



Transferrina como marcador de maturação pulmonar em cordeiros nascidos a termo ou prematuros

[*Transferrin as a marker of pulmonary maturation in lambs born at term or premature*]

R.S. Baptista¹, F. Bovino², D.S. Denadai¹, N.M. Rahal¹, S.H.V. Perri³,
F.A. Lucas³, F.L.F. Feitosa³, J.R. Peiró³, L.C.N. Mendes³

¹Aluno de pós-graduação – Universidade Estadual Paulista – Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba, SP

²Faculdade de Ciências Agrárias de Andradina – (FCAA-FEA) – Andradina, SP

³Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Faculdade de Medicina Veterinária – Araçatuba, SP

R.S. Baptista
<https://orcid.org/0000-0001-8500-370X>
F. Bovino
<https://orcid.org/0000-0003-2760-6822>
D.S. Denadai
<https://orcid.org/0000-0003-2644-3152>
N.M. Rahal
<https://orcid.org/0000-0002-1633-2355>
S.H.V. Perri
<https://orcid.org/0000-0001-5083-5557>
F.A. Lucas
<https://orcid.org/0000-0002-5526-8528>
F.L.F. Feitosa
<https://orcid.org/0000-0003-2948-2085>
J.R. Peiró
<https://orcid.org/0000-0002-9757-6318>
L.C.N. Mendes
<https://orcid.org/0000-0002-7696-6018>

RESUMO

O objetivo do estudo foi procurar proteínas de fase aguda que possam indicar sinais de maturação no neonato prematuro, por meio da quantificação sérica delas. Identificou-se a imunoglobulina A, a ceruloplasmina, a haptoglobina, a glicoproteína ácida, a transferrina, a albumina e as imunoglobulinas G de cadeias leve e pesada, pela comparação do perfil dos proteinogramas de cordeiros nascidos a termo com os prematuros submetidos a diferentes protocolos terapêuticos, a fim de estimular a atividade respiratória. Constituíram-se seis grupos: PN (n= 9): nascidos de parto normal; CN (n= 7): nascidos de cesariana em tempo normal de gestação; CP (n= 6): nascidos de cesariana prematura sem nenhum tipo de tratamento; DEX (n= 9): prematuros cujas mães receberam dexametasona pré-parto; SURF (n= 6): prematuros tratados com surfactante; e DEXSURF (n= 6): prematuros tratados com surfactante cujas mães receberam dexametasona pré-parto. As avaliações foram realizadas nos momentos imediatamente após o nascimento (M₀), após 24 (M₂₄) e após 48 horas (M₄₈). As amostras foram processadas por meio de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE). A albumina, as imunoglobulinas e a proteína total dos cordeiros tiveram elevação após a ingestão de colostro. Maiores valores séricos de transferrina são referentes a maior período gestacional, podendo essa proteína ser utilizada como marcador de maturação neonatal.

Palavras-chave: ovinos, neonatologia, eletroforese, SDS-PAGE, proteinograma

ABSTRACT

The aim of this study was to search for acute phase proteins that could indicate signs of maturation in the premature neonate by quantifying them in serum. Immunoglobulin A, ceruloplasmin, haptoglobin, acid glycoprotein, transferrin, albumin, light and heavy chain immunoglobulin G were quantified, comparing the profile of proteinograms from term to preterm lambs submitted to different protocols that stimulate respiratory activity. Six groups were used: PN (n= 9): born from normal birth; CN (n= 7): born from caesarean section at normal time of gestation; CP (n= 6): born from premature cesarean without any type of treatment; DEX (n= 9) preterm whose mothers received prepartum dexamethasone; SURF (n= 6) preterm treated with surfactant; DEXSURF (n= 6): preterm treated with surfactant whose mothers received prepartum dexamethasone. The evaluations were performed immediately after birth (M₀), after 24 and 48 hours (M₂₄ and M₄₈). Samples were processed with sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). Albumin, immunoglobulins, and serum total protein of the lambs were elevated, after colostrum ingestion. Higher serum transferrin values refer to a longer gestational period, and this protein may be used as a marker of neonatal maturation.

Keywords: sheep, neonatology, eletrophoresis, SDS-PAGE, protein concentration

Recebido em 16 de agosto de 2017

Aceito em 3 de outubro de 2018

E-mail: rafa.baptista@terra.com.br

INTRODUÇÃO

O período gestacional da ovelha pode variar de 145 a 148 dias (Jainudeen e Hafez, 2004), sendo considerados prematuros os cordeiros nascidos com menos de 138 dias (Mobini *et al.*, 2004; Radostits *et al.*, 2007). A prematuridade está associada à imaturidade de diversos órgãos, o que pode acarretar problemas no desenvolvimento do sistema respiratório, no metabolismo e enfermidades infecciosas (Vaala e House, 2006).

As proteínas são componentes da base estrutural de todas as células e tecidos, além de participarem de reações bioquímicas fisiológicas. Suas análises vêm sendo motivos de estudos crescentes desde a década de 90, principalmente do grupo chamado proteínas de fase aguda, por meio das quais se obtêm diagnósticos, prognósticos e monitorização do tratamento dos animais domésticos (Eckersall, 2008).

Diante de um estímulo, as proteínas de fase aguda podem ser classificadas em positivas ou negativas. As proteínas de fase aguda positivas são aquelas que aumentam seus níveis perante um estímulo, por exemplo, a glicoproteína ácida, a ceruloplasmina e a haptoglobina. As proteínas de fase aguda negativa têm seus níveis plasmáticos diminuídos diante de um desafio; são exemplo delas a albumina e a transferrina (Heinrich *et al.*, 1990; Martínez-Subiela *et al.*, 2001).

O objetivo do presente estudo foi procurar uma ou mais proteínas de fase aguda que possam indicar sinais de maturação no neonato prematuro, por meio da quantificação sérica dessas proteínas pela técnica de eletroforese (SDS-PAGE) e pela comparação do perfil dos proteinogramas de cordeiros nascidos a termo com os prematuros submetidos a diferentes protocolos terapêuticos, a fim de estimular a atividade respiratória.

MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Unesp, *campus* de Araçatuba, registrado sob número de protocolo Ceua 959/2012. Foram utilizados 43 cordeiros mestiços da raça Suffolk, oriundos do rebanho

experimental da faculdade, distribuídos aleatoriamente em seis grupos experimentais:

Grupo PN: nove cordeiros nascidos a termo por parto normal;

Grupo CN: sete cordeiros nascidos por meio de cesariana eletiva, em tempo normal de gestação (144 dias);

Grupo CP: seis cordeiros prematuros nascidos por meio de cesarianas eletivas realizadas aos 137 dias de gestação;

Grupo DEX: nove cordeiros prematuros nascidos por meio de cesarianas eletivas realizadas aos 137 dias de gestação, cujas mães receberam 16mg de dexametasona (Azium, dexametasona, MSD Saúde Animal, Brasil), por via intramuscular, 36 horas antes da cirurgia (135 dias);

Grupo SURF: seis cordeiros prematuros nascidos por meio de cesarianas eletivas realizadas aos 137 dias de gestação, tratados com administração única de surfactante (Survata, surfactante bovino, Abbot Laboratórios Ltda., Brasil) (100mg/kg), por instilação traqueal, imediatamente após o nascimento;

Grupo DEXSURF: seis cordeiros prematuros nascidos por meio de cesarianas eletivas realizadas aos 137 dias de gestação, tratados com administração única de surfactante (100mg/kg), por instilação traqueal, imediatamente após o nascimento, cujas mães receberam 16mg de dexametasona, por via intramuscular, 36 horas antes da cirurgia (135 dias).

As ovelhas foram mantidas em piquete, alimentadas à base de silagem de milho e ração comercial para ovinos, uma vez ao dia, ao longo do período gestacional. Cerca de 15 dias antes do parto, foram levadas às baias e mantidas até os 60 dias pós-parto.

Para facilitar o manejo, as parições foram concentradas num mesmo período, adotando-se um protocolo de sincronização estral. Exame ultrassonográfico abdominal (DP 200 Vet, aparelho de ultrassom, Mindray, Brasil) para confirmação da gestação foi realizado entre 45 e 60 dias da última data de cobertura.

Para os animais que integraram o grupo de parto normal, estimou-se o mês de parição, sendo necessária a permanência do pesquisador no local para detectar o momento exato do parto e, então, realizar as avaliações.

Nos animais submetidos a cesarianas eletivas, realizou-se bloqueio anestésico paravertebral proximal, com cloridrato de lidocaína (Xylestesin, cloridrato de lidocaína, Cristália produtos químicos e farmacêuticos Ltda., Brasil) e anestesia epidural lombossacra com sulfato de morfina (Dimorf, sulfato de morfina, Cristália produtos químicos farmacêuticos Ltda., Brasil).

Os cordeiros provenientes de parto normal permaneceram com as mães, ingerindo colostro à vontade. Os oriundos de cesariana receberam colostro via mamadeira (15% PV), proveniente de um *pool* oriundo de banco de colostro bovino, submetido à quantificação prévia de proteínas. Nos cordeiros que não apresentavam reflexo de sucção, a administração foi realizada por meio de sonda oroesofágica.

As avaliações iniciaram-se imediatamente após o nascimento. Os animais que receberam surfactante tiveram suas coletas após a administração dele e até às 48 horas de vida. Os animais pertencentes aos grupos tratados com surfactante (SURF e DEXSURF) foram obrigatoriamente intubados com sonda orotraqueal números 2,5 ou 3,0, para administração do surfactante antes da ruptura do cordão umbilical; esses animais foram ventilados (30 movimentos/min), no máximo, por um período de 30 minutos. A dose de surfactante utilizada foi de 100mg/kg (8 a 16mL), com administração única, e o volume total foi dividido em três porções. Durante a infusão do medicamento, o cordeiro foi posicionado em três diferentes decúbitos (lateral direito, dorsal e lateral esquerdo). Nos animais dos outros grupos (CN, CP e DEX), observou-se, logo após a retirada do cordeiro do útero, se esses apresentavam movimentos respiratórios espontâneos; caso não estivessem respirando, eram submetidos à sondagem orotraqueal. Em todos os neonatos que precisaram de alguma intervenção, instituiu-se a terapia suporte, por meio da utilização de respirador manual neonatal (Ambu neonatal, reanimador manual em silicone completo com reservatório – 250mL – Protec, Brasil) acoplado à sonda endotraqueal, fornecimento de oxigênio (1L/min) e manutenção da temperatura (com cobertores e bolsas térmicas).

As amostras de sangue para as análises foram coletadas por punção da veia jugular, com agulha

hipodérmica 25x0,7mm acoplada a tubos Vacutainer® (Tubo seco 10mL – sem ativador de coágulo, BD Brasil, Brasil) siliconizados, sem anticoagulante, nos respectivos momentos: M₀, M₂₄ e M₄₈. O sangue coletado foi mantido em temperatura ambiente, ao abrigo da luz, até a coagulação e retração do coágulo. Foi, em seguida, centrifugado a 3.000 r.p.m., durante cinco minutos, para melhor separação do soro. Este foi transferido para frascos de polipropileno, tipo “Eppendorf”, em alíquotas, que foram congeladas a -20°C até o processamento por eletroforese.

O descongelamento para o processamento ocorreu em temperatura ambiente, e a concentração da proteína sérica total foi determinada utilizando-se um refratômetro clínico (Atago Clinical Refractometer Master-SUR/NM, refratômetro clínico, Brasil), antes da mensuração eletroforética.

Para o fracionamento das proteínas séricas, foi utilizada a técnica de eletroforese em gel de poliácridamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), conforme proposto por Laemmli (1970), sendo a corrida realizada em cuba vertical (Cuba SE 600 Ruby®, Amersham Biosciences-GE Healthcare Life Sciences, Brasil), sistema com um gel de poliácridamida com diferentes concentrações ligadas a uma fonte de energia (Power Pac 1000, Bio-Rad, Reino Unido). As proteínas das amostras foram primeiramente desnaturadas na presença de 2-mercaptoetanol e do detergente dodecil sulfato de sódio. Após a colocação das amostras no gel, dava-se início a corrida com 20mA por gel até transpassar o gel de separação; a partir de então, aumentaram-se 25% do valor da amperagem, quando as amostras atingiram o limite do gel de corrida.

Após a separação das proteínas, os géis foram corados, por duas horas, com uma solução à base de Coomassie Blue 0,2% (Brilliant Blue R – Sigma Aldrich Química Brasil, Brasil), metanol, ácido acético glacial e água deionizada, em um agitador horizontal (Agitador horizontal EL 445, Grupo Insight Ltda., Brasil). Posteriormente, iniciou-se o processo de descoloração, que durou 12 horas, em uma solução já utilizada anteriormente, à base de metanol e ácido acético glacial, a qual foi transferida para uma cuba contendo uma solução recém-preparada até a

coloração do gel atingir um tom de azul bem fraco. Os géis ficaram aguardando a leitura em refratários de vidro recobertos por água deionizada.

A digitalização dos géis foi realizada por meio do fotodocumentador (ImageQuant LAS 4000, GE Healthcare Brasil, Brasil), e as proteínas foram identificadas com a utilização da escada de pesos moleculares de 6.500 a 20.000 daltons em cada coluna do gel (SigmaMarker™ wide range, mol wt 6,500-200,000 Da ref. S8445, Sigma Aldrich, Estados Unidos), com o software ImageQuant TL (GE Healthcare Brasil, Brasil). Foram avaliadas oito frações proteicas: imunoglobulina A, ceruloplasmina, transferrina, albumina, imunoglobulina G de cadeia pesada, haptoglobina, glicoproteína ácida e imunoglobulina G de cadeia leve.

Os animais foram separados em dois grandes grupos para a análise estatística: o grupo dos nascidos a termo, PN e CN, e o grupo dos nascidos de cesariana, CN, CP, DEX, SURF e DEXSURF. As variáveis transferrina, albumina e proteína total foram submetidas à análise de variância com medidas repetidas, sendo as médias comparadas pelo pós-teste de Tukey. As outras variáveis não apresentaram distribuição normal e foram analisadas pelo teste de Kruskal-Wallis, para comparar os grupos em cada momento, e pelo teste de Friedman, para comparar os momentos em cada grupo, seguido do teste de Dunn, para comparações múltiplas. Os valores de *p* foram considerados significativos quando menores que 5%, e as análises foram efetuadas empregando-se o programa SAS (Statistical Analysis System 9.1, SAS Institute Inc., Estados Unidos).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para compor os grupos experimentais, foi necessário acompanhar 32 partos, sendo 11 gemelares. O número total de cordeiros nascidos foi de 43 cordeiros, entre os quais 22 machos e 21 fêmeas, com peso médio ao nascimento de 3,74kg ($\pm 0,86$).

O colostro apresenta altas quantidades de mediadores inflamatórios que podem induzir uma reação de fase aguda no neonato e passar ao recém-nascido pelo intestino, por meio da mamada colostrálica, estimulando a produção de

proteínas de fase aguda no fígado. Essa reação é um mecanismo importante para a adaptação do recém-nascido à vida extrauterina e para a posterior homeostase (Orro *et al.*, 2008). Portanto, pode-se esperar uma resposta inflamatória, no pós-parto, ao recém-nascido. Algumas proteínas de fase aguda, como a haptoglobina, a glicoproteína ácida e a ceruloplasmina, estão presentes inicialmente no colostro e depois no leite de diversas espécies animais, sendo algumas moléculas absorvidas intactas pelo intestino (Harada *et al.*, 2002; Talukder *et al.*, 2002).

Vários fatores desempenham papéis nas concentrações séricas das proteínas de fase aguda após o parto, incluindo: síntese fetal e estimulação da produção dessas proteínas pelo parto, ingestão de colostro e capacidade de síntese hepática das proteínas (Brunn *et al.*, 1998; McDonald *et al.*, 2001).

Antes da ingestão do colostro, as concentrações séricas de proteína total foram maiores ao nascimento em cordeiros de PN em relação àqueles nascidos de CN (PN: $4,11 \pm 0,26$ g/dL e CN: $3,34 \pm 0,46$ g/dL). As concentrações no parto normal foram semelhantes àquelas descritas por Turquino (2010) em cordeiros providos de cruzamentos entre raças com aptidão para carne ao nascimento. Após a ingestão do colostro, as concentrações de proteína total aumentaram às 24 e 48 horas em relação aos valores descritos ao nascimento em ambos os grupos a termo, sendo obtidos resultados semelhantes entre esses grupos.

Nos animais nascidos de cesariana, as concentrações séricas proteicas apresentaram o mesmo padrão, não havendo diferença estatística entre os grupos avaliados, apenas entre os momentos, em que, imediatamente após o nascimento, todos os animais do estudo apresentaram os menores valores séricos da proteína total, elevando-se nos momentos seguintes, o que demonstra que, independentemente do tratamento, todos os cordeiros foram capazes de absorver as proteínas ingeridas no colostro e repassá-las à corrente circulatória.

Os teores séricos de albumina não sofreram alterações entre os grupos de parto normal e de cesariana, desde o momento do parto até as 48

Transferrina como marcador...

horas de vida. A concentração sérica de transferrina imediatamente após o nascimento apresentou valores diferentes nos grupos a termo (PN: $673,54 \pm 206,72$ mg/dL) e CN: $963,66 \pm 183,69$ mg/dL) (Tab. 1). Essa

diferença pode ser justificável, pois, apesar de os dois grupos serem animais a termo, os animais de cesariana não necessariamente teriam nascido no dia em que foi determinada a data do parto (144 dias).

Tabela 1. Concentrações séricas de transferrina obtida por eletroforese de cordeiros nascidos de parto normal em tempo normal de gestação (PN) e de cesariana em tempo normal de gestação (CN), nas primeiras 48 horas de vida. Os valores representam as médias (\bar{x}) e desvios-padrão (S)

Variável	Momentos (horas)	Grupos			
		PN		CN	
		n	$\bar{x} \pm S$	n	$\bar{x} \pm S$
Transferrina (mg/dL)	M ₀	9	673,54±206,72	7	963,66±183,69
	M ₂₄	9	908,56±402,99	6	1245,18±446,67
	M ₄₈	9	758,08±256,30	6	1299,55±537,36

Os animais provenientes de cesariana apresentaram diferenças significativas quanto às concentrações séricas da transferrina (Tab. 2). Os maiores valores no M₀ foram descritos no grupo CN e os menores, no grupo DEX. Nos momentos seguintes (M₂₄ e M₄₈), os maiores valores foram

também do grupo CN, sugerindo que essa proteína pode indicar maturidade nos cordeiros, visto que os maiores valores encontrados são em animais a termo, quando comparados aos prematuros com os diversos tipos de tratamento.

Tabela 2. Concentrações séricas de transferrina obtidas na eletroforese de cordeiros nascidos de cesariana em tempo normal de gestação (CN), cesariana prematura aos 137 dias (CP), cesariana prematura após administração de dexametasona (DEX), cesariana prematura, tratados com surfactante (SURF), e cesariana prematura, tratados com dexametasona associada a surfactante (DEXSURF), nas primeiras 48 horas de vida. Os valores representam médias (\bar{x}) e desvios-padrão (S)

Variável	Momentos (horas)	Grupos									
		CN		CP		DEX		SURF		DEXSURF	
		N	$\bar{x} \pm S$	n	$\bar{x} \pm S$	n	$\bar{x} \pm S$	n	$\bar{x} \pm S$	n	$\bar{x} \pm S$
Transferrina (mg/dL)	M ₀	7	963,66±183,69	6	419,73±31,22	9	135,25±146,65	6	423,84±39,19	6	408,48±30,82
	M ₂₄	6	1245,18±446,67	4	408,90±58,67	7	321,80±169,45	0	†	4	475,22±55,66
	M ₄₈	6	1299,55±537,36	4	352,48±244,14	7	544,76±81,56	0	†	4	380,10±259,22

† óbito

O grupo DEX foi o único que apresentou diferença estatística entre os momentos avaliados no estudo. Apesar de apresentar os mais baixos valores séricos de transferrina ao nascer, apresentou, às 48 horas, as maiores médias entre os prematuros, reforçando os resultados de Bovino (2015), que conclui que o uso da dexametasona ajuda na maturação pulmonar desses animais.

As concentrações séricas de ceruloplasmina diferiram apenas ao nascimento, com os maiores valores no grupo CN. Ao se compararem os grupos de cesariana, nos M₀ e M₂₄, a diferença foi entre o grupo CN com os prematuros, com

exceção do DEX. O epitélio das vias aéreas é a principal fonte de ceruloplasmina no pulmão (Yang *et al.*, 1996), mas os valores não foram significativos para indicar algum tipo de maturação ou diferenciação dos animais nascidos a termo ou prematuros.

Os teores de haptoglobina sérica não diferiram entre os grupos a termo e os grupos nascidos por cesariana. A diferença foi apenas às 24 horas, com os maiores valores descritos no grupo CN e os menores no CP. O aumento e a expressão da haptoglobina são utilizados como biomarcadores precoces de sepse em neonatos humanos (Buhimschi *et al.*, 2011).

Embora as concentrações de glicoproteína ácida não variassem entre nenhum dos grupos do estudo, os valores descritos foram maiores em prematuros. Essa é uma proteína de fase aguda positiva, produzida pelas células epiteliais pulmonares (Lecchi *et al.*, 2009), sendo utilizada como marcador inflamatório para potros neonatos de alto risco (Haetinger, 2014).

Não ocorreram diferenças entre os tempos nas concentrações séricas de imunoglobulina A nos grupos nascidos a termo, enquanto os animais dos grupos CN e DEXSURF possuíam os maiores valores em relação aos DEX e SURF ao nascer. O grupo DEXSURF apresentou as maiores concentrações se comparado ao DEX às 24 horas (Quadro 4). Apesar do relato de que as concentrações séricas de IgA aumentem gradativamente em bezerros após a ingestão de colostro, não foram encontrados os mesmos achados no presente estudo (Costa *et al.*, 2008 Rocha, 2010).

As concentrações séricas de imunoglobulina G de cadeia pesada apresentaram às 24 e 48 horas os maiores valores no grupo de PN. Os animais dos grupos de cesariana não apresentaram diferença (Quadro 4), resultado justificável pelo fato de que todos os animais nascidos por cesariana receberam colostro bovino logo ao nascer até a recuperação cirúrgica das mães, com volume controlado, enquanto os cordeiros PN permaneceram com as mães.

Nos animais a termo, os níveis de imunoglobulina G de cadeia leve ao nascimento foram maiores no CN enquanto, às 24 horas, os maiores valores descritos foram no grupo PN. Apesar de a diferença entre os momentos ter sido relatada apenas no grupo PN, em que os maiores valores foram descritos nos M_{24} e M_{48} , os mesmos aumentos podem ser vistos no grupo CN. Quando a comparação ocorreu entre os animais de cesariana, observaram-se maiores teores nos animais CN, sugerindo melhor desenvolvimento imunológico dos animais a termo, em todos os neonatos avaliados.

Os animais nascidos de parto normal apresentaram os maiores valores de imunoglobulina G, possivelmente, por permanecerem com as mães durante todo o tempo, sem qualquer controle do volume ingerido de colostro, diferentemente dos animais

provenientes de cesariana, que recebiam, via mamadeira, volume conhecido de colostro a cada duas horas. Foi comparada a administração de colostro bovino e ovino via mamadeira em cordeiros, e os maiores valores séricos de imunoglobulina G foram encontrados em animais que ingeriram maiores volumes de colostro, sem diferença quanto à espécie (Moretti *et al.*, 2010).

As proteínas de fase aguda desempenham grande importância no período neonatal, entretanto os mecanismos específicos funcionais de cada uma delas não estão completamente elucidados nos recém-nascidos (Murata *et al.*, 2004; Orro *et al.*, 2008). As análises de proteínas no período pós-parto são escassas. Vários autores descrevem padrões, principalmente de bovinos, mas só de animais adultos e/ou com alguma doença, existindo, assim, uma falta de dados relacionados à fisiologia desse perfil proteico usando as frações eletroforéticas (Tóthóva *et al.*, 2016). Quando se trata do mesmo perfil em prematuros, poucos trabalhos relatam dados obtidos com a técnica de gel de agarose ou fita de acetato celulose, geralmente de uma proteína específica, o que demonstra a importância deste estudo.

CONCLUSÕES

Maiores valores de transferrina foram associados a um maior tempo de gestação. Esse resultado indica seu potencial como um possível marcador de maturação no neonato, não havendo diferença entre nenhum dos demais protocolos realizados nas mães e nos cordeiros prematuros.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, por concessão de apoio financeiro ao projeto de pesquisa (2011/18810-3).

REFERÊNCIAS

BOVINO, F. *Abordagem clínica de cordeiros prematuros: avaliação de protocolos terapêuticos emergenciais para estimulação da atividade respiratória*. 2015. 93f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, SP.

- BRUNN, C.F.; SANCHEZ, J.C.; HOCHSTRASSER, D.F. *et al.* A two-dimensional electrophoretic study of serum amyloid A and C-reactive protein in infants and children. *Electrophoresis*, v.19, p.776-781, 1998.
- BUHIMSCHI, C.S.; BHANDARI, V.; DULAY, A.T. *et al.* Proteomics mapping of cord blood identifies haptoglobin “Switch-On” pattern as biomarker of early-onset neonatal sepsis in preterm newborns. *PLoS One*, v.6, p.e26111, 2011.
- COSTA, M.C.; FLAIBAN, K.K.M.C.; CONEGLIAN, M.M. *et al.* Transferência de imunidade passiva em bezerros das raças Nelore e Limousin e proteinograma sérico nos primeiros quatro meses de vida. *Pesqui. Vet. Bras.*, v.28, p.410-416, 2008.
- ECKERSALL, D. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6.ed. Holanda: Elsevier, 2008. p.117-155.
- HAETINGER, C. *Proteínas de fase aguda no periparto de éguas com placentite e seus respectivos neonatos*. 2014. 46f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.
- HARADA, E.; ARAKI, Y.; FURUMURA, E. *et al.* Characteristic transfer of colostrums derived biologically active substances into cerebrospinal fluid via blood in natural suckling neonatal pigs. *J. Vet. Med. A. Physiol. Pathol. Clin. Med.*, v.49, p.358-364, 2002.
- HEIRICH, P.C.; CASTELL, J.V.; ANDUS, T. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem. J.*, v.265, p.621-636, 1990.
- JAINUDEEN, M.R.; HAFEZ, E.S.E. Gestação, fisiologia pré-natal e parto. In: HAFEZ, B.; HAFEZ, E.S.E. *Reprodução animal*. 6.ed. São Paulo: Manole, 2004. p.141-155.
- LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, v.227, p.680-685, 1970.
- LECCHI, C.; AVALLONE, G.; GIUROVICH, M. *et al.* Extra hepatic expression of the acute phase protein alpha 1-acid glycoprotein in normal bovine tissues. *Vet. J.*, v.180, p.256-258, 2009.
- MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; TECLES, F.; PARRA, M.D.; CERÓN, J.J. Proteínas de fase aguda: conceptos básicos y principales aplicaciones clínicas en medicina veterinaria. *An. Vet.*, v.17, p.97-114, 2001.
- MCDONALD, T.L.; LARSON, M.A.; MACK, D.; WEBERA, A. Elevated extrahepatic expression and secretion of mammary-associated serum amyloid A3 (M-SAA3) into colostrum. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v.83, p.28-40, 2001.
- MOBINI, S.; HEATH, A.M.; PUGH, D.G. Teriogenologia de ovinos e caprinos. In: PUGH, D.G. *Clínica de ovinos e caprinos*. Espanha: Roca: 2004. p.145-208.
- MORETTI, D.B.; KINDLEIN, L.; PAULETTI, P.; MACHADO-NETO, R. IgG absorption by Santa Ines lambs fed Holstein bovine colostrum or Santa Ines ovine colostrum. *Animal*, v.4, p.933-937, 2010.
- MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase protein in veterinary diagnosis: an overview. *Vet. J.*, v.168, p.28-40, 2004.
- ORRO, T.; JACOBSEN, S.; LEPAGE, J.P. *et al.* Temporal changes in serum concentrations of acute phase in newborn dairy calves. *Vet. J.*, v.176, p.182-187, 2008.
- RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; HINCHCLIFF, K.W.; CONSTABLE, P.D. *Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*, 10.ed. Holanda: Elsevier Saunders, 2007. p.2156.
- ROCHA, T.G. *Avaliação da transferência de imunidade passiva em bezerros de vacas da raça canchim*. 2010. 133f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.
- TALUKDER, M.J.; TAKEUCHI, T.; HARADA, E. Transport of colostrum macromolecules into the cerebrospinal fluid via plasma in newborn calves. *J. Dairy Sci.*, v.85, p.514-524, 2002.
- TÓTHÓVA, C.; NAGY, G.; KOVAC, G.; NAGYOVA, V. Changes in the concentration of serum proteins in calves during the first month of life. *J. Appl. Anim. Res.*, v.44, p.338-346, 2016.

TURQUINO, C.F. *Transferência de imunidade passiva e comportamento de cordeiros de corte recém-nascidos*. 2010. 76f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.

VAALA, W.E.; HOUSE, J.K. O período periparto. In: SMITH, B.P. *Medicina interna de grandes animais*. 3.ed. São Paulo: Manole, 2006. p.257-265.

YANG, F.; FRIEDRICHS, W.E.; DEGRAFFENRIED, L. *et al.* Cellular expression of ceruloplasmin in baboon and mouse lung during development and inflammation. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, v.14, p.161-169, 1996.