

## LEUCOGRAMA E TEORES DE PROTEÍNAS DE FASE AGUDA EM CAPRINOS SUBMETIDOS À ORQUIECTOMIA E DESCORNA

Ricardo Perecin Nociti<sup>1</sup>, Thaís Gomes Rocha<sup>2</sup>, Camila Franciosi<sup>2</sup>, Iggor Kallyl Tavares e Azevedo<sup>1</sup>, Paulo César da Silva<sup>3</sup>, Kleber Tomas de Resende<sup>4</sup>, José Jurandir Fagliari<sup>5</sup>

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

2. Pós-graduandas 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 - SP

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-CHAVE:**  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida, biomarcador, ceruloplasmina, proteinograma, SDS-PAGE.

### ABSTRACT

#### LEUCOGRAM AND ACUTE PHASE PROTEIN RESPONSE IN YOUNG GOATS SUBMITTED TO ORCHIECTOMY AND DEHORNING

To determine the effects of orchietomy and dehorning in leukocyte count and serum acute phase protein concentrations, blood samples were taken from 7 goats just before and 1, 2, 3, 5, 7, and 10 days after procedures. Results revealed a 30% increase in leukocyte counts one day after orchietomy and dehorning, followed by a gradual decrease. On the tenth day, numbers were close to normal. Mean values for concentration of serum protein fractions ranged between 30 and 33. The proteins acting as acute phase proteins were ceruloplasmin, haptoglobin,  $\alpha_1$ -acid glycoprotein and  $\alpha_1$ -antitrypsin, which continuously increased above 403% of its initial levels. The other proteins also had a notoriously high increase, but by the end of the experiment the values were almost equal to basal levels.

**KEYWORDS:**  $\alpha_1$ -acid glycoprotein biomarkers, ceruloplasmin, proteinogram, SDS-PAGE.

### INTRODUÇÃO

A prática de orquiectomia é realizada pelos criadores de caprinos com o objetivo de obter uniformidade da carcaça, em termos de qualidade, conservação e aspecto da carne de

animais destinados ao consumo humano (VIEIRA, 1995). A descorna cosmética propicia boa aparência estética, principalmente, em animais de exposição, além de facilitar o manejo do rebanho e exigir menor espaço no cocho para a alimentação (VILLAGRAN & MATAMOROS, 1969).

Qualquer procedimento cirúrgico aplicado aos animais induz resposta inflamatória aguda, que representa um dos mecanismos de resposta imune inespecífica e envolve mecanismos fisiopatológicos que interagem entre si com o intuito de minimizar a lesão tecidual (ECKERSALL, 2000). Estudos em animais domésticos propiciado a identificação de proteínas denominadas proteínas de fase aguda (PFA), cujas concentrações plasmáticas aumentam precocemente nos processos inflamatórios, traumas cirúrgicos e estresse (JAIN, 1993; ECKERSALL, 2004; MURATA et al., 2004; MURATA, 2007). Estas proteínas foram consideradas indicadores potenciais de doença e bem-estar em animais, individualmente, bem como da saúde do rebanho (MURATA et al., 2004; PETERSEN et al., 2004).

Há relato de efeito supressivo das proteínas de fase aguda  $\alpha_1$ -glicoproteína-ácida e haptoglobina na ação linfocitária (MOTOI et al., 1992; MURATA & MIYAMATO, 1993). Verificou-se aumento da concentração sérica de haptoglobina após orquiectomia em bezerros da raça Holandesa (EARLEY & CROWE, 2002; TING et al., 2003), com retorno da concentração desta proteína ao valor normal em 14 dias.

O objetivo desse trabalho foi determinar o leucograma e o proteinograma sérico, em especial as proteínas de fase aguda, de caprinos sadios com intuito de verificar sua importância como biomarcadores nos procedimentos de castração e descorna.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados sete cabritos machos sadios da raça Anglo-Nubiana pertencentes ao Setor de Caprinocultura da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias/UNESP/Campus de Jaboticabal. Amostras de 10 mL de sangue foram obtidas por venopunção jugular em frascos contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) e em frascos sem anticoagulante, imediatamente antes de orquiectomia e descorna (M0) e 1 (M1), 2 (M2), 3 (M3), 5 (M4), 7 (M5) e 10 (M6) dias após as cirurgias. A contagem de leucócitos foi realizada em hemocitômetro automático (pocH-100iV Diff, Sysmex, Roche Diagnóstica, Brasil); esfregaços sanguíneos corados pelo método de Rosenfeld foram confeccionados para contagem diferencial de leucócitos (JAIN, 1986).

A concentração sérica de proteína total foi determinada pelo método do biureto utilizando-se conjunto de reagentes comerciais (Labtest Diagnóstica, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil).

Para a eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) foi utilizada a técnica proposta por LAEMMLI (1970) e como referências empregou-se solução marcadora com diferentes pesos moleculares, além das proteínas purificadas haptoglobina, ceruloplasmina e  $\alpha_1$ -antitripsina (Sigma, St Louis, MO, USA). A concentração das proteínas foi determinada em densitômetro computadorizado (Shimadzu CS9301, Tóquio, Japão).

Em razão das características das variáveis avaliadas, optou-se pela análise descritiva dos dados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos são apresentados na forma de médias e desvios padrão.

A contagem de leucócitos antes da realização de orquiectomia e descorna (M0) foi  $18,5 \pm 5,0$  ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ). Notou-se aumento de 30% na contagem destas células no M1 ( $24,5 \pm 7,5 \times 10^3/\mu\text{L}$ ), seguindo-se redução gradual até o retorno a valores próximos à contagem basal, no M6 ( $17,5 \pm 5,0 \times 10^3/\mu\text{L}$ ). Verificou-se que a contagem de neutrófilos segmentados no M0 foi  $9,5 \pm 3,5$  ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ), com aumento de 10% em M1 ( $10,9 \pm 4,0 \times 10^3/\mu\text{L}$ ) e redução na contagem deste tipo celular até o M6 ( $7,5 \pm 3,5 \times 10^3/\mu\text{L}$ ).

As contagens de neutrófilos bastonetes (0 a 75 células/ $\mu\text{L}$ ), eosinófilos (25 a 201 células/ $\mu\text{L}$ ), basófilos (0 a 25 células/ $\mu\text{L}$ ) e monócitos (0 a 35 células/ $\mu\text{L}$ ) não evidenciaram variações significativas ao longo do experimento. As contagens de linfócitos oscilaram entre 8,5 e 13,3 células ( $\times 10^3/\mu\text{L}$ ).

Os teores de proteína total sofreram uma pequena redução, sendo o valor máximo verificado no M0 ( $5,4 \pm 0,4$  g/dL), e o valor mínimo observado no M3 ( $5,1 \pm 0,5$  g/dL). Notou-se aumento na concentração de proteína total no M6 ( $5,2 \pm 0,6$  g/dL), entretanto os teores observados ao longo do experimento mantiveram-se inferiores aos valores de referência para a espécie caprina (KANEKO et al., 2008).

No eletroforetograma foram identificadas, em média 30 frações protéicas, sendo neste estudo consideradas de interesse as proteínas de fase aguda ceruloplasmina,  $\alpha_1$ -antitripsina, haptoglobina e  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida.

Notou-se aumento gradativo na concentração sérica de ceruloplasmina; no M3 (21,5±3,9 mg/dL) constatou-se teor 59% superior ao valor basal. No M6 (16,5±6,1 mg/dL) o teor desta proteína ainda se mantinha 22% acima do valor basal verificado no M0 (13,5±5,7 mg/dL). A concentração sérica de  $\alpha_1$ -antitripsina apresentou aumento contínuo desde o M0 (38,9±103 mg/dL) até o M6 (196±135 mg/dL). Esta elevação na concentração de  $\alpha_1$ -antitripsina representou aumento de 403%. FAGLIARI et al. (2008), em estudo sobre laparotomia em eqüinos com abdômen agudo, constataram aumento do teor de  $\alpha_1$ -antitripsina até o sétimo dia após a cirurgia; no entanto, em menor intensidade do que aquele verificado nos animais do presente experimento. No M0 a concentração sérica de haptoglobina foi 10,9±3,4 mg/dL, aumentando 128% no M1 (24,9±36,1 mg/dL). Nos demais momentos, notou-se variação nos teores desta proteína, de 8,35±4,64 mg/dL (M5) a 13,4±5,39 mg/dL (M4). O teor de  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida aumentou gradativamente a partir do M0 (16,5±14,1 mg/dL), atingindo concentração máxima no M2 (64,6±57,8 mg/dL), o que representou um aumento de 290% quando comparado ao teor basal em M0. No M6, a concentração desta proteína foi 17,6±24,5 mg/dL.

É interessante notar que o decréscimo da contagem de linfócitos coincidiu com os valores máximos de  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida e de haptoglobina, semelhante aos achados de MOTOI et al. (1992) e MURATA & MIYAMATO (1993).

## CONCLUSÃO

A contagem de leucócitos e os teores séricos haptoglobina apresentaram comportamento semelhante. As concentrações de ceruloplasmina e  $\alpha_1$ -glicoproteína ácida mantiveram-se aumentadas até o sétimo dia após os procedimentos, enquanto os teores de  $\alpha_1$ -antitripsina mantiveram-se elevados até 10 dias após a orquiectomia e descorna. Concluiu-se que estas proteínas de fase aguda constituem bons marcadores da recuperação dos animais, quando em associação com o leucograma, nos procedimentos de orquiectomia e descorna em caprinos, entretanto, mais estudos são necessários para maior esclarecimento.

## REFERÊNCIAS

EARLEY, B.; CROWE, M. A. Effects of ketoprofen alone or in combination with local anesthesia during the castration of bull calves on plasma cortisol, immunological, and inflammatory responses. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 1044-1052, 2002.

ECKERSALL, P. D. Recent advances and future prospects for the use of acute phase proteins as markers of disease in animals. **Revue de Médecine Vétérinaire**, Toulouse, v. 151, p. 577-584, 2000.

ECKERSALL, P. D. The time is right for acute phase proteins assays. **The Veterinary Journal**, London, v. 168, p. 3-5, 2004.

ECKERSALL, P. D.; CONNER, J. G. Plasma haptoglobin in cattle (*Bos taurus*) exists as polymers in association with albumin. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, v. 96B, n. 2, p. 309-314, 1988.

FAGLIARI, J. J.; SILVA, S. L.; SILVA, P. C.; PEREIRA, G. T. Leucograma e teores plasmáticos de proteínas de fase aguda de equinos portadores de abdômen agudo e submetidos à laparotomia **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 2, p. 322-328, 2008.

JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febinger, 1993. 417p.

JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 4.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 1221p.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. San Diego: Academic Press, p.916, 2008.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T<sub>4</sub>. **Nature**, London, v. 227, p. 680-685, 1970.

MOTOI, Y. H.; ITOH, K.; TAMURA, T.; MIYAMOTO, T.; OOHASHI.; NAGASAWA, S. Correlation of serum concentration of alpha-1-acid glycoprotein with lymphocyte blastogenesis and development of experimentally induced or naturally acquired hepatic-abscesses in cattle. **American Journal of Veterinary Research**, Chigaco, v. 53, p.574–579, 1992.

MURATA, H. Stress and acute phase protein response: an inconspicuous but essential linkage. **The Veterinary Journal**, London, v. 173, p. 473-474, 2007.

MURATA, H., SHIMADA, N., YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. **The Veterinary Journal**, London, v. 168, p. 28–40, 2004.

MURATA, H.; MIYAMOTO, T. Bovine haptoglobin as a possible immunomodulator in the sera of transported calves. **The Veterinary Journal**, London, v. 149, p. 277–283, 1993.

PETERSEN, H. H.; NIELSEN, J. P.; HEEGAARD, P. M. H. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. **Veterinary Research**, Paris, v. 35, p. 163-187, 2004.

THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. 592p.

TING, S. T. L.; EARLEY, B.; HUGHES, J. M. L.; CROWE, M. A. Effect of ketoprofen, lidocaine local anesthesia, and combined xylazine and lidocainecaudal epidural anesthesia during castration of beef cattle on stress responses, immunity, growth, and behavior. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, p. 1281-1293, 2003.

VIEIRA, L. I. **Criação de cabras: técnica prática e lucrativa**. São Paulo: Câmara Brasileira do Livro. (1995).