

Proteinograma sérico de bezerras da raça Holandesa do nascimento aos 150 dias de idade

Serum proteinogram in Holstein Friesian calves from birth until 150 days of age

COSTA, Joselito Nunes¹; PEIXOTO, Ana Paula Cardoso²; KOHAYAGAWA, Aguemí³;
SOUZA, Thiago Sampaio⁴

¹-Docente do Departamento de Patologia e Clínicas, Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil.

²-Docente da Faculdade de Ciências Agrárias e da Saúde, Curso de Medicina Veterinária da União Metropolitana de Educação e Cultura, Lauro de Freitas, Bahia, Brasil.

³-Docente da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo, Brasil.

⁴-Discente da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil.

*Endereço para correspondências: ufbacdp@ufba.br

RESUMO

O presente trabalho foi conduzido com o objetivo analisar o efeito do desenvolvimento etário sobre o proteinograma de bezerras da raça Holandesa, no período do nascimento até os cinco meses de idade. Amostras de sangue de 10 bovinos foram colhidas ao nascimento e aos 15, 30, 60, 90, 120 e 150 dias de idade. A proteína sérica total apresentou variação significativa ($p \leq 0,05$), caracterizando-se por aumento dos valores determinado pelas frações albumina e globulina. A albumina elevou-se do nascimento até os 150 dias de idade, enquanto a gamaglobulina diminuiu significativamente aos 15 e 30 dias para, então, se elevar até os 150 dias de vida. Entretanto, a fração betaglobulina diminuiu até o período final de observação, por sua vez, a alfa globulina não sofreu influências do fator etário.

Palavras-chave: bovino, patologia clínica, proteína sérica

INTRODUÇÃO

A resposta imunológica do bovino recém-nascido é primária e caracterizada por ser lenta e com baixa concentração de

SUMMARY

This study was carried out to evaluate the influence of the age on the proteinogram of Holstein Friesian calves from birth to 150 days of age. Blood samples of 10 animals were collected at birth and on 15, 30, 60, 90, 120 and 150 days of age. The serum protein presented significant variation ($p \leq 0,05$), characterized by an increase in the values of the albumen and globulin fractions. The albumen was increased from birth until the 150 days of age, while the gamaglobulin decreased significantly on 15 and 30 days and then increased until 150 days. However, the betaglobulin fraction decreased until the final period of observation, while the alfa globulin was not influenced by age.

Key words: bovine, clinical pathology, serum protein

anticorpos e, portanto, pouco eficaz. Assim, esses animais necessitam de imunoglobulinas adquiridas passivamente de suas mães para uma melhor resposta às infecções nas primeiras semanas de vida. Como o tipo de placenta sindesmocorial não

permite a passagem de imunoglobulinas durante a vida fetal, o neonato ruminante depende da ingestão de colostro para a aquisição de anticorpos (TIZARD, 2000).

Logo após o nascimento, o valor das proteínas plasmáticas nos animais é baixo, devido aos teores mínimos das globulinas e da albumina. Com a ingestão do colostro, ocorre um rápido aumento da fração globulina, como resultado da absorção das imunoglobulinas maternas. Quando os anticorpos maternos declinam, o animal rapidamente adquire a competência imunológica pelo início da síntese endógena de imunoglobulinas. Daí, em função do desenvolvimento etário, os níveis protéicos se elevam com um pequeno decréscimo da albumina e um aumento no teor da globulina (KANEKO, 1997).

De forma semelhante, há correlação positiva entre a proteína total sérica e a concentração de imunoglobulinas nos primeiros dias de vida (MACHADO NETO et al., 2004a). A relação entre albumina e globulina mostra, particularmente, as variações das globulinas séricas, exibindo seus maiores e menores valores, respectivamente, entre o nascimento e oito horas pós-nascimento e com dois dias de idade (LEAL et al., 2003).

Os animais que possuem concentração inicial de imunoglobulina G sérica baixa apresentam concentrações médias de proteína total sérica inferiores às de animais com alta concentração inicial de IgG, mesmo quando suplementados com colostro de boa qualidade após 12 horas, mostrando-se a importância do manejo eficiente nas primeiras 12 horas de vida do animal (MACHADO NETO et al., 2004a). Um dos fatores mais importantes que afetam o nível sérico de imunoglobulinas dos bezerros é o tempo decorrido entre o parto e a primeira ingestão de colostro, sendo que uma menor taxa de mortalidade é observada quando o aleitamento é feito artificialmente no tempo certo e em quantidade adequada para

assegurar a higidez do recém-nascido (MACHADO NETO et al., 2004b). Entretanto, os teores séricos de proteína total e das frações obtidas por fracionamento eletroforético em gel de agarose, inclusive da gamaglobulina, não são influenciados significativamente pela forma de administração de colostro, ou seja, aleitamento diretamente na vaca ou em mamadeira (RIZZOLI et al., 2006).

Inúmeros pesquisadores têm usado o valor da proteína sérica total como um método indireto para estimar a concentração de imunoglobulinas no soro de bezerros. O método é baseado no simples fato de que valores baixos de proteína total refletem uma falha na transferência de anticorpos maternos. Como no recém-nascido o nível de albumina é pouco variável, as diferenças nas concentrações protéicas se devem, quase que exclusivamente, à absorção de imunoglobulinas após a ingestão de colostro (FEITOSA et al., 2001).

Aproximadamente, 90% dos bezerros com Falha da Transferência de Imunidade Passiva (FTP), apresentando níveis de IgG abaixo de 1000 mg/dL, têm níveis de proteína menores que 5,0 g/dL. Em contrapartida, 95% dos bezerros com adequada transferência de imunidade passiva apresentam níveis de proteína superiores a 5,5 g/dL (ROUSSEL & WOODS, 1999).

Os bezerros com adequada imunidade passiva obtêm picos de proteína total em menos tempo, quando comparados a bezerros com FTP. Além disso, o tempo de atividade anabólica e catabólica das imunoglobulinas, para atingir níveis normais, mostra-se dependente dos valores iniciais, sendo que animais com melhores níveis de imunidade passiva apresentam queda mais prolongada de proteína sérica total, refletindo o início mais tardio da produção endógena de imunoglobulinas (PAULETTI et al., 2002).

Nesse contexto, essa pesquisa foi realizada com o objetivo de determinar o efeito do fator etário na dinâmica do proteinograma sérico de bezerras da raça Holandesa, do nascimento aos 150 dias de idade.

MATERIAL E MÉTODOS

Os animais utilizados nesta pesquisa pertenciam a uma propriedade destinada à produção de leite tipo B, adotando-se excelente padrão de higiene sanitária, manejo alimentar e profilático, caracterizados por controle periódico de endo e ectoparasitas, bem como profilaxia das principais enfermidades dos bovinos.

Foram utilizadas 10 bezerras da raça Holandesa, após verificação prévia do estado de saúde (exame clínico, hemograma, exame parasitológico de fezes), acompanhadas do nascimento até os 150 dias de idade. Após o nascimento, foram alimentadas com quatro litros de colostro, sendo que os dois primeiros foram ingeridos antes das primeiras seis horas após o parto. Posteriormente, realizou-se a desinfecção do umbigo. Em seguida, os animais foram alocados em baias individualizadas e alimentados com quatro litros de *pool* de colostro por mais dois dias, quando, então, passaram a receber quatro litros de leite por dia, feno e ração *ad libitum*. Após 90 dias de idade, foram transferidos para piquetes coletivos, recebendo ração peletizada, feno de alfafa, silagem de milho, além de sal mineral e água.

Amostras de sangue foram colhidas mediante punção da veia jugular, utilizando-se agulhas descartáveis (25 X 8 mm) acopladas a tubos estéreis a vácuo com anticoagulante EDTA (ácido etilenodiaminotetracético potássico), para realização de hemograma e verificação do estado de saúde dos animais. Também foram

obtidas amostras de soro sanguíneo, ao nascimento e aos 15, 30, 60, 90, 120 e 150 dias de idade, para determinação do proteinograma sérico, utilizando-se tubos estéreis a vácuo sem anticoagulante, centrifugados a 1600 G por 10 minutos, sendo que os soros separados por aspiração foram acondicionados em tubos tipo *eppendorf* e, então, congelados a -20°C .

A proteína sérica total foi determinada pelo método colorimétrico, por reação com o biureto, utilizando-se kit comercial (Labtest). A leitura foi feita em espectrofotômetro, utilizando-se comprimento de onda de 545 nm. As separações das frações protéicas foram realizadas por meio da técnica de eletroforese em gel de agarose, com tampão veronal/EDTA 0,5 molar em pH 8,6. As placas de gel de agarose foram coradas em negro de amido a 0,2% e descoradas em ácido acético a 5%, de acordo com a metodologia descrita por Canavessi et al. (2000). A leitura foi realizada em densitômetro a 520 nm.

Considerando-se que os animais foram avaliados ao longo do tempo (ao nascimento e aos 15, 30, 60, 90, 120, 150 dias de idade), utilizou-se a análise de perfil (MORRISON, 1990). O nível de significância adotado foi de 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A proteína sérica total (g/dL) apresentou variações estatisticamente significativas ($p \leq 0,05$) com o desenvolvimento etário (Figura 1), sendo que os menores valores foram obtidos ao nascimento ($6,19 \pm 1,10$) e aos 15 dias de idade ($6,27 \pm 1,21$). A seguir, houve uma estabilização aos 60 ($7,08 \pm 0,68$) e aos 90 dias ($6,78 \pm 0,60$), para elevar-se aos 120 ($7,34 \pm 0,53$) e aos 150 dias ($7,37 \pm 0,53$), quando foi atingido o valor máximo. Variações da proteína total

com o desenvolvimento etário também foram observadas por Borges et al. (2001), Feitosa et al. (2001), Pauletti et al. (2002) & Leal et al. (2003), demonstrando a influência

da ingestão do colostro e, posteriormente, da atividade catabólica e síntese endógena de imunoglobulinas nas concentrações protéicas (PAULETTI et al., 2003).

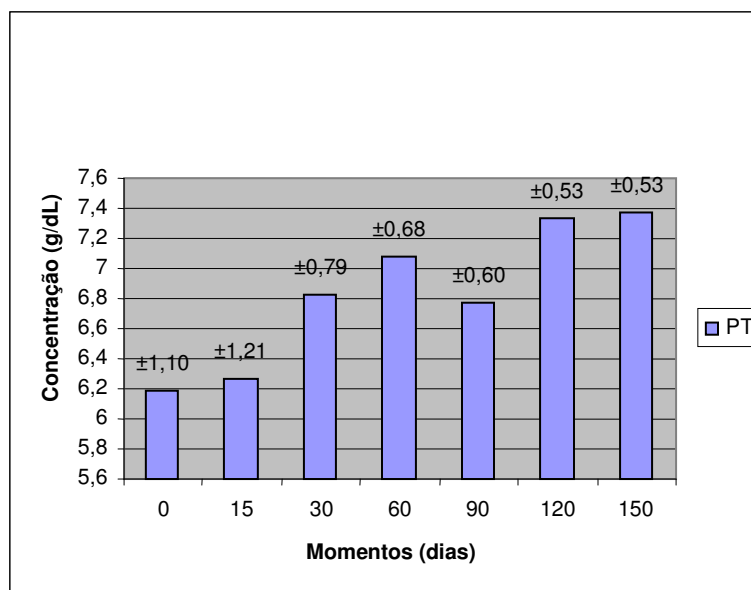


Figura 1. Concentração (g/dL) da proteína total (PT) do soro de bovinos da raça Holandesa ao nascimento e aos 15, 30, 60, 90, 120 e 150 dias de idade.

O aumento dos teores da proteína total, durante o desenvolvimento etário, foi em função das frações albumina e gamaglobulina. Esse achado está de acordo com as observações de Kaneko (1997), que afirma que, logo após o nascimento, a proteína plasmática das principais espécies animais apresenta baixos valores devido às quantidades mínimas de globulinas e baixos teores da albumina. Quando o recém-nascido ingere o colostro, um rápido aumento das imunoglobulinas, ocorre como resultado da absorção das imunoglobulinas colostrais, já a elevação da albumina se deve à ingestão de compostos nitrogenados na dieta.

Considerando os valores individuais obtidos para a proteína total nos bezerros e considerando que segundo Biswal et al (1993), Selim et al (1995), Wittum & Perino

(1995) e Roussel & Woods (1999), bezerros que após a ingestão do colostro possuem proteína inferior a 5 g/dL têm falha da transferência de imunidade passiva (FTP), um animal apresentou FTP (4,3 g/dL). Entretanto, aos 60 dias de idade, o mesmo teve sinais de recuperação, com nítida elevação da concentração da proteína total (7,4 g/dL).

O menor valor para albumina sérica (g/dL) foi obtido logo ao nascimento ($2,26 \pm 0,33$), observando-se a seguir uma elevação significativa ($p \leq 0,05$) aos 15 dias ($2,80 \pm 0,61$) e 30 dias de idade ($3,24 \pm 0,51$). Em seguida, os valores demonstraram uma estabilização nos demais momentos, obtendo-se um valor de $3,20 \pm 0,33$ aos 150 dias de idade (Figura 2). O aumento da albumina com o desenvolvimento etário foi

observado pela maioria dos autores que realizaram o proteinograma de bovinos (FAGLIARI et al., 1998; FEITOSA, 2001; LEAL et al., 2003). Estes valores foram diferentes daqueles resultados apresentados por Gregory et al (1995), que obtiveram um maior valor para albumina sérica nos animais mais jovens. Entretanto, os autores salientam que a discrepância dos seus resultados em relação à albumina sérica pode ser justificada por diferenças na quantidade de proteína oferecida na dieta dos animais.

Os valores obtidos para a concentração da fração alfa globulina do soro sanguíneo dos animais não sofreram alterações significativas durante o desenvolvimento etário (Figura 3). Foi obtido o valor de $1,28 \pm 0,27$, ao nascimento, e de $1,15 \pm 0,22$, aos 15 dias. Esses valores permaneceram estáveis aos 30 ($1,17 \pm 0,14$), 60 ($1,20 \pm$

$0,13$), 90 ($1,04 \pm 0,18$), 120 ($1,18 \pm 0,18$) e aos 150 dias de idade ($1,13 \pm 0,13$). A ausência de modificações significativas dos teores da alfa globulina com o desenvolvimento etário também foi verificada por Borges et al (2001), Feitosa et al (2001) e Leal *et al.* (2003). Feitosa et al (2001) observaram um valor para alfa globulina de $0,99 \pm 0,25$ g/dL antes da ingestão do colostro, sugerindo a ausência de influência da ingestão de colostro e a capacidade de síntese dessa fração protéica durante a vida fetal.

Em contrapartida, a concentração da beta globulina (g/dL) sofreu modificações significativas ($p \leq 0,05$) com a idade (Figura 4). O valor de $0,94 \pm 0,20$ foi obtido ao nascimento. Esse valor permaneceu estável aos 15 ($0,95 \pm 0,20$) dias de idade.

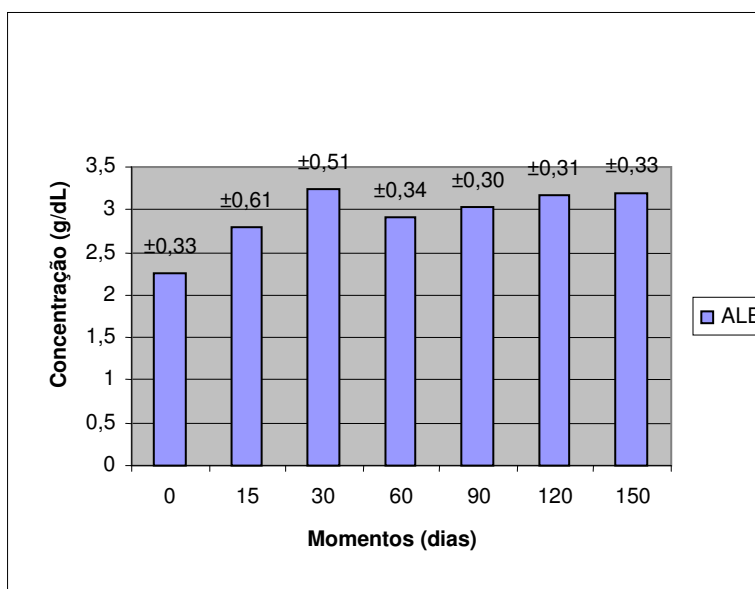


Figura 2. Concentração (g/dL) da albumina (ALB) do soro de bovinos da raça Holandesa ao nascimento e aos 15, 30, 60, 90, 120 e 150 dias de idade.

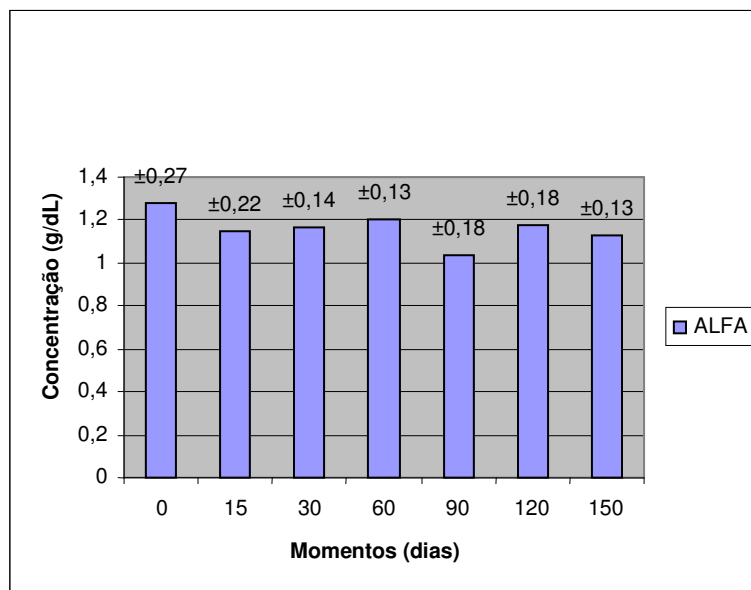


Figura 3. Concentração (g/dL) da alfa globulina (ALFA) do soro de bovinos da raça Holandesa ao nascimento e aos 15, 30, 60, 90, 120 e 150 dias de idade.

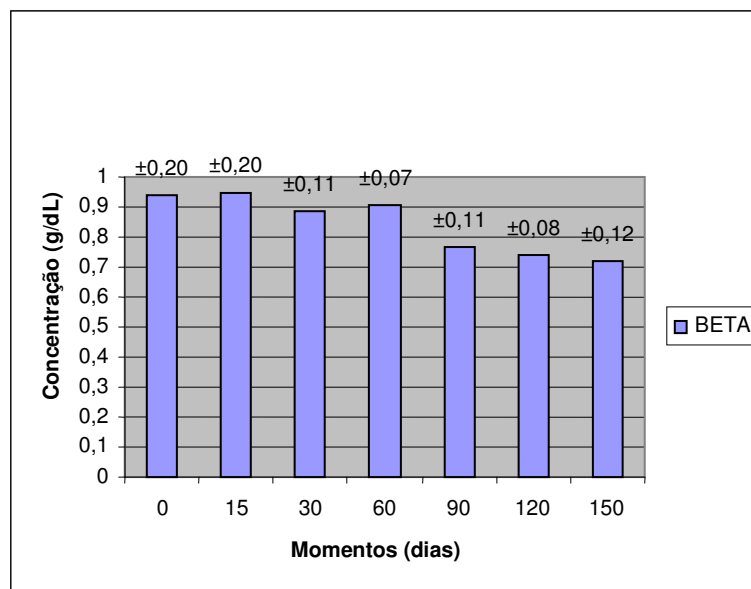


Figura 4. Concentração (g/dL) da beta globulina (BETA) do soro de bovinos da raça Holandesa ao nascimento e aos 15, 30, 60, 90, 120 e 150 dias de idade.

Posteriormente, ocorreu uma diminuição significativa dos valores aos 30 ($0,89 \pm 0,11$), 60 ($0,91 \pm 0,07$), 90 ($0,77 \pm 0,11$), 120 ($0,74 \pm 0,08$) e 150 ($0,72 \pm 0,12$) dias de idade, quando foi estabelecido o valor mínimo.

Na fração betaglobulina, migram importantes proteínas como componentes do complemento (C3 e C4), hemopexina, transferrina, ferritina, proteína C reativa, amiloide A e o fibrinogênio, algumas das quais são proteínas de fase aguda (KANEKO, 1997; TIZARD, 2000). A diminuição das proteínas que migram nessa fração se dá apenas na deficiência de ferro, anemia hemolítica aguda e doença hepática crônica (KANEKO, 1997). Uma justificativa plausível para a diminuição da betaglobulina com o desenvolvimento etário nos animais desta pesquisa pode ser devido à ocorrência da anemia por anaplasiose, especialmente a partir de 90 dias de idade.

Os valores médios obtidos para a concentração da gamaglobulina (g/dL)

sofreram modificações significativas ($p \leq 0,05$) durante o desenvolvimento etário (Figura 5).

Foi obtido um valor de $1,76 \pm 0,68$ logo ao nascimento acompanhado de ingestão do colostro, para, a seguir, ocorrer uma diminuição significativa aos 15 ($1,37 \pm 0,63$) e aos 30 dias de idade ($1,53 \pm 0,49$). Posteriormente, ocorreu uma elevação significativa aos 60 ($1,98 \pm 0,57$) e aos 90 dias ($1,92 \pm 0,39$), obtendo-se os valores máximos aos 120 ($2,24 \pm 0,41$) e aos 150 ($2,33 \pm 0,37$) dias de idade. Essas modificações têm uma relação direta com a ingestão de imunoglobulinas exógenas. Os bezerros neonatos apresentam teor praticamente insignificante de gamaglobulina, ocorrendo significativo aumento após a ingestão do colostro (FEITOSA et al., 2001; BORGES et al., 2001; PAULETTI et al., 2002). A diminuição significativa dos teores da gamaglobulina observados aos 15 e aos 30 dias de idade, provavelmente, se deve ao consumo ou degradação das imunoglobulinas transferidas passivamente (TIZARD, 2000).

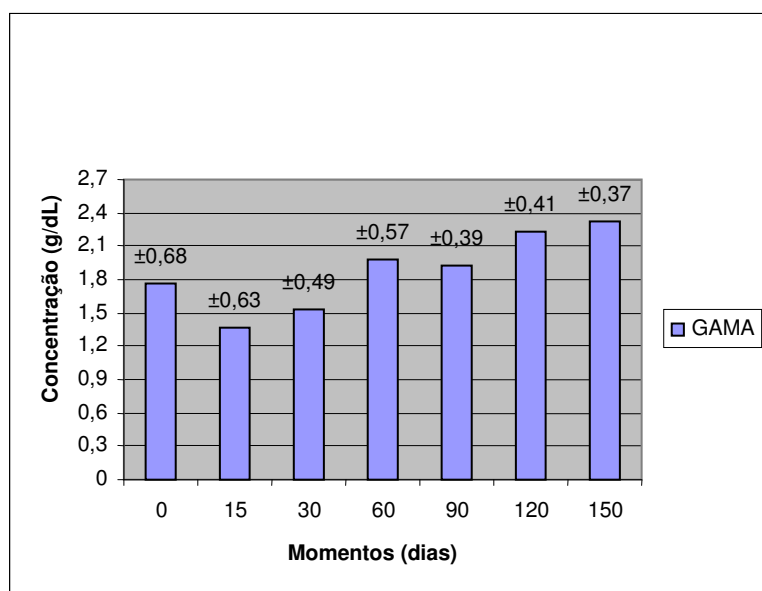


Figura 5. Concentração (g/dL) da gamaglobulina (GAMA) do soro de bovinos da raça Holandesa ao nascimento e aos 15, 30, 60, 90, 120 e 150 dias de idade.

O aumento significativo dos teores da gamaglobulina verificado a partir dos 60 dias de idade, com valores máximos aos 150 dias, se deve provavelmente a uma resposta aos estímulos causados pela exposição aos diversos tipos de antígenos aos quais os animais estão constantemente expostos, demonstrando-se a reatividade do sistema imunológico do neonato bovino (CORTESE, 1999; TIZARD, 2000).

Em relação à influência do método de fornecimento do colostro sobre os valores do proteinograma, Rizzoli et al. (2006) observaram que bezerros que mamaram colostro diretamente na mãe apresentaram concentrações de proteína total e gamaglobulina superiores às concentrações observadas em bezerros que receberam colostro em mamadeira, porém, sem diferença significativa. Além disso, ao longo de 30 dias após o nascimento, não foi constatada a influência do método de fornecimento do colostro nos teores séricos de albumina, alfa globulina e beta globulina.

CONCLUSÕES

Todos os componentes do proteinograma, com exceção da fração alfa globulina, apresentaram variações influenciadas pelo fator etário, sendo que o aumento dos teores da proteína total com a idade foi em consequência das frações albumina e gamaglobulina.

REFERÊNCIAS

BISWAL, S.P.; DUTTA, N.K.; MISRHA, P.R. Estimation of total serum protein and immunoglobulin level in neonatal calves. **Indian Veterinary Journal**, v.70, p.7-9, 1993.

BORGES, A.S.; FEITOSA, F.L.F.; BENESI, F.J.; BIRGEL, E.H.; MENDES, L.C.N. Influência da forma de administração e da quantidade fornecida de colostro sobre a concentração de proteína total e de suas frações eletroforéticas no soro sanguíneo de bezerros da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 05, p. 629-634, 2001.

CANAVESSI, A.M.O.; CHIACCHIO, S.B.; SARTORI, R.; CURY, P.R. Valores do perfil eletroforético das proteínas séricas de bovinos da raça Nelore (*Bos indicus*) criados na região de Botucatu, São Paulo: Influência dos fatores etários e sexuais. **Arquivos Instituto Biológico**, v.67, n.1, 2000.

CORTESE, S.V. Neonatal Immunology. In: HOWARD, S. **Current Veterinary Therapy: Food Animal Practice**. 4. ed. London: Saunders Company, 1999, p. 51-56.

FAGLIARI, J.J.; SANTANA, A.E.; LUCAS, F.A.; CAMPOS FILHO, E.; CURI, P.R. Constituintes sanguíneos de bovinos recém-nascidos das raças Nelore (*Bos indicus*) e Holandesa (*Bos taurus*) e de bubalinos (*Bubalis bubalus*) raça Murrah. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 50, p. 253-262, 1998.

FEITOSA, F.L.F.; BIRGEL, E.H.; MIRANDOLA, R.M.S.; PERRI, S.H.V. Proteinograma sérico de bezerros holandeses do nascimento até um ano de vida. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 08, n.02, p. 105-108, 2001.

GREGORY, L. **Valores de referência de padrões bioquímicos séricos utilizados na avaliação das funções hepáticas e renal de bovinos da raça Jersey, criados no Estado de São Paulo**. São Paulo, 1995, 161f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de

Medicina Veterinária e Zootecnia,
Universidade de São Paulo.

KANEKO, J.J. Serum proteins and the dysproteinemias. In: **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed. San Diego: Academic Press, 1997, p. 117-138.

LEAL, M.L.R.; BENESI, F.J.; LISBÔA, J.A.N.; COELHO, C.S.; MIRANDOLA, R.M.S. Proteinograma sérico de bezerras sadias da raça holandesa, no primeiro mês pós – nascimento. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, n. 02, p. 138-145, 2003.

MACHADO NETO, R.; CASSOLI, L.D.; BESSI, R.; PAULETTI, P. Avaliação do fornecimento adicional de colostro para bezerros. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n. 02, p. 420-425, 2004a.

MACHADO NETO, R.; FARONI, C.E.; PAULETTI, P.; BESSI, R. Levantamento do manejo de bovinos leiteiros recém-nascidos: desempenho e aquisição de proteção passiva. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 06, supl. 03, p. 2323-2329, 2004b.

MORRISON, D.F. **Multivariate statistical methods**. São Paulo: Mc Graw-Hill, 1990. 450p.

PAULETTI, P.; MACHADO NETO, R.; PACKER, I.U.; BESSI, R. Avaliação de níveis séricos de imunoglobulina, proteína e o desempenho de bezerras da raça holandesa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.01, p.89-94, 2002.

PAULETTI, P.; MACHADO NETO, R.; PACKER, I.U.; D'ARCE, R.D.; BESSI, R.

Quality of colostral passive immunity and pattern of serum protein fluctuation in newborn calves. **Scientia Agricola**, v. 60, n.3, p. 453-456, 2003.

RIZZOLI, F.W.; FAGLIARI, J.J.; SILVA, D.G.; SILVA, S.L.; JORGE, R.R.L. Proteinograma e teores de cálcio, fósforo, magnésio e ferro de bezerros recém-nascidos que mamaram colostro diretamente na vaca ou em mamadeira. **ARS Veterinária**, v.22, p. 10-17, 2006.

ROUSSEL, A.J.; WOODS, P.R Colostrum and passive immunity. In: HOWARD, J.L.; SMITH, R.A. **Current Veterinary Therapy – Food Animal Practice**. 4 ed. London: W.B. Saunders Company, p. 53-56, 1999.

SELIM, S.A.; SMITH, B.P.; CULLOR, J.S.; BLANCHARD, P.; DILLING, G.; RODEN, L.; WILGENBURG, B. Serum immunoglobulins in calves: Their effects and two easy, reliable means of measurement. **Veterinary Medicine**, v. 90, p. 387-404, 1995.

TIZARD, I. R. **Veterinary Immunology: an introduction**. 6. ed. London: Saunders Company, 2000. 482p.

WITTUM, T.E.; PERINO, L.J. Passive immune status at postpartum hour 24 and long-term health and performance of calves. **American Journal of Veterinary Research**, v.56, p.1149-1154, 1995.

Data de recebimento: 07/05/2007

Data de aprovação: 05/10/2007