

ATIVIDADE DAS METALOPROTEINASES DE MATRIZ -2 E -9 NO PLASMA SANGUÍNEO DE CAPRINOS CRONICAMENTE INFECTADOS COM ARTRITE ENCEFALITE CAPRINA (CAE)

Fonseca, Luzianna Macedo^{1*}; Ângela Maria Xavier Eloy²; Pinheiro, Raymundo Rizaldo³; Alice Andrioli Pinheiro⁴.

¹Aluna do Curso de graduação em Zootecnia da Universidade Estadual Vale do Acaraú - UeVA, Bolsista PIBIC/CNPq/Embrapa. E-mail: luzianna.medicinavet@gmail.com*

²Médica Veterinária, PhD, Pesquisadora da Embrapa Caprinos e Ovinos. E-mail: angela.eloy@embrapa.br

³Médico Veterinário, DSc, Pesquisador da Embrapa Caprinos e Ovinos. E-mail:

rizaldo.pinheiro@embrapa.br

⁴Médica Veterinária, PhD, Pesquisadora da Embrapa Caprinos e Ovinos. E-mail: alice.andrioli@embrapa.br

Na fase crônica da artrite encefalite caprina (CAE), as metaloproteinases de matriz (MMPs) são ativadas, por desequilíbrios homeostáticos no animal. Elas atuam na degradação e remodelamento extracelular, ocorrendo tanto em processos fisiológicos como patologias de caráter agudo ou crônico. As gelatinases (MMP-2 e MMP-9), em suas formas latente e ativa, terão foco neste trabalho. O objetivo foi identificar a atividade das metaloproteinases -2 e -9, através da Zimografia, no plasma sanguíneo (PS) de caprinos infectados com CAE. O experimento ocorreu na Embrapa Caprinos e Ovinos, com PS de dez fêmeas Saanen, com idades entre dois a seis anos, cronicamente infectadas com CAE. A doença foi confirmada pela análise sorológica (*Western Blotting*) e molecular (*nPCR*) utilizando amostra sanguínea dos respectivos animais, onde os achados corroboraram com a sintomatologia clínica. A quantificação proteica foi realizada pelo método de Bradford, com leitura de absorbância a 580 nanômetros, utilizando albumina sérica bovina (BSA) como padrão. No gel de poliacrilamida 10% e gelatina (2 mg/mL) foram trabalhadas alíquotas de 10 µL. As amostras foram submetidas à eletroforese e desnaturadas por SDS. Posteriormente, o gel passou por lavagens com Triton X-100 a 2% e foi incubado *overnight*, admitindo que as proteases digerissem o substrato ao redor da sua posição eletroforética. Estas áreas foram visualizadas ao corar o gel com Coomassie Blue. A estatística descritiva baseou-se na intensidade das bandas enzimáticas no gel. Os volumes médios e intensidades (*pixels*) foram obtidas através do software *Gel Analyzer versão 2010* e o peso molecular através do *Vision Works Ultra-Violet Products Ltd.®*. Os animais apresentaram atividade elevada das MMPs-2 e Pro-9. Alguns apresentaram co-expressão da forma ativa MMP-9 e da latente (Pro-MMP-9), simultaneamente, exceto os animais 5, 6 e 8, possivelmente pelo processo de transcrição para o estágio ativo estar em andamento. Na densitometria a ProMMP-9 alcançou média de 986,5 pixels, MMP-9 352,3 pixels e MMP-2 1516,9 pixels, sugerindo que a MMP-9 participa de processos patológicos em animais infectados. No teste Tukey, houve expressão significativa (*pixels*) das MMP-2 (1516,9 A ± dp 225,9) em relação à ProMMP-9 (549 B ± dp 187,9) (P<0,05). A ProMMP-9, apesar de aumentada, não é significativa quanto à MMP-2, já que parte dela foi ativada na soroconversão, de ProMMP-9 em MMP-9 (246,6 ± dp 176,3). Isso explica que a ativação da MMP-2 pode ter sido desencadeada diversos fatores, como possíveis espécies reativas de oxigênio ou pela ação da MT1-MMP (MMP-14). Conclui-se que, possivelmente existe uma relação entre os resultados do *nPCR* com a Zimografia; A gelatinase B (MMP-9) e a gelatinase A (MMP-2), estão presentes em animais soropositivos, desempenhando atividade significativa. Há necessidade de estudos aprofundados, especialmente voltados a busca de um marcador específico desta doença.

Palavras-Chave: Lentivírus, CAE, Zimografia.

Agradecimentos: Ao CNPq pelo auxílio financeiro à pesquisa – PIBIC (02.13.10.003.00.06).