mudanças na expressão de genes-chave relacionados com a produção de oxidantes e antioxidantes em ovelhas resistentes e não resistentes infectadas por *H. contortus* comprovam que ovelhas hiperimunizadas apresentam uma resposta inflamatória específica, caracterizada por um aumento na expressão

de moléculas relacionada com a produção de oxidantes e de antioxidantes (LEE et al., 2011). Ovinos Santa Inês apresentaram menor carga parasitária, menor índice de estresse oxidativo, menor TOC e maior TAC quando comparado ao Suffolk. Tais resultados sustentam a hipótese de que a raça Santa Inês é mais resistente ao *H. contortus* por possuir maior capacidade antioxidante que a raça Suffolk.

O fato de não ter sido verificado qualquer correlação significativa entre a carga parasitária estimada pelo OPG e os marcadores de estresse oxidativo, exceto uma correlação com TBARS (Suffolk) e com a bilirrubina (Santa Inês), sugere que o ponto crucial da relação entre o status antioxidante e a infecção ocorra na fase pré-patente e na fase mais avançada da infecção, quando os sintomas causados pela ação hematófaga do *H. contortus* é mais marcante. Alguns resultados apoiam parcialmente nossa hipótese inicial que devido à ação hematófaga do *H. contortus* a capacidade antioxidante eritrocitária e da albumina poderia contribuir para o estresse oxidativo em ovinos infectados. Neste sentido, coincidente ao aumento da carga parasitária pós-infecção, em ambas as raças estudadas, foi observado um declínio progressivo do volume globular do sangue (VG), sendo esta queda mais evidente em ovinos da raça Santa Inês. Este efeito espoliador de sangue das larvas de *H. contortus* sobre o VG já havia sido relatado (AMARANTE et al., 2004; BASSETTO et al., 2009; BRICARELLO et al., 2002). Em ambas as raças o declínio do VG coincidiu com os maiores índices de estresse oxidativo e maior concentração de TBARS. Estes resultados são concordantes com outro estudo onde cordeiros infectados experimentalmente com *H. contortus* apresentaram aumento do TBARS plasmático (DO REO LEAL et al., 2010).

Já a albumina que é o principal antioxidante endógeno do plasma (CERQUEIRA et al., 2007), sendo a hipoalbuminemia um achado comum em ovinos infectados por *H. contortus* (NICOLODI et al., 2010). No presente estudo o efeito espoliador de sangue do *H. contortus* sobre a concentração plasmática de albumina foi significativa em ovinos Suffolk 34 dias pós-infecção, sendo que neste momento ocorreu o maior índice de estresse oxidativo e maior

peroxidação lipídica do plasma. Estes resultados sugerem que a hipoalbuminemia pode contribuir para aumento do estresse oxidativo na haemoncose ovina e reforça a importância da boa nutrição no controle de verminoses, fortalecendo o conceito de que ovinos desnutridos possam sofrer maior estresse oxidativo nas infecções parasitárias.

5 Conclusão

A infecção experimental por *H. contortus* causa estresse oxidativo e este varia com a raça e com o momento da infecção. Na fase inicial da infecção por *H. contortus*, em ovinos, ocorre um aumento da produção de oxidantes que acarreta um consumo significativo de antioxidante seguido por um aumento de síntese de antioxidante capaz de controlar o estresse da infecção.

Ovinos da raça Sulffolk demonstraram ser menos resistente ao *H. contortus* que os da raça Santa Inês não obstante detenham um melhor status oxidativo, menor estresse oxidativo e a menor carga parasitária. Já, durante da infecção por *H. contortus*, a anemia e a hipoalbuminemia não se correlaciona com a carga parasitária e não contribuindo assim de modo significativo para o estabelecimento do estresse oxidativo.

6 Agradecimentos

À CAPES pela bolsa auxílio de mestrado, e a Laine Margareth Gabas pelo auxílio na pesquisa.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, B. F. M.; NARCISO, L. G.; MELO, L. M.; PREVE, P. P.; BOSCO, A. M.; LIMA, V. M. F.; CIARLINI, P. C. Leishmaniasis causes oxidative stress and

alteration of oxidative metabolism and viability of neutrophils in dogs. **The Veterinary Journal**, v. 198, n. 3, p. 599-605, 2013.

AMARANTE, A. F. T.; SALES R. D. O. Controle de Endoparasitoses dos Ovinos: Uma Revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 1, n. 2, p. 14-36, 2007.

AMARANTE, A. D.; BRICARELLO, P. A.; GENNARI, S. M. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France sheep to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v. 120, n. 1, p. 91-106, 2004.

AMARANTE, A. F. T.; BARBOSA, M. A.; DE OLIVEIRA, M.; SIQUEIRA, E. R. Eliminação de ovos de nematódeos gastrintestinais por ovelhas de quatro raças durante diferentes fases reprodutivas. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 27, n. 1, p. 47-51, 1992.

AMES, B. N.; CATHCART, R.; SCHWIERS, E.; HOCHSTEIN, P. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant-and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 78, n. 11, p. 6858-6862, 1981.

AYCICEK, A.; EREL, O.; KOCYIGIT, A. Decreased total antioxidant capacity and increased oxidative stress in passive smoker infants and their mothers. **Pediatrics International**, v. 47, n. 6, p. 635-639, 2005.

AU YEUNG, K. J.; SMITH, A.; ZHAO, A.; MADDEN, K. B.; ELFREY, J.; SULLIVAN, C.; SHEA-DONOHUE, T. Impact of vitamin E or selenium deficiency on nematode-induced alterations in murine intestinal function. **Experimental Parasitology**, v. 109, n. 4, p. 201-208, 2005.

BASSETTO, C. C.; SILVA, B. F. D.; FERNANDES, S.; AMARANTE, A. F. T. D. Contaminação da pastagem com larvas infectantes de nematoides gastrintestinais após o pastejo de ovelhas resistentes ou susceptíveis à verminose. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 4, p. 63-68, 2009.

BEHNKE, J. M.; IRAQI, F.; MENGE, D.; BAKER, R. L.; GIBSON, J.; WAKELIN, D. Chasing the genes that control resistance to gastrointestinal nematodes. **Journal of Helminthology**, v. 77, n. 2, p. 99-110, 2003.

BEN-SMITH, A.; LAMMAS, D. A.; BEHNKE, J. M. Effect of oxygen radicals and differential expression of catalase and superoxide dismutase in adult *Heligmosomoides polygyrus* during primary infections in mice with differing response phenotypes. **Parasite Immunology**, v. 24, n. 3, p. 119-129, 2002.

BETHONY, J. M.; LOUKAS, A.; HOTEZ, P. J.; KNOX, D. P. Vaccines against blood-feeding nematodes of humans and livestock. **Parasitology**, v. 133, n. S2, p. S63-S79, 2006.

BRICARELLO, P. A.; GENNARI, S. M.; OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C. G.; VAZ, C. M. S. L.; DE GONÇALES, I. G.; ECHEVARRIA, F. A. M. Response of Corriedale and Crioula Lanada sheep to artificial primary infection with *Haemonchus contortus*. **Veterinary Research Communications**, v. 26, n. 6, p. 447-457, 2002.

BURKE, J. M.; MILLER, J. E.; MOSJIDIS, J. A.; TERRILL, T. H. Use of a mixed *sericea lespedeza* and grass pasture system for control of gastrointestinal nematodes in lambs and kids. **Veterinary Parasitology**, v. 186, n. 3, p. 328-336, 2012.

CELI, P. Biomarkers of oxidative stress in ruminant medicine. **Immunopharmacology and Immunotoxicology**, v. 33, n. 2, p. 233-240, 2011.

CERQUEIRA, F. M.; DE MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 441, 2007.

CIARLINI, P. C.; CIARLINI, L. D. R. P.; ALENCAR, N. X.; HOHAYAGAWA, A.; RODRIGUES, C. F. C. Metabolismo oxidativo de neutrófilos em ovelhas naturalmente infectadas por nematódeos gastrintestinais e correlação entre nível sérico de cortisol e carga parasitária. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 54, n. 3, p. 242-247, 2002.

DE CAMARGO, E. V.; LOPES, S. T. D. A.; COSTA, M. M.; PAIM, F.; BARBOSA, C. S.; LEAL, M. L. R. SHORT COMMUNICATION: Neutrophil oxidative metabolism and haemogram of sheep experimentally infected with *Haemonchus contortus* and supplemented with selenium and vitamin E. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 94, n. 5, p. e1-e6, 2010.

DIMITRIJEVIĆ, B.; BOROZAN, S.; KATIĆ-RADIVOJEVIĆ, S.; STOJANOVIĆ, S. Effects of infection intensity with *Strongyloides papillosus* and albendazole treatment on development of oxidative/nitrosative stress in sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 186, n. 3, p. 364-375, 2012.

DO REO LEAL, M. L. ; DE CAMARGO, E. V.; ROSS, D. H.; MOLENTO, M. B.; LOPES, S. T. D. A.; DA ROCHA, J. B. T. Effect of selenium and vitamin E on oxidative stress in lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus*. **Veterinary Research Communications**, v. 34, n. 6, p. 549-555, 2010.

DO RÊGO LEAL, M. L.; PIVOTO, F. L.; FAUSTO, G. C.; AIRES, A. R.; GRANDO, T. H.; ROOS, D. H.; SUDATI, J. H.; WAGNER, C.; COSTA, M. M.; MOLENTO, M. B.; DA ROCHA, J. B. T. Copper and selenium: Auxiliary measure to control infection by *Haemonchus contortus* in lambs. **Experimental parasitology**, v. 144, p. 39-43, 2014.

DZIK, J. M. Molecules released by helminth parasites involved in host colonization. **Acta Biochimica Polonica**, v. 53, n. 1, p. 33-64, 2006.

EREL, O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. **Clinical Biochemistry**, v. 37, n. 4, p. 277-285, 2004.

EREL, O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. **Clinical Biochemistry**, v. 38, n. 12, p. 1103-1111, 2005.

FERREIRA, A. L.; MATSUBARA, L. S. Free radicals: concepts, associated diseases, defense system and oxidative stress. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.43, n. 1, p. 61, 1997.

GUEDES, M. T.; ZACHARÍAS, F.; COUTO, R. D.; PORTELA, R. W.; SANTOS, L. C. S.; SANTOS, S. C. O.; PEDROZA, K. C.; PEIXOTO, A. P. C.; LÓPEZ, J. A.; MENDONÇA-LIMA, F. W. Maternal transference of passive humoral immunity to *Haemonchus contortus* in goats. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 136, n. 1, p. 138-143, 2010.

GORDON, H. McL; WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of the Council for Scientific and Industrial Research**, v. 12, n. 1, p. 50-52, 1939.

HADAŚ, E.; STANKIEWICZ, M. Superoxide dismutase and total antioxidant status of larvae and adults of *Trichostrongylus colubriformis*, *Haemonchus contortus* and *Ostertagia circumcincta*. **Parasitology Research**, v. 84, n. 8, p. 646-650, 1998.

HENKLE-DÜHRSEN, K.; KAMPKÖTTER, A. Antioxidant enzyme families in parasitic nematodes. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 114, n. 2, p. 129-142, 2001.

JAIN, N. C. Hematologic techniques. **Schalm's Veterinary Hematology**. 4.ed. Philadelphia: Lea & Febiger. p.20-86. 1986.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Ed.). Clinical biochemistry of domestic animals. **Academic press**, 2008.]

KOTZE, A. C. Catalase induction protects *Haemonchus contortus* against hydrogen peroxide in vitro. **International journal for parasitology**, v. 33, n. 4, p. 393-400, 2003.

LE JAMBRE, L. F. Pre-mating barriers in hybrid *Haemonchus*. **International Journal for Parasitology**, v. 13, n. 4, p. 371-375, 1983.

LEES, M. S.; ROBINSON, N. A.; INGHAM, A. B.; KOTZE, A. C.; PIEDRAFITA, D, M. Dual oxidase 2 and glutathione peroxidase gene expression are elevated in hyperimmunised sheep challenged with *Haemonchus contortus*. **Veterinary parasitology**, v. 179, n. 1, p. 113-122, 2011.

LIGHTBODY, J. H.; STEVENSON, L. M.; JACKSON, F.; DONALDSON, K.; JONES, D. G. Comparative aspects of plasma antioxidant status in sheep and goats, and the influence of experimental abomasal nematode infection. **Journal of Comparative Pathology**, v. 124, n. 2, p. 192-199, 2001.

LUCENA, C. F. Antioxidantes em exercícios aeróbios: papel do selênio e glutathiona peroxidase. **Revista Mackenzie de Educação Física e Esporte**, v. 9, n. 1, 2010.

MILLER, J. E.; BAHIRATHAN, M.; LEMARIE, S. L.; HEMBRY, F. G.; KEARNEY, M. T.; BARRAS, S. R. Epidemiology of gastrointestinal nematode parasitism in Suffolk and Gulf Coast Native sheep with special emphasis on relative susceptibility to *Haemonchus contortus* infection. **Veterinary parasitology**, v. 74, n. 1, p. 55-74, 1998.

NEUŽIL, J.; STOCKER, R. Bilirubin attenuates radical-mediated damage to serum albumin. **Federation of European Biochemical Societies Letters**, v. 331, n. 3, p. 281-284, 1993.

NICOLODI, P. R. S. J.; DE CAMARGO, E. V.; ZENI, D.; DA ROCHA, R. X.; CYRILLO, F. C.; DE SOUZA, F. N.; LIBERA, A. M. M. D.; BONDAN, C.; LEAL, M. L. D. R. Protein Profile and oxidative metabolism of lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus* and supplemented with selenium and vitamin E. **Ciência Rural**, v. 40, n. 3, p. 561-567, 2010.

RAO, A. V.; BALACHANDRAN, B. Role of oxidative stress and antioxidants in neurodegenerative diseases. **Nutritional Neuroscience**, v. 5, n. 5, p. 291-309, 2002.

ROBERTS, F. H. S.; O'SULLIVAN, P. J. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastro-intestinal tract of cattle. **Crop and Pasture Science**, v. 1, n. 1, p. 99-102, 1950.

ROCHE, M.; RONDEAU, P.; SINGH, N. R.; TARNUS, E.; BOURDON, E. The antioxidant properties of serum albumin. **Federation of European Biochemical Societies Letters**, v. 582, n. 13, p. 1783-1787, 2008.

SANTIAGO, M.A.M.; DA COSTA, U.C.; BENEVENGA, S.F. A oviposição média diária e o período pré-patente dos principais helmintos parasitas de ovinos no Rio Grande do Sul. **Revista Centro Ciências Rurais**, v. 11, p. 87-91, 1981.

SMITH, A.; MADDEN, K. B.; AU YEUNG, K. J.; ZHAO, A.; ELFREY, J.; FINKELMAN, F.; LEVANDER, O.; SHEA-DONOHUE, T.; URBAN JUNIOR, J. F.; Deficiencies in selenium and/or vitamin E lower the resistance of mice to *Heligmosomoides polygyrus* infections. **The Journal of Nutrition**, v.135, n. 4, p. 830-836, 2005.

SIWELA, A. H.; MAMBVURA, C. I.; MASANGANISE, K. E.; DUBE, S. Oxidative stress associated with nematode infections in sheep: a preliminary study. **International Journal of Biological and Chemical Sciences**, v. 4, n. 1, 2010.

UENO, H.; GONÇALVES, V.C. **Manual para Diagnóstico das Helmintoses de Ruminantes**. Tóquio : Agência de Cooperação Internacional do Japão, 143p,1998.

WOLKMER, P.; DA SILVA, S. A.; TRAESEL, C. K.; PAIM, F. C.; CARGNELUTTI, J. F.; PAGNONCELLI, M.; PICADA, M. E.; MONTEIRO, S. G.; LOPES, S. T. D. A. Lipid peroxidation associated with anemia in rats experimentally infected with *Trypanosoma evansi*. **Veterinary Parasitology**, v. 165, n. 1-2, p. 41-46, 2009.

WOOLASTON, R. R.; BAKER, R. L. Prospects of breeding small ruminants for resistance to internal parasites. **International Journal for Parasitology**, v. 26, n. 8, p. 845-855, 1996.

ZAR, J. H. **Biostatistical Analysis**. 2nd. Ed. Prentice Hall. USA, 718p, 1984.