

TEORES SÉRICOS DE PROTEÍNA TOTAL, Ig A E Ig G, OBTIDOS POR ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA, EM BEZERROS MISTIÇOS CANCHIM-NELORE, DO NASCIMENTO AOS 30 DIAS DE IDADE

Thaís Gomes Rocha¹, Camila Franciosi¹, Ricardo Perecin Nociti², Paulo César da Silva³, Alexandre Amstalden Moraes Sampaio⁴; José Jurandir Fagliari⁵

1. Pós-graduandas da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

2. Graduando da FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal - SP

3. Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV/UNESP/Campus de Jaboticabal – SP

4. Docente do departamento de Zootecnia da FCAV/UNESP, Campus de Jaboticabal

5. Docente do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV/UNESP. Via de Acesso Prof. Paulo D.

Castellane, s/n. CEP: 14884-900 – Jaboticabal, SP, Brasil

E-mail: fagliari@fcav.unesp.br (autor correspondente)

PALAVRAS-CHAVES: Anticorpos, bovino neonato, proteinograma em SDS-PAGE.

ABSTRACT

SERUM LEVELS OF TOTAL PROTEIN, IgA AND IgG, DETERMINED BY POLYACRYLAMIDE GEL ELECTROPHORESIS, IN CROSSBRED CANCHIM-NELORE CALVES FROM BIRTH TO 30 DAYS OF AGE

Serum levels of total protein, immunoglobulin A (IgA), and immunoglobulin G (IgG) – determined by polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) – were investigated in newborn calves from primiparous and pluriparous cows, before colostrum ingestion and with 1, 2, 7, 15, and 30 days of age. Serum levels of total protein were influenced by the cows' number of parturitions and were greater in calves from pluriparous cows. Immunoglobulin concentrations revealed a marked increase after the ingestion of colostrum and a decreasing tendency was verified in IgG levels from 24 hours of life to 30 days of age.

KEYWORDS: Antibodies, newborn bovine, proteinogram, SDS-PAGE.

INTRODUÇÃO

Os ruminantes recém-nascidos são incapazes de iniciar uma resposta imune eficiente em virtude da imaturidade dos mecanismos protetores e da demora em propiciar imunidade humoral e celular. A menos que ocorra assistência imunológica materna adequada provida pelas imunoglobulinas e outros fatores presentes no colostro, os neonatos têm grande chance

de sucumbir a infecções que seriam inócuas a animais adultos (BARRINGTON & PARISH, 2001).

O metabolismo e a concentração de proteínas séricas de animais recém-nascidos podem ser influenciados por diversos fatores. Ao nascimento, os bezerros apresentam baixo teor protéico que, após a ingestão do colostro e absorção intestinal de macromoléculas, aumentam de modo significativo, principalmente em razão da elevação no teor de globulinas (LEAL et al., 2003). Segundo FEITOSA et al. (1999), novilhas com aptidão leiteira produzem colostro com menor concentração de imunoglobulinas, em comparação às vacas com maior número de lactações. Já as fêmeas bovinas com aptidão para corte produzem colostro com maior teor de imunoglobulinas, sendo incomum a influência do número de lactações na transferência de imunidade passiva a suas crias (COSTA et al., 2008).

Dentre os testes utilizados para verificar a transferência de imunidade passiva, a eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) apresenta vantagens por permitir a identificação e a quantificação de IgG, considerada a mais importante na imunização passiva de bezerros, o que permite orientar o manejo de animais hipogamaglobulinêmicos (FAGLIARI et al., 2006).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os teores de proteína total, IgA e IgG mediante fracionamento eletroforético do soro sanguíneo de bezerros neonatos mestiços Canchim-Nelore sadios, antes da ingestão do colostro e 1, 2, 7, 15 e 30 dias após o nascimento.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas amostras de sangue de 10 bezerros Canchim-Nelore recém-nascidos sadios, sendo cinco filhos de vacas primíparas (Grupo 1) e cinco de vacas pluríparas (Grupo 2). Durante a fase experimental os bezerros eram mantidos junto às mães em pastagens de *Brachiaria brizantha* CV Marandu, mamando à vontade.

Amostras de 10mL de sangue foram obtidas por venopunção jugular em tubos de plástico siliconizados (Vacutainer, Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA) a vácuo, sem anticoagulante, em seis momentos: antes da ingestão do colostro (M1) e 1 (M2), 2 (M3), 7 (M4), 15 (M5) e 30 (M6) dias após o nascimento.

O teor sérico de proteína total foi determinado pelo método do biureto utilizando-se conjunto de reagentes comerciais (Labtest Diagnóstica, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), com leituras das amostras em espectrofotômetro semi-automático (Labquest, Labtest,

Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), com luz de comprimento de onda apropriado para o teste.

Para o fracionamento das proteínas em SDS-PAGE foi utilizada a técnica proposta por LAEMMLI (1970). As concentrações das proteínas foram determinadas em densitômetro computadorizado (Shimadzu CS9301, Tóquio, Japão) e como referência foi utilizada solução marcadora (Sigma, St Louis, MO, USA) com diferentes pesos moleculares, além da proteína purificada IgG bovina (Sigma, St. Louis, MO, USA).

Para a análise estatística utilizou-se um delineamento com parcelas subdivididas (*split-plot*) com medidas repetidas no tempo. As estatísticas F calculadas foram consideradas significativas quando $P < 0,05$. Os contrastes entre pares de médias foram determinados pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados no presente estudo serão apresentados a seguir, na forma de média e desvio padrão.

O teor sérico de proteína total não diferiu significativamente entre os Grupos 1 e 2 antes da ingestão do colostro, apresentando valores de $3,98 \pm 0,37$ g/dL e $4,30 \pm 0,19$ g/dL, respectivamente. Observou-se aumento significativo na concentração de proteína total após a ingestão do colostro em ambos os grupos, no entanto, nos bezerros do Grupo 1 a concentração de proteína total no M2 ($7,1 \pm 0,31$ g/dL) foi significativamente inferior à do Grupo 2 ($8,2 \pm 0,57$ g/dL). Do segundo ao sétimo dias de vida, o teor de proteína total foi significativamente inferior nos bezerros do Grupo 1, apresentando valores de $7,1 \pm 0,51$ g/dL e $6,8 \pm 0,50$ g/dL em M3 e M4, respectivamente. Aos 15 e 30 dias de vida não foi observada diferença entre os grupos. Com relação aos momentos, foi observado valor inferior no teor de proteína total no M1 em ambos os grupos. Após a ingestão de colostro, verificou-se o valor máximo na concentração de proteína total, que decresceu gradualmente até os 30 dias de vida nos dois grupos, apresentando teores de $6,1 \pm 0,29$ g/dL no Grupo 1 e $6,3 \pm 0,32$ g/dL no Grupo 2 neste momento.

O teor máximo de proteína total no presente estudo foi às 24 horas de vida, diferindo do relatado por FAGLIARI et al. (1988) em bezerros da raça Guzerá, e por LEAL et al. (2003) em bezerros da raça Holandesa, que observaram valores máximos de proteína total entre dois e quatro dias após o nascimento. Já o comportamento do teor de proteínas totais até os 30 dias de idade assemelhou-se ao observado por DANIELE et al. (1994), apresentando tendência de decréscimo até os 30 dias de vida em virtude do catabolismo das globulinas

passivamente adquiridas. COSTA et al. (2008) em estudo sobre a transferência de imunidade passiva em bezerros das raças Nelore e Limousin, não observaram influência do número de partições das vacas sobre a concentração sérica de proteína total do bezerro ao término do primeiro dia de vida, o que diferiu dos resultados encontrados no presente estudo. Entretanto, a diferença aqui verificada não decorreu da ocorrência de falha na transferência de imunidade passiva.

Com relação à concentração sérica de imunoglobulina A, não foi observada diferença significativa entre os Grupos 1 e 2, e os valores encontrados variaram de $79,9 \pm 18,6$ a 360 ± 199 mg/dL no Grupo 1 e de $79,1 \pm 11,6$ a $408 \pm 83,8$ mg/dL no Grupo 2. Verificou-se aumento significativo nos teores de IgA em ambos os grupos após a ingestão de colostro, e estes valores mantiveram-se estatisticamente superiores aos encontrados antes da ingestão de colostro até os 30 dias de idade, quando foram verificadas concentrações de 293 ± 122 mg/dL para o Grupo 1 e de $355 \pm 68,9$ mg/dL para o Grupo 2. FAGLIARI et al. (2006), observando a existência de três diferentes padrões de proteinograma em bezerros da raça Holandesa às 48 horas de vida, relataram teores de IgA semelhantes aos verificados no presente estudo em dois dos três padrões encontrados.

O teor sérico de imunoglobulina G (IgG) de cadeia pesada não diferiu entre os grupos no período em estudo. No entanto, entre os momentos, verificou-se valores significativamente inferiores no M1 para os Grupos 1 e 2 (570 ± 142 mg/dL e 495 ± 284 mg/dL, respectivamente). O maior aumento foi observado após a ingestão do colostro, quando os teores desta proteína chegaram a seus valores máximos (1.981 ± 144 mg/dL no Grupo 1 e 2.269 ± 336 mg/dL no Grupo 2). Nos momentos subseqüentes, os teores desta proteína decresceram gradativamente, chegando às concentrações de $623 \pm 29,2$ mg/dL no Grupo 1 e de $784 \pm 80,6$ mg/dL no Grupo 2 aos 30 dias de vida. Comportamento semelhante foi observado para a IgG de cadeia leve, cujos valores mínimos foram constatados antes ($3,37 \pm 3,85$ mg/dL e $15,8 \pm 13,0$ mg/dL para os Grupos 1 e 2, respectivamente), e valores máximos após a ingestão do colostro (969 ± 167 mg/dL para o Grupo 1 e 939 ± 817 mg/dL para o Grupo 2). Seus teores então decresceram gradativamente, chegando a $303 \pm 44,5$ mg/dL no Grupo 1 e a 404 ± 143 mg/dL no Grupo 2 aos 30 dias de vida. Também não foi observada diferença entre os Grupos para as concentrações desta proteína.

No decorrer do estudo, verificou-se comportamento semelhante entre os teores de proteínas totais e imunoglobulina G de cadeias pesada e leve, com aumento em seus teores séricos após a ingestão de colostro, seguida por tendência de decréscimo até os 30 dias de idade. O mesmo foi verificado por outros pesquisadores (BORGES et al., 2001; PAULETTI

et al., 2003). COSTA et al. (2008) também observou que as maiores concentrações de gamaglobulinas ocorreram no período entre 24 e 36 horas de vida em virtude da absorção de imunoglobulinas colostrais.

CONCLUSÃO

Somente o teor sérico de proteína total foi significativamente influenciado pelo número de parições das vacas da raça Canchim, sendo superior em bezerros filhos de vacas pluríparas, em comparação com aquele verificado em bezerros de vacas primíparas. Os demais parâmetros avaliados foram influenciados pela ingestão de colostro, ocorrendo aumento marcante nos seus teores séricos, em ambos os grupos, e decréscimo gradual de suas concentrações até o trigésimo dia de vida.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP pela concessão de auxílio financeiro para a realização deste projeto.

REFERÊNCIAS

BARRINGTON, G. M.; PARISH, S. M. Bovine neonatal immunology. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 17, n. 3, p. 463-476, 2001.

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 suas frações eletroforéticas no soro sanguíneo de bezerros da raça Holandesa. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 53, n. 5, p. 629-634, 2001.

COSTA, M.C.; FLAIBAN, K.K.M.C.; CONEGLIAN, M.M.; FEITOSA, F.L.F.; BALARIN, M.R.S.; LISBÔA, J.A.N. Transferência de imunidade passiva em bezerros das raças nelore e Limousin e proteinograma sérico nos primeiros quatro meses de vida. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 9, p. 410-416, 2008.

DANIELE, C.; MACHADO NETO, R. BARACAT, R.S.; BESSI, R. Efeito de diferentes manejos de fornecimento de colostro sobre os níveis séricos de proteína e de albumina séricas

e desempenho de bezerras recém-nascidas. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 51, n. 2, p. 381-388, 1994.

FAGLIARI, J. J.; OKUDA, H. T.; PASSIPIERI, M. Valores padrões das proteínas séricas de bovinos da raça Guzerá II. Proteinograma sérico de bezerros recém-nascidos. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v. 4, n. 2, p. 225-232, 1988.

FAGLIARI, J. J.; RIZZOLLI, F. W.; SILVA, D. G. Proteinograma sérico de bezerros recém-nascidos da raça Holandesa obtido por eletroforese em gel de poliacrilamida. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, n. 6, p. 1-4, 2006.

FEITOSA, F. L. F.; BIRGEL, E. H.; MENDES, L. C. M.; PERRI, S. H. V. Relação entre a concentração de imunoglobulinas colostrais e a transferência de imunidade passiva para bezerros da raça Holandesa após ingestão voluntária de colostro. **Ciência Veterinária Tropical**, v.2, n.3, p. 160-168, 1999.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. **Nature**, London, v. 227, p. 680-685, 1970.

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

PAULETTI, P.; MACHADO NETO, R.; PACKER, I. U.; D'ARCE, R. D.; BESSI, R. Quality of colostrum passive immunity and pattern of serum protein fluctuation in newborn calves. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 60, n. 3, p. 453-456, 2003.