

Proteinograma sérico, com ênfase em proteínas de fase aguda, de bovinos saudáveis e bovinos portadores de enfermidade aguda de ocorrência natural

[Serum proteinogram emphasizing acute phase proteins from healthy and acute naturally occurring diseased cattle]

K.M.M.G. Simplício, F.C. Sousa, J.J. Fagliari, P.C. Silva

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Universidade Estadual Paulista – Unesp – Jaboticabal, SP

RESUMO

Nas últimas décadas, as proteínas de fase aguda (PFAs) tornaram-se biomarcadores de escolha em medicina humana para identificação e monitoração de doenças. Não há razão para imaginar que tais pesquisas clínicas não sejam igualmente úteis na medicina veterinária. Com o objetivo de verificar a importância das PFAs como biomarcadores de doenças inflamatórias em bovinos, determinou-se o proteinograma sérico, por meio da técnica de eletroforese SDS-PAGE, com interesse especial nas PFAs. Foram utilizados 30 animais, distribuídos em dois grupos: 15 bovinos saudáveis e 15 bovinos doentes (cinco com mastite estafilocócica, cinco com fotossensibilização e cinco com onfaloflebite). Os animais foram submetidos a coletas diárias de sangue durante sete dias, enquanto internados no Hospital Veterinário da Unesp, *Campus* de Jaboticabal. Ceruloplasmina e haptoglobina apresentaram elevação significativa em animais acometidos por mastite, fotossensibilização e onfaloflebite (275,17% e 343,71%; 175,17% e 230,19%; 114,47% e 144,47%, respectivamente). A α_1 -glicoproteína ácida foi um bom biomarcador apenas em animais com mastite e fotossensibilização, elevando, respectivamente, suas concentrações séricas em 198,14% e 145,89%. Fibrinogênio mostrou-se um indicador confiável apenas em bovinos com mastite, com elevação de 146,5% em relação ao grupo sadio. Ficou clara a diferença na responsividade de distintas PFAs frente a diferentes estímulos inflamatórios. Ceruloplasmina e haptoglobina foram biomarcadores mais sensíveis e, portanto, mais confiáveis entre as PFAs estudadas nessa espécie.

Palavras-chave: ceruloplasmina, fibrinogênio, haptoglobina, transferrina, glicoproteína ácida- α_1

ABSTRACT

Over the last few decades acute phase proteins (APP) have become the biomarkers of choice in human medicine to identify and monitor inflammation and infection. There is no reason to suppose that clinical investigations in veterinary medicine would not be equally assisted by APP assays. Aiming to verify the importance of APPs as biomarkers of inflammatory diseases in domestic cattle, serum protein profiles, especially APPs, were determined through the SDS-PAGE electrophoresis technique. Thirty animals were allotted in two groups: 15 healthy cattle and 15 clinically ill cattle (5 with staphylococcal mastitis, 5 with photosensitization and 5 with onphalophlebitis). All animals were submitted to daily blood sampling during 7 days, while interned in the Veterinarian Hospital from UNESP, Jaboticabal campus. Ceruloplasmin and haptoglobin were significantly elevated in animals with mastitis, photosensitization and onphalophlebitis (275.17% and 343.71%; 175.17% and 230.19%; 114.47% and 144.47%, respectively). α_1 -acid glycoprotein behaved as a good biomarker only in animals with mastitis and photosensitization, elevating respectively 198.14% and 145.89% of their serum levels. Fibrinogen was a reliable indicator only in animals undergoing mastitis, with a raise of 146.5%. The diverse responsiveness of different APP under distinct inflammatory stimuli was clear. Ceruloplasmin and haptoglobin were more sensible and, therefore, reliable biomarkers to the diseases studied in this species.

Keywords: ceruloplasmin, fibrinogen, haptoglobin, transferrin, α_1 -acid glycoprotein

INTRODUÇÃO

A crescente preocupação com a rapidez na identificação e resolução de problemas sanitários nos rebanhos aumentou o interesse no estudo de biomarcadores precoces no cenário da buiatria mundial. Pesquisas realizadas nas últimas décadas mostraram que a quantificação de proteínas de fase aguda (PFAs), no plasma ou no soro sanguíneo, pode ser útil tanto no diagnóstico, prognóstico e monitoramento de doenças quanto no bem-estar de indivíduos ou de rebanhos (Murata *et al.*, 2004; González *et al.*, 2007; Jain *et al.*, 2011; Cray, 2012). Segundo Skinner (2001), pesquisas recentes sugerem que ensaios para a quantificação de PFAs serão utilizados rotineiramente no futuro, a fim de avaliar a saúde animal, otimizar o desempenho produtivo individual, monitorar a eficácia de terapias antibióticas, detectar doenças e, ainda, propiciar benefícios consideráveis à segurança alimentar, por meio da avaliação dos animais antes do abate.

A monitoração da resposta inflamatória pode ser um desafio clínico, pois nem sempre os sinais de inflamação se manifestam de modo evidente. Ganheim *et al.* (2003), em estudo com bovinos experimentalmente infectados pelo vírus da diarréia viral bovina e por *Mannheimia haemolytica*, relataram que, em vários momentos, os sinais clínicos foram muito sutis e que, portanto, a doença inflamatória/infecciosa passaria despercebida se não fossem mensuradas as PFAs, as quais se mostraram significativamente elevadas. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a importância das PFAs como biomarcadores de enfermidades inflamatórias de ocorrência natural, na espécie bovina.

MATERIAL E MÉTODOS

Os animais foram distribuídos em dois grupos: 15 bovinos sadios e 15 bovinos com doença aguda, sendo este último constituído por cinco animais com mastite estafilocócica, cinco com fotossensibilização hepatógena e cinco com onfaloflebite. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética e Bem-Estar Animal (Cebea) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV)/Unesp/Campus Jaboticabal, sob número de protocolo 029033-08.

A triagem dos animais foi efetuada após realização de exame físico (Dirksen *et al.*, 1993), e, quando necessário, este foi complementado por exames auxiliares de diagnóstico. Os animais clinicamente sadios (controle) pertenciam ao rebanho da FCAV/Unesp/Campus de Jaboticabal, e os grupos de animais doentes foram constituídos por pacientes atendidos no Hospital Veterinário da mesma instituição. As vacas com mastite foram submetidas ao tratamento intramamário com gentamicina intramamária (Mastifin®, Ouro Fino, Brasil), uma vez ao dia, durante três dias. Os bovinos com fotossensibilização foram submetidos à dosagem de enzimas hepáticas, AST e GGT, para confirmação do diagnóstico e, então, recebiam, por via intravenosa, uma mistura de aminoácidos (Mercepton®, complexo lipotrópico e antitóxico, Bravet, Brasil), sendo mantidos em ambiente sombreado; bezerros com onfaloflebite recebiam tratamento local com tintura de iodo a 2%. Uma vez incluído no experimento, o animal era submetido a exame físico e colheita de sangue diária, durante seis dias, nominalmente identificados como momentos M1 (antes do início do tratamento), M2 (24h após tratamento), M3 (48h após tratamento), M4 (72h após tratamento), M5 (96h após tratamento) e M6 (120h após tratamento), respectivamente.

Para obtenção do soro, foram colhidas amostras de 10mL de sangue em tubos sem anticoagulante; as alíquotas obtidas foram acondicionadas à temperatura de -80°C, para posterior análise laboratorial. A determinação da proteína total sérica foi realizada pelo método do biureto, empregando-se *kit* comercial (Labtest, Belo Horizonte, MG, Brasil). A concentração plasmática de fibrinogênio foi determinada segundo técnica da precipitação pelo calor, descrita por Jain (1993).

A separação das frações proteicas das amostras de soro sanguíneo foi realizada utilizando-se eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), conforme técnica descrita por Laemmli (1970). As concentrações dessas proteínas foram determinadas em densitômetro computadorizado (Shimadzu, Tóquio, Japão). Como referência, foi usada solução marcadora (Sigma, Saint Louis, EUA) com pesos moleculares 29.000, 45.000, 66.000, 97.400, 116.000 e 205.000 dáltons (D),

além das proteínas purificadas transferrina, haptoglobina, ceruloplasmina e α_1 -antitripsina.

Os resultados foram analisados pelo programa ANOVA. Constatadas diferenças entre as médias, os valores foram comparados pelo teste de Tukey a 5% de significância (Petrie e Watson, 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Notou-se que a concentração sérica de proteína total de bovinos doentes e daqueles sadios não diferiu significativamente.

Nos bovinos com fotossensibilização, verificou-se aumento significativo na concentração sérica de ceruloplasmina, de 175,17%, em relação ao grupo sadio (Tab. 1 e Fig. 1). Fagliari *et al.* (2007) verificaram aumento do teor sérico de ceruloplasmina de 309,1% em animais com fotossensibilização hepatógena, quando comparado àquele de animais sadios. À semelhança do que constatarem os autores supracitados, após o primeiro dia de estudo, a concentração sérica dessa proteína decresceu enquanto os animais eram submetidos a tratamento apropriado. Esse dado reafirma a utilidade da ceruloplasmina no monitoramento da recuperação do animal frente à terapia instituída. Vacas com mastite apresentaram as maiores concentrações séricas de

ceruloplasmina, sendo constatado aumento de 275,17% em relação aos animais sadios, com posterior decréscimo, embora diminuição significativa só tenha sido observada no último momento experimental (M6). Ainda há poucos relatos sobre o comportamento dessa proteína em casos de mastite em vacas, entretanto Costa *et al.* (2010) observaram aumento de 297,86% na concentração sérica de ceruloplasmina em ovelhas com mastite estafilocócica experimental. Ambos os resultados podem ser justificados pela ação anti-inflamatória e biocatalisadora da ceruloplasmina. Preconiza-se que um aumento na atividade da ceruloplasmina oxidase em vacas com mastite seria reflexo da ativação de um mecanismo dependente da atividade desse complexo enzimático contra o estresse oxidativo em fêmeas afetadas. Essa resposta teria a função de compensar a ineficiência de outros mecanismos antioxidantes comprometidos (Patel *et al.*, 2002). Quanto aos animais com onfaloflebite, constatou-se aumento de 114,54% na concentração sérica de ceruloplasmina, com posterior decréscimo ao longo do tratamento. Embora a utilização da ceruloplasmina como marcador inflamatório seja menos comum que a de outras PFAs, como a haptoglobina (Murata *et al.*, 2004), os resultados aqui expostos reforçam a importância desse biomarcador em doenças inflamatórias/infecciosas.

Tabela 1. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de ceruloplasmina (mg/dL) de bovinos sadios e bovinos portadores de doença inflamatória recente atendidos no HV da FCAV/Unesp/Campus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	14,1±4,11Aa	16,6±3,54Aa	13,9±3,03Aa	15,9±4,10Aa	12,8±3,88Aa	16,1±4,23Aa
Grupo doente						
Fotossensibilização	49,2±7,13Ba	44,5±6,65Bab	40,3±7,01Bb	40,0±6,76Bb	37,2±6,11Bb	34,8±5,74Bb
Mastite	62,6±9,23Ca	60,2±8,56Ca	58,9±9,87Ca	55,6±7,98Ca	50,7±8,09Cab	47,4±6,61Cb
Onfaloflebite	36,7±5,04Da	34,8±6,13Da	33,0±5,22Dab	29,9±4,99Db	30,3±5,41Db	27,1±4,23Db

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais, na mesma coluna, e letras minúsculas iguais, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (P > 0,05).

Quanto às concentrações séricas de transferrina, observou-se, de forma geral, diminuição inicial em todos os animais doentes, com posterior elevação ao longo do período de estudo (Tab. 2 e Fig. 2). No entanto, os valores séricos dessa proteína só foram significativamente menores em relação ao grupo sadio em bovinos com mastite,

os quais, a partir do quinto dia de avaliação (M5), apresentaram elevação das suas concentrações séricas, assemelhando-se às concentrações dos animais sadios. Essa diminuição dos teores séricos de transferrina observada nos primeiros momentos do estudo a caracterizam como proteína de fase aguda

negativa, conforme descrito por Jain *et al.* (2011). A redução dessa PFA representa um mecanismo de defesa do organismo, considerando que essa proteína sequestra íons férricos, que podem servir como substrato para diversos microrganismos (Murata *et al.*, 2004).

Para Tizard (2002), a concentração de transferrina aumenta quando há diminuição do teor sérico de ferro, situação que pode ocorrer em infecções causadas por *S. aureus*, que necessita desse mineral para sua multiplicação.

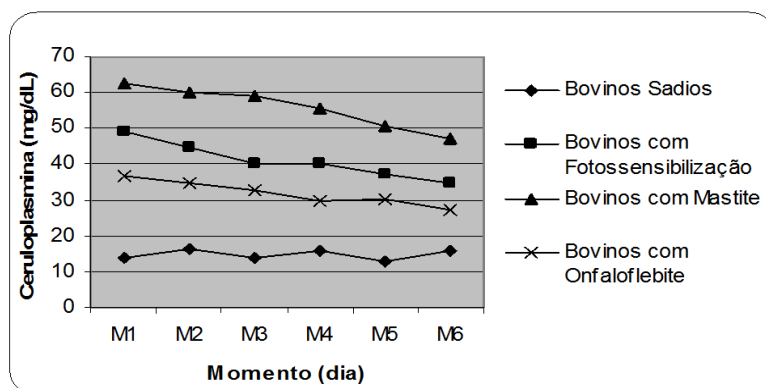


Figura 1. Médias das concentrações séricas de ceruloplasmina (mg/dL) de bovinos saudáveis e bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfaloflebite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Tabela 2. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de transferrina (mg/dL) de bovinos saudáveis e bovinos portadores de doença inflamatória recente atendidos no HV da FCAV/Unesp/Campus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	253±22,0Aa	268±19,9Aa	258±20,3Aa	270±24,6Aa	264±23,6Aa	260±20,66Aa
Grupo doente						
Fotossensibilização	248±29,3ABa	246±30,5ABa	251±23,7ABa	258±26,9Aa	260±31,1Aa	255±25,8Aa
Mastite	226±22,5Ba	240±26,7Ba	234±19,8Ba	240±21,5Ba	247±23,2Aa	260±30,5Aa
Onfaloflebite	252±20,6Aa	257±17,9Aa	249±21,2Aa	256±19,7Aa	260±24,4Aa	256±18,3Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais, na mesma coluna, e letras minúsculas iguais, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste Tukey ($P > 0,05$).

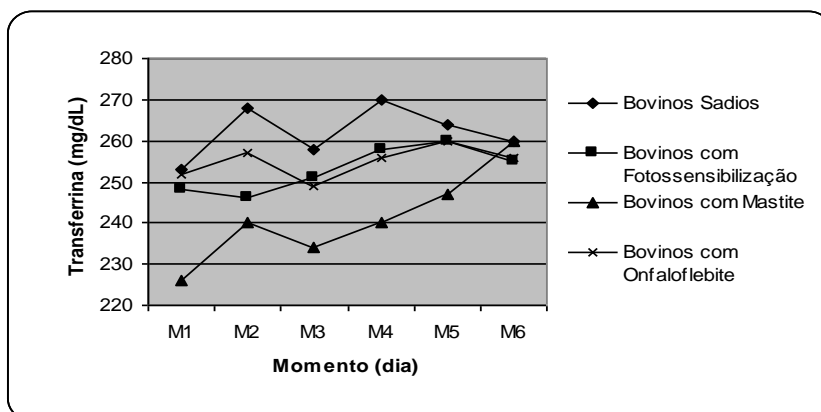


Figura 2. Médias das concentrações séricas de transferrina (mg/dL) de bovinos saudáveis e bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfaloflebite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Proteinograma sérico...

Nos bovinos acometidos por fotossensibilização, registrou-se elevação nas concentrações séricas de haptoglobina de 230,19% em relação ao grupo sadio (Tab. 3 e Fig. 3). Esse aumento corrobora o observado por Fagliari *et al.* (2007), em estudo com bovinos acometidos por fotossensibilização induzida experimentalmente, no qual os autores citaram que a haptoglobina foi a PFA cujo aumento sérico foi o mais marcante em relação a outras PFAs avaliadas, entre elas ceruloplasmina e α_1 -glicoproteína ácida. Os autores concluíram ainda que ensaios para a mensuração de PFAs, como a haptoglobina, podem ser úteis tanto para acompanhar a resposta do animal quanto para orientar uma possível mudança no protocolo terapêutico. Esse fato também foi constatado no presente trabalho, no qual foi possível observar o declínio do teor de ceruloplasmina acompanhado pela resposta positiva dos animais após instituição de terapia apropriada. As concentrações séricas de haptoglobina atingiram valores significativamente menores apenas no último dia de estudo (M6), embora ainda tenham se mantido significativamente elevadas em relação aos animais sadios, reforçando o que cita a literatura quanto à marcante resposta dos bovinos no que tange a elevações nos níveis dessa proteína frente a estímulos inflamatórios, sendo, conseqüentemente, uma das PFAs mais estudadas nessa espécie (Hirvonen e Pyörälä, 1998).

Os bovinos com mastite apresentaram a maior concentração sérica de haptoglobina entre os doentes, um aumento de 343,71%, atingindo

valor máximo no terceiro dia de internação (M3), com posterior decréscimo, corroborando os achados de Suojala *et al.* (2008), que, embora tenham realizado estudo experimental, observaram igualmente elevação dos níveis de haptoglobina após infecção intramamária. Já foram registrados aumentos relevantes nos teores dessa proteína em vacas acometidas por mastite de ocorrência natural, bem como correlação positiva entre a contagem de células somáticas e a concentração sérica de haptoglobina (Colla *et al.*, 2011). Ainda, Colla *et al.* (2011) ressaltaram o valor diagnóstico da haptoglobina em casos de mastite subclínica em vacas leiteiras, sublinhando a correlação positiva existente entre a severidade da lesão e os níveis séricos dessa proteína. Da mesma forma, Singh e Pachauri (2002) concluíram haver correlação direta entre o seu teor plasmático e a extensão da lesão no tecido mamário.

Nos bovinos com onfaloflebite, a concentração sérica de haptoglobina elevou-se em 144,47%, como mostram a Tab.3 e a Fig. 3.

Em bovinos com fotossensibilização hepatógena, notou-se elevação de 145,89% na concentração sérica de α_1 -glicoproteína ácida (Tab. 4 e Fig. 4). Fagliari *et al.* (2007) também constataram aumento significativo na concentração sérica dessa PFA em bovinos acometidos por fotossensibilização. À semelhança dos resultados aqui apresentados, os autores relataram aumento de 146,2%, em comparação a bovinos sadios.

Tabela 3. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de haptoglobina (mg/dL) de bovinos sadios e bovinos portadores de doença inflamatória recente atendidos no HV da FCAV/Unesp/Campus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	35,1±5,11Aa	38,1±4,73Aa	33,6±3,91Aa	37,4±4,02Aa	32,0±3,74Aa	36,1±4,15Aa
Grupo doente						
Fotossensibilização	123±20,7Ba	127±22,34Ba	120±25,2Ba	114±19,9Ba	111±17,3Ba	106±10,2Bb
Mastite	159±26,2Ca	165±23,8Ca	170±19,7Ca	161±17,4Ca	149±16,1Cb	138±15,8Cb
Onfaloflebite	94±10,5Da	90±12,3Dab	85±10,7Dab	89±9,8Dab	82±11,5Db	79±9,2Db

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais, na mesma coluna, e letras minúsculas iguais, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (P> 0,05).

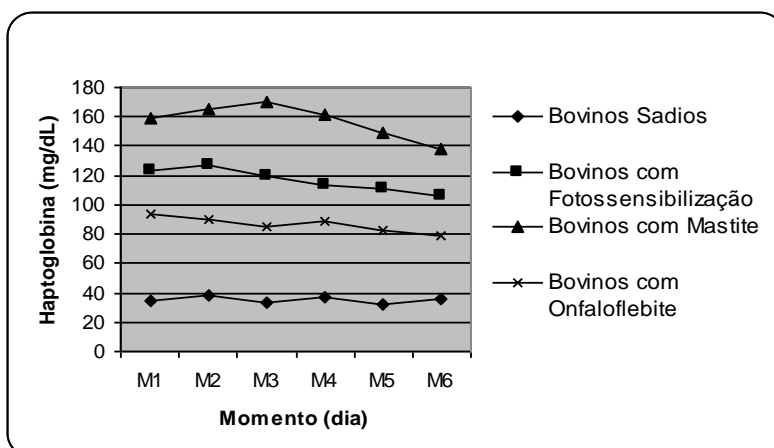


Figura 3. Médias das concentrações séricas de haptoglobina (mg/dL) de bovinos sadios e bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfaloflebite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Tabela 4. Médias e desvios-padrão das concentrações séricas de α_1 -glicoproteína ácida (mg/dL) de bovinos sadios e bovinos portadores de doença inflamatória recente atendidos no HV da FCAV/Unesp/Campus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	13,9±2,4Aa	16,0±2,1Aa	14,7±1,7Aa	17,1±1,9Aa	15,8±2,0Aa	13,8±1,8Aa
Grupo doente						
Fotossensibilização	39,1±4,8Ba	40,3±5,2Ba	38,4±4,9Ba	35,2±5,3Bab	37,2±4,4Bab	34,3±3,8Bb
Mastite	44,2±5,5Ca	49,0±4,7Cb	52,8±6,3Cb	47,0±5,1Cb	40,0±4,8Ca	39,2±5,1Ca
Onfaloflebite	15,4±2,97Aa	17,3±2,84Aa	16,2±2,43Aa	14,1±2,12Aa	15,1±1,95Aa	14,8±2,22Aa

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais, na mesma coluna, e letras minúsculas iguais, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste Tukey ($P > 0,05$).

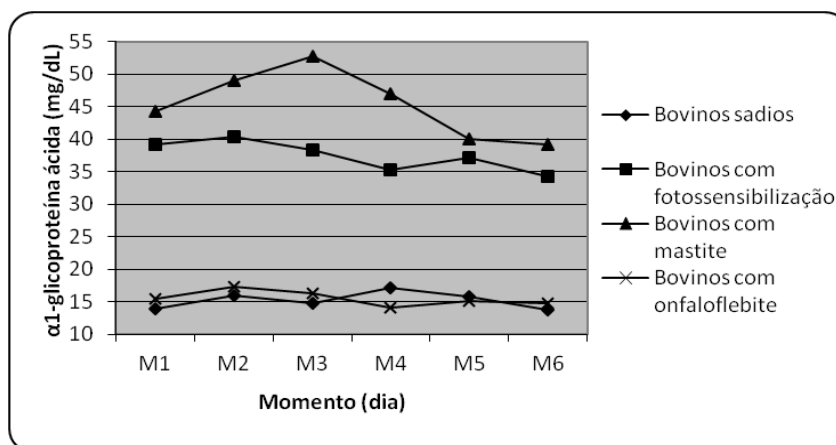


Figura 4. Médias das concentrações séricas de α_1 -glicoproteína ácida (mg/dL) de bovinos sadios e bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfaloflebite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Os animais com mastite apresentaram valores médios de α_1 -glicoproteína ácida superiores ao grupo sadio durante todo o período experimental, sendo observado um aumento de 198,14% nas concentrações séricas dessa proteína. Tal resultado ratifica as afirmações de Murata *et al.* (2004), que consideram essa proteína um importante biomarcador no monitoramento clínico de processos inflamatórios em bovinos. Entretanto, Alsemgeest *et al.* (1995), ao compararem reações inflamatórias agudas e crônicas em bovinos, concluíram que a α_1 -glicoproteína ácida está mais associada a condições crônicas. Mais estudos devem ser feitos acerca da atuação dessa PFA positiva em casos de mastite.

Ao contrário dos animais com fotossensibilização ou mastite, nos quais a α_1 -glicoproteína ácida foi biomarcador sensível de inflamação, nos bovinos com onfaloflebite não

foi verificada diferença significativa nas concentrações séricas de α_1 -glicoproteína ácida em relação ao grupo sadio, corroborando Hirvonen (2000), que afirmou que a α_1 -glicoproteína ácida possui resposta moderada a relativamente baixa em resposta à injúria tecidual em bovinos.

Nos bovinos acometidos por fotossensibilização, observou-se discreto aumento nas concentrações plasmáticas de fibrinogênio em relação aos animais sadios, de 8,68% (Tab. 5 e Fig. 5). Embora as concentrações plasmáticas dessa proteína não tenham excedido o limite de referência largamente utilizado na rotina clínica veterinária, estabelecido por Kaneko *et al.* (2007), neste estudo todos os animais doentes apresentaram valores significativamente elevados em relação ao grupo sadio.

Tabela 5. Médias e desvios-padrão das concentrações plasmáticas de fibrinogênio (mg/dL) de bovinos sadios e bovinos portadores de doença inflamatória recente atendidos no HV da FCAV/Unesp/Campus de Jaboticabal, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6)

Grupo	Momento					
	M1	M2	M3	M4	M5	M6
Grupo sadio	364±32,8Aa	356±36,2Aa	377±33,9Aa	364±30,5Aa	359±32,0Aa	380±29,8Aa
Grupo doente						
Fotossensibilização	422±43,2Bab	405±37,7Bab	401±34,6Bab	395±31,0Bab	388±27,6Bab	380±31,3Bb
Mastite	964±91,4Ca	973±97,6Ca	939±90,6Ca	922±84,3Ca	822±79,5Cb	804±76,8Cb
Onfaloflebite	501±45,7Da	522±50,1Da	498±41,9Dab	505±49,5Da	483±40,1Dab	459±40,3Db

Médias seguidas de letras maiúsculas iguais, na mesma coluna, e letras minúsculas iguais, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste Tukey (P > 0,05).

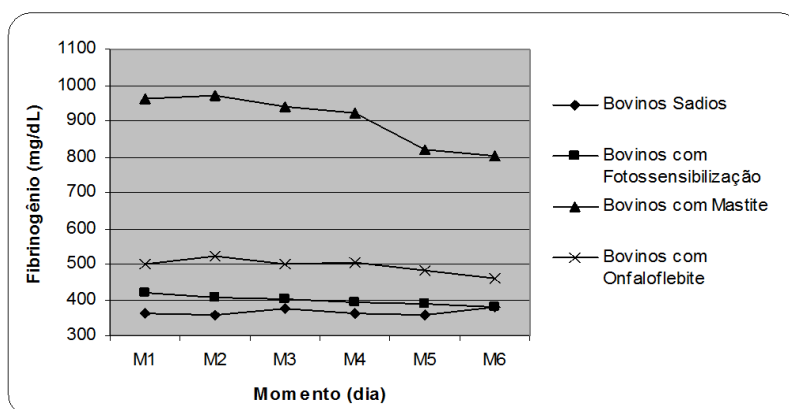


Figura 5. Médias das concentrações séricas de fibrinogênio (mg/dL) de bovinos sadios e bovinos com fotossensibilização, mastite ou onfaloflebite, no dia da internação (M1) e nos cinco dias subsequentes (M2 a M6).

Os bovinos com mastite apresentaram uma elevação de 146,5% nas concentrações plasmáticas de fibrinogênio, decrescendo ao longo do experimento. Nielsen *et al.* (2004) ressaltaram uma elevação mais marcante no teor de fibrinogênio de vacas com mastite em relação a vacas com condições inflamatórias extramamárias, assim como foi constatado nos resultados aqui apresentados, ao se compararem os dados referentes aos bovinos com mastite e aqueles acometidos por fotossensibilização ou onfaloflebite. Isto possivelmente ocorreu devido ao fato de as vacas com mastite estarem sujeitas a estímulo inflamatório mais severo. Colla *et al.* (2011) também constataram elevação nas concentrações plasmáticas de fibrinogênio em vacas com mastite clínica e subclínica quando comparadas a animais saudáveis. No entanto, estes autores concluíram que o fibrinogênio não foi sensível em discriminar animais com mastite clínica daqueles com processo subclínico em curso.

Nos bovinos com onfaloflebite, as concentrações plasmáticas de fibrinogênio também foram superiores às dos animais sadios, com elevação de 34,91%, decrescendo posteriormente. A resposta apresentada pelo grupo doente neste estudo mostrou a precocidade e persistência da elevação do teor plasmático de fibrinogênio por quanto tempo o estímulo inflamatório seja mantido. O fato de os animais doentes só apresentarem redução das concentrações plasmáticas dessa proteína alguns dias após o início do experimento – levando-se em conta o tempo transcorrido entre o real início do processo de injúria tissular e o primeiro dia de internação – confirma os relatos de Cole *et al.* (1997) quanto à persistência na elevação da concentração plasmática dessa PFA durante o processo patológico pelo tempo em que ele permaneça ativo, retornando aos níveis fisiológicos paulatinamente, em alguns dias ou até semanas, ao contrário de outras PFAs.

Diante dos resultados obtidos, é possível inferir que ceruloplasmina e haptoglobina atuaram como biomarcadores precoces e confiáveis em bovinos acometidos por mastite estafilocócica, fotossensibilização hepatógena ou onfaloflebite, enquanto α_1 -glicoproteína ácida mostrou boa responsividade apenas para animais fotossensibilizados e mastíticos. Fibrinogênio foi um bom indicador de foco inflamatório apenas

em bovinos sofrendo de mastite estafilocócica. Essa diferença na responsividade de diferentes PFAs para distintas enfermidades confirmados já citados na literatura, nos quais se explica que a síntese proteica é estabelecida geneticamente, o que justificaria essa variabilidade entre espécies e indivíduos, a qual é refletida no perfil eletroforético das proteínas séricas em situação fisiológica (Kaneko *et al.*, 2007; Eckersall e Conner, 1988; Eckersall, 2004). O comportamento variável de uma mesma PFA em diferentes enfermidades foi descrito por Baumann *et al.* (1989), os quais demonstraram que combinações diferentes de citocinas – entre elas IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 e FNT α – induzem a produção de diferentes PFAs em hepatócitos de ratos. Conner *et al.* (1988) salientaram ainda que nem todas as PFAs são igualmente sensíveis e rápidas quanto a sua resposta a um “fator desencadeante”. Portanto, é esperado que cada proteína reaja distintamente para cada tipo de enfermidade, sendo necessárias cada vez mais pesquisas envolvendo diferentes tipos de doenças.

CONCLUSÕES

A diferença na responsividade de distintas PFAs frente a diferentes estímulos inflamatórios ficou clara diante dos resultados obtidos. Das PFAs analisadas, ceruloplasmina e haptoglobina mostraram-se biomarcadores precoces e confiáveis na espécie bovina, independentemente da enfermidade avaliada.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Apoio e Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), pelo financiamento deste projeto.

REFERÊNCIAS

- ALSEMGEEST, S.P.M.; LAMBOUY, I.E.; WIERENGA, H.K. *et al.* Influence of physical stress on the plasma concentration of serum amyloid A (SAA) and haptoglobin (HP) in calves. *Vet. Quat.*, v.17, p.9-12, 1995.
- BAUMANN, H.; PROWSE, K.R.; MARINKOVIC, S. *et al.* Stimulation of hepatic acute phase response by cytokines and glucocorticoids. 1989. Disponível em <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1749-6632.1989.tb24021.x/abstract>> Acessado em: 13 dez. 2011.

Proteinograma sérico...

- COLE, D.J.; ROUSSEL, A.J.; WHITNEY, M.S. Interpreting a bovine CBC: evaluating the leukon and acute-phase proteins. *Food Anim. Prac.*, v.92, p.470-478, 1997.
- COLLA, M.F.; VALLE, S.F.; SECCHI, P. *et al.* Plasma haptoglobin values in cows with different somatic cell counting in milk samples. *Acta Sci. Vet.*, v.39, p.739-743, 2011.
- CONNER, J.G.; ECKERSALL, P.D.; WISEMAN, A. *et al.* Bovine acute phase response following turpentine injection. *Res. Vet. Sci.*, v.44, p.82-88, 1988.
- COSTA, N.A.; SIMÃO, L.C.V.; SANTOS, R.A. *et al.* Proteinograma e teores de cobre, ferro e zinco no soro sanguíneo de ovelhas da raça Santa Inês com mastite experimental por *Staphylococcus aureus*. *Pesq. Vet. Bras.*, v.30, p.435-442, 2010.
- CRAY, C. Acute phase proteins in animals. *Prog. Mol. Bio. Transl. Sci.*, v.105, p.113-150, 2012.
- DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H.; GRUNERT, E. *et al.* 3.ed. *Rosenberger: Exame clínico de ruminantes*. Guanabara Koogan, 1993. 419p.
- ECKERSALL, P.D. The time is right for acute phase proteins assays. *Brit. Vet. J.*, London, v.168, p.3-5, 2004.
- ECKERSALL, P.D.; CONNER, J.G. Bovine and canine acute phase proteins. *Vet. Res. Com.* v.12, p.169-178, 1988.
- FAGLIARI, J.J.; PASSIPIERI, M.; OKUDA, H.T. *et al.* Serum protein concentrations, including acute phase proteins, in calves with hepatogenous photosensitization. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, v.59, p.1355-1358, 2007.
- GANHEIM, C.; HULTÉN, C.; CARLSSON, U. *et al.* The acute phase response in calves experimentally infected with bovine viral diarrhea virus and/or *Mannheimia haemolytica*. *J. Vet. Med.*, v.50, p.183-190, 2003.
- GONZÁLEZ, F.H.D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; CERÓN, J.J. Haptoglobina en rumiantes: generalidades y posibles aplicaciones clínicas. *Anal. Vet. Mur.*, v.23, p.5-17, 2007.
- HIRVONEN, J. *Acute phase response in dairy cattle*. 2000. 80f. Dissertação (Master's degree) – Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki, Helsinki, Finland.
- HIRVONEN, J.; PYÖRÄLÄ, S. Acute phase response in dairy cows with surgically-treated abdominal disorders. *Vet. J.*, v.155, p.53-61, 1998.
- JAIN, N.C. *Essentials of Veterinary Hematology*. Philadelphia: Lea & Febinger, 1993. 417p.
- JAIN, S.; GAUTAM, V.; NASEEM, S. Acute phase proteins: As diagnostic tool. *J Pharm. Bioal. Sci.*, v.3, p.118-127. 2011.
- KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. 6.ed. *Clinical biochemistry of domestic animals*. New York: Academic Press, 2007. 1000p.
- LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nat.*, v.227, p.680-685, 1970.
- MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. *Vet. J.*, v.168, p.28-40, 2004.
- NIELSEN, B.H.; JACOBSEN, S.; ANDERSEN, P.H. *et al.* Acute phase protein concentrations in serum and milk from healthy cows, cows with clinical mastitis and cows with extramammary inflammatory conditions. *Vet. Rec.*, v.154, p.361-365, 2004.
- PATEL, B.N.; DUNN, R.J.; JEONG, S.Y. *et al.* Ceruloplasmin regulates iron levels in the CNS and prevents free radical injury. *J. Neurosci.*, v.22, p.6578-6586, 2002.
- PETRIE, A.; WATSON, P. *Estatística em ciência animal e veterinária*. 2.ed. São Paulo: Roca, 2009. 236p.
- SINGH, S.V.; PACHAURI, S.P. Acute phase proteins in bovine mastitis. *Ind. J. Ani. Sci.*, v.72, p.20-22, 2002
- SKINNER, J.G. International standardization of acute phase proteins. *Special Report. Vet. Clin. Pat.*, v.30, p.2-7, 2001.
- SUOJALA, L.; ORRO, T.; JARVINEN, H. *et al.* Acute phase response in two consecutive experimentally induced *E. coli* intramammary infections in dairy cows. *Acta. Vet. Scand.*, v.50, p.1-10, 2008.
- TIZARD, I.R. *Imunologia Veterinária: uma introdução*. 6.ed. São Paulo: Roca, 532p. 2002.