

Perfil sérico proteico de vacas Holandesas no período de transição

[Serum protein profile of Holstein cows during the transition period]

J.F. Reis¹, K.M. Madureira², C.P.C. Silva¹, V.P.A. Baldacim¹, J.J. Fagliari³, V. Gomes^{1*}

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo - São Paulo, SP

²Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade Federal da Bahia - Salvador, BA

³Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - Jaboticabal, SP

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar, de forma longitudinal, o perfil sérico proteico de 13 vacas Holandesas durante o período de transição. Amostras de sangue (n=78) foram coletadas semanalmente, da segunda semana pré-parto (M-2) até a terceira semana pós-parto (M3), para determinação do perfil sérico proteico, por meio de teste bioquímico (proteínas séricas totais - PT) e eletroforese em gel de poliacrilamida SDS-PAGE, para as outras proteínas analisadas. Os valores de PT diminuíram de forma gradativa (P=0,000) de M-2 (6,4g/dL) a M0 (6,2g/dL), aumentando nos momentos subsequentes (M3=7,3g/dL). As concentrações da IgG de cadeia pesada (M-2=919,4; M-1=1074,5mg/dL) e de cadeia leve (M-2=393,9; M-1=466,7mg/dL) foram menores no pré-parto em relação ao pós-parto (M1=1283,3; M2=1374,2 e M3=1630,3 mg/dL para IgG pesada e M1=463,4; M2=573,7; M3=651,8mg/dL para IgG leve). Para a IgA, houve diminuição nos valores (P=0,001), de M-2 (51,9mg/dL) a M1 (34,0mg/dL), e aumento em M2 (45,4g/dL) e M3 (62,6g/dL). Os valores de haptoglobina (Hp) e ceruloplasmina (Cp) aumentaram (P=0,000) de M-2 (Hp=16,6mg/dL; Cp=8,6mg/dL) a M3 (Hp=60,9mg/dL; Cp=127,1mg/dL). A albumina apresentou ligeiras variações durante o período de transição (P=0,000), enquanto a transferrina sérica (P=0,101) e a glicoproteína ácida (P=0,105) foram estáveis. O escore de condição corporal (ECC) também foi analisado durante o período de transição, verificando-se diferença (P=0,003) entre M-2 (ECC=4,0) e M1 (ECC=3,0). Foi relatada ainda a ocorrência de distócias (4/13), retenção de placenta (1/13) e hipocalcemia (1/13) no dia da parição (M0) e infecções uterinas (5/13) e cetose (1/13) ocorridas no pós-parto. Concluiu-se, portanto, que houve aumento nas concentrações séricas de Hp e Cp e diminuição nos valores de imunoglobulina e transferrina em vacas Holandesas no período de transição, relacionados às doenças ocorridas nesse período e ao elevado ECC, promovendo modificações metabólicas e imunossupressão.

Palavras-chave: inflamação, proteínas, periparto, bovinos

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate longitudinally the serum protein profile of 13 Holstein cows during the transition period. Blood samples (n=78) were taken weekly, from the second week before parturition (M-2) to the third week after parturition (M3) for determination of serum protein profile by biochemical tests (total serum protein - PT) and SDS-PAGE electrophoresis, for the other proteins analyzed. PT values decreased gradually (P = 0.000) from M-2 (6.4g/dL) to M0 (6.2g/dL), increasing in subsequent moments (M3 = 7.3g/dL). The concentrations of the heavy chain (M-2=919.4; M-1=1074.5mg/dL) and the light chain of IgG (M-2=393.9; M-1=466.7mg/dL) were lower in pre-calving compared to post calving (M1= 1,283.3; M2=1,374.2 and M3=1,630.3 mg/dL for the heavy chain, and M1=463.4; M2=573.7 and M3=651.8 mg/dL for the light chain of IgG). For IgA there was a decrease in the values (P=0.001), from M-2 (51.9mg/dL) to M1 (34.0mg/dL), and increase in M2 (45.4g/dL) and M3 (62.6g/dL). The values of haptoglobin (Hp) and ceruloplasmin (Cp) increased (P=0,000) from M-2 (Hp=16.6mg/dL; Cp=8.6 mg/dL) to M3 (Hp=60.9mg/dL; Cp=127.1mg/dl). Albumin showed slight variations during the transition period (P=0.000), while the serum transferrin (P=0.101) and acid glycoprotein (P=0.105) were stable. Body condition score (BCS) was also analyzed during the transition period, checking the difference (P=0.003) between M-2 (ECC= 4.0) and M1

Recebido em 27 de setembro de 2015

Aceito em 8 de janeiro de 2016

*Autor para correspondência (corresponding author)

E-mail: viviani.gomes@usp.br

(ECC=3.0). It was also reported the occurrence of dystocia (4/13), retained placenta (1/13) and hypocalcemia (1/13) on the day of calving (M0) and uterine infections (5/13) and ketosis (1/13) occurring in the post calving. In conclusion, there was an increase in serum Hp and Cp, and a decrease in the immunoglobulins and transferrin amounts in Holstein cows during the transition period, related to diseases occurring during this period and the high BCS, promoting metabolic changes and immunosuppression.

Keywords: inflammation, proteins, peripartum, bovine

INTRODUÇÃO

O período de transição é marcado por adaptações metabólicas para suprir o aumento das demandas energéticas ao final da gestação. Nessa fase, a priorização dos mecanismos homeorréticos e o direcionamento dos nutrientes da dieta para a gestação e a colostrogênese, em detrimento da homeostasia, podem resultar em desequilíbrio metabólico associado à imunossupressão (Goff *et al.*, 2002).

A imunossupressão em vacas no período de transição é decorrente do leucograma de estresse (Meglia *et al.*, 2005), diminuição quantitativa e qualitativa da resposta imune celular dependente das células T auxiliares (CD4⁺) e citotóxicas (CD8⁺) (Kimura *et al.*, 1999). Além disso, a produção de anticorpos também está reduzida no periparto (Drackley *et al.*, 2005). A associação entre o desequilíbrio metabólico e a imunossupressão aumenta o grau de risco para as doenças metabólicas, como cetose, acidose ruminal aguda, fígado gorduroso (Esposito *et al.*, 2014), e doenças infecciosas, como mastite e metrite (Ingvarstsen e Moyes, 2013).

Corassin *et al.* (2011), ao analisarem vacas Holandesas de alta produção leiteira, encontraram, no período periparto, incidências de 22,6; 19,0; 16,9; 9,8; 1,9 e 1,7%, respectivamente, para metrite; retenção de placenta; cetose; abortamentos; deslocamento de abomaso e febre do leite. Os autores verificaram ainda que a cetose aumentou em 8,1 vezes o risco de deslocamento de abomaso, e a metrite aumentou em 2,39 vezes o risco de cetose, indicando que a associação existente entre as enfermidades é determinada pela susceptibilidade apresentada pelos animais durante o período de transição.

Nesse contexto, parece ser fundamental o conhecimento de ferramentas que auxiliem na identificação precoce das doenças do periparto, reduzindo os prejuízos por elas proporcionados

na produção leiteira, nas taxas reprodutivas, nos custos com tratamentos e na expectativa de vida da vaca (Hailemariam *et al.*, 2014).

Schneider *et al.* (2013) verificaram que vacas com infecções uterinas no periparto apresentaram menores valores séricos de albumina e maiores valores de haptoglobina, quando comparadas com vacas livres de infecção. Já Nightingale *et al.* (2015) observaram redução na taxa de concepção em vacas que apresentaram altos valores séricos de haptoglobina (acima de 1.757ug/mL).

Assim, as proteínas de fase aguda podem atuar como importantes biomarcadores, permitindo a determinação de um perfil multifuncional e a consequente avaliação das condições inflamatória e imunológica das vacas durante o período de transição, garantindo um diagnóstico precoce (Eckersall e Bell, 2010; Nightingale *et al.*, 2015). Considerando ainda os escassos estudos nacionais realizados até o momento envolvendo o perfil das proteínas de fase aguda em vacas no período de transição, esta pesquisa teve como objetivo a avaliação longitudinal do perfil sérico proteico de vacas Holandesas durante o período de transição.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 13 fêmeas bovinas Holandesas, gestantes, de segunda a quarta lactação, provenientes de fazenda leiteira localizada na cidade de Nova Odessa - SP (latitude 22°75'S e longitude 47°27'W). Dados referentes à ocorrência de doenças durante o período estudado foram obtidos por consulta aos registros da fazenda. No momento da coleta das amostras, foi avaliado também o escore de condição corporal (ECC), classificado conforme Edmonson *et al.* (1989).

Amostras sanguíneas (n=78) foram coletadas semanalmente a partir da segunda semana pré-parto (M-2) até a terceira após o parto (M3),

incluindo a parição (M0). A coleta de sangue foi feita pela punção da artéria coccígea em tubos sem anticoagulante, utilizando-se sistema à vácuo. Após a retração do coágulo, as amostras foram centrifugadas à 1.223xg por 10 minutos; em seguida, o soro foi retirado e acondicionado em duplicatas mantidas em freezer a -80°C. A primeira alíquota do soro foi utilizada para a determinação da proteína total, por meio de teste bioquímico (Cat. TP 4001 - Randox Laboratories® - USA), em analisador automático (RX Daytona - Randox Laboratories® - USA), empregando-se metodologia descrita pelo fabricante.

A segunda alíquota de soro foi utilizada para o fracionamento das proteínas, determinado por meio da técnica da eletroforese em gel de poliacrilamida SDS-PAGE (Dodecil-Sulfato de Dódio de Poliacrilamida) de acordo com o proposto por Laemmli (1970). As concentrações das proteínas foram determinadas por densitometria computadorizada e, como referência, foi utilizada uma solução marcadora com diferentes pesos moleculares, de amplo e estreito espectro, além das proteínas purificadas IgG bovina, ceruloplasmina, haptoglobina, transferrina e $\alpha 1$ -glicoproteína ácida.

A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa estatístico SPSS 17.0 (SPSS Statistics for Windows, Version 17.0. Armonk, NY: IBM Corp). As frações proteicas foram testadas quanto à aderência à distribuição normal pelo teste de Kolmogorov-Smirnov, entretanto a distribuição não normal de algumas variáveis e o baixo número amostral favoreceram o poder estatístico dos testes não paramétricos. Foi realizado teste de Friedman ($P \leq 0,05$) associado ao teste de Wilcoxon, com correção de Bonferroni utilizando $\alpha = 0,05$ ($P \leq 0,002$). O projeto de pesquisa que deu origem a este artigo foi aprovado pela Comissão de Bioética da FMVZ/USP, sob número 2767/2012.

RESULTADOS

Esta pesquisa avaliou as variações no perfil das frações sérico-proteicas em vacas Holandesas durante o período de transição. Ao se analisarem os dados referentes à ocorrência de doenças que constavam nos registros e nas fichas individuais dos animais da fazenda, verificou-se que as relatadas no dia da parição (M0) foram distocias

(4/13), retenção de placenta (1/13) e hipocalcemia (1/13). No período pós-parto, foram observados casos de infecções uterinas (5/13) e cetose (1/13).

Com relação ao ECC, os valores medianos obtidos foram de 4,0; 3,8; 3,5; 3,0; 3,3 e 3,5 do M-2 ao M3, respectivamente. Foi possível observar variação no ECC durante o período de transição ($P=0,000$), observando-se diferenças entre a segunda semana pré-parto (M-2) e a primeira semana pós-parto (M1) ($P=0,003$).

Os valores medianos, mínimos e máximos obtidos para proteínas séricas totais e frações globulínicas (IgG de cadeia pesada, IgG de cadeia leve, IgA) em vacas Holandesas no período de transição estão apresentados na Tab. 1. Já os valores individuais obtidos em cada momento estudado estão apresentados nas Fig. 1A, 1B, 1C e 1D, respectivamente. Os teores de proteína total apresentaram variações durante o período de transição ($P=0,000$), com valor de 6,4g/dL detectado duas semanas antes do parto (M-2), que diminuiu até o valor mínimo de 6,2g/dL na parição (M0), observando-se aumento gradativo no pós-parto (M3=7,3g/dL). A comparação múltipla entre os momentos revelou diferenças estatísticas entre M-1 e M1 em relação ao M3 ($P \leq 0,002$).

As concentrações séricas de IgG de cadeias pesada e leve apresentaram perfil semelhante durante o período de transição. Foi possível detectar diferenças entre os momentos para ambas as cadeias de IgG ($P=0,000$), observando-se menores valores no pré-parto em relação ao pós-parto. A comparação múltipla entre os momentos permitiu identificar diferenças para a cadeia pesada da IgG ($P \leq 0,002$) entre a segunda semana pré-parto (M-2) e a terceira semana pós-parto (M3) e entre a primeira semana pré-parto (M-1) em relação à terceira (M3) ($P \leq 0,002$). Para a cadeia leve da IgG, obtiveram-se diferenças ($P \leq 0,001$) entre a terceira semana pós-parto (M3) em relação à segunda e primeira semanas pré-parto (M-2 e M-1, respectivamente); e em relação à parição (M0) ($P \leq 0,002$) e à primeira semana pós-parto (M1) ($P \leq 0,002$); além da diferença verificada entre M-1 e M2 ($P \leq 0,001$).

A IgA apresentou variações no período de estudo ($P=0,000$), observando-se diminuição progressiva nos valores obtidos a partir da

segunda semana pré-parto (M-2) (51,9mg/dL) à primeira semana pós-parto (M1) (34,0mg/dL) e aumento em M2-M3 (45,4mg/dL e 62,6mg/dL, respectivamente). No teste *posthoc*, houve diferença entre M1 e M3 (P=0,001).

Os valores medianos, mínimos e máximos obtidos para as proteínas de fase aguda negativa (albumina e transferrina) e as proteínas de fase aguda positivas (haptoglobina, glicoproteína

ácida, ceruloplasmina) estão apresentados na Tab. 2. Já os valores individuais obtidos em cada momento estudado estão apresentados nas Fig. 1E, 1F, 1G, 1H e 1I, respectivamente. Os teores de albumina apresentaram variações entre os momentos estudados (P=0,000), entretanto não foi possível detectar tais variações no teste *posthoc* (P≥0,002).

Tabela 1. Proteína total sérica e fração globulina em vacas Holandesas no período de transição

	M-2	M-1	M0	M1	M2	M3	Valor de P
Proteína total (g/dL)							
Mediana	6,4	6,5 ^t	6,2 ^t	6,4 ^t	6,6	7,3	
Mínimo	5,8	5,8	5,6	5,7	5,4	6,1	0,000
Máximo	7,9	7,4	7,2	7,2	8,0	8,4	
IgG de cadeia pesada (mg/dL)							
Mediana	919,4 ^t	1074,5 ^t	992,6	1283,3	1374,2	1630,3	
Mínimo	343,3	859,6	889,6	140,8	822,2	1082,4	0,000
Máximo	1413,6	1472,4	1433,9	1512,6	1707,5	1868,7	
IgG de cadeia leve (mg/dL)							
Mediana	393,9 ^t	466,7 ^{ef}	373,2 ^f	463,4 ^t	573,7	651,7	
Mínimo	39,6	272,6	247,0	182,9	312,6	542,1	0,000
Máximo	746,9	714,3	635,8	655,3	815,0	1118,1	
IgA (mg/dL)							
Mediana	51,9	50,1	36,9	34,0 ^f	45,4	62,6	
Mínimo	23,8	16,1	18,5	18,6	16,5	29,9	0,000
Máximo	90,2	106,9	62,0	57,1	67,2	81,3	

Legenda: M-2: segunda semana pré-parto; M-1: primeira semana pré-parto; M0: dia do parto; M1: primeira semana pós-parto; M2: segunda semana pós-parto; M3: terceira semana pós-parto. Letras minúsculas demonstram diferença com relação a: (a) valores diferentes de M-2; (b) valores diferentes de M-1; (c) valores diferentes de M0; (d) valores diferentes de M1; (e) valores diferentes de M2; (f) valores diferentes de M3.

Tabela 2. Proteínas de fase aguda negativas e positivas detectadas no soro de vacas Holandesas no período de transição

	M-2	M-1	M0	M1	M2	M3	Valor de P
Albumina (mg/dL)							
Mediana	4234,4	4089,5	4132,9	4104,2	3427,8	4207,2	
Mínimo	1560,0	2438,4	3485,2	1407,8	468,9	3184,2	0,000
Máximo	4786,4	4667,7	4448,7	4401,0	4232,6	4884,3	
Transferrina (mg/dL)							
Mediana	109,7	233,6	303,6	156,3	215,6	223,9	
Mínimo	22,4	41,3	3,2	53,7	80,6	46,0	0,101
Máximo	445,9	431,7	422,7	245,9	364,4	423,7	
Haptoglobina (mg/dL)							
Mediana	16,6	19,8 ^{def}	32,0	45,7	60,9	57,6	
Mínimo	4,3	10,9	18,0	28,6	16,0	25,1	0,000
Máximo	1490,0	50,8	678,0	114,5	100,9	94,0	
Glicoproteína ácida (mg/dL)							
Mediana	12,4	13,7	14,8	21,1	20,1	16,0	
Mínimo	5,4	6,4	11,9	11,2	4,4	9,1	0,105
Máximo	27,3	25,4	49,7	101,5	80,7	51,1	
Ceruloplasmina (mg/dL)							
Mediana	58,6 ^{ef}	77,6	84,7	127,1	125,6	102,9	
Mínimo	15,8	29,7	53,1	82,1	60,0	45,9	0,000
Máximo	111,2	173,2	199,5	264,5	229,5	213,8	

Legenda: M-2: segunda semana pré-parto; M-1: primeira semana pré-parto; M0: dia do parto; M1: primeira semana pós-parto; M2: segunda semana pós-parto; M3: terceira semana pós-parto. Letras minúsculas demonstram diferença com relação a: (a) valores diferentes de M-2; (b) valores diferentes de M-1; (c) valores diferentes de M0; (d) valores diferentes de M1; (e) valores diferentes de M2; (f) valores diferentes de M3.

Perfil sérico proteico...

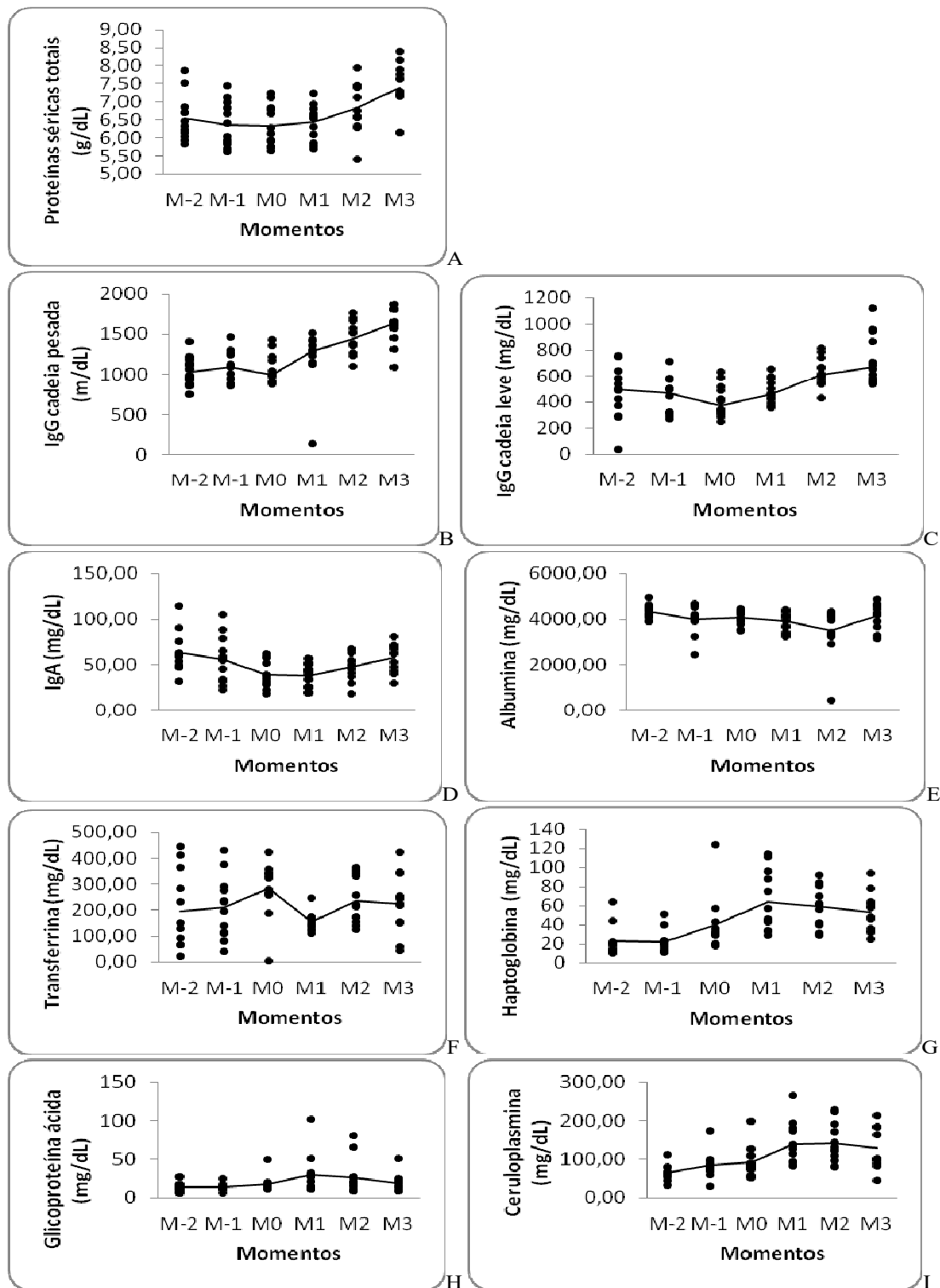


Figura 1. Valores médios do perfil sérico proteico de vacas Holandesas no período de transição. Legenda: Momentos - M-2: segunda semana pré-parto; M-1: primeira semana pré-parto; M0: dia do parto; M1; primeira semana pós-parto; M2: segunda semana pós-parto; M3: terceira semana pós-parto.

Os valores medianos de transferrina aumentaram do pré-parto ao parto, observando-se decréscimo gradativo nos momentos subsequentes. Apesar das variações observadas, não foi possível detectar diferenças estatísticas entre os momentos ($P=0,101$).

Haptoglobina sérica aumentou gradativamente de M-2 até M2 (16,6 - 60,9mg/dL, respectivamente). O valor obtido em M-1 (19,8mg/dL) apresentou diferença em relação ao M1 (45,7mg/dL) ($P\leq 0,001$), M2 (60,9g/dL) ($P\leq 0,001$) e M3 (57,6g/dL) ($P\leq 0,001$).

Glicoproteína ácida não apresentou diferença significativa entre os momentos pelo teste de Friedman ($P=0,105$). A ceruloplasmina apresentou aumento gradativo do M-2 ao M1 (58,6; 77,6; 84,7 e 127,1mg/dL, respectivamente). Pelo teste *posthoc*, foi possível confirmar diferença nos valores de ceruloplasmina entre M-2 (58,6mg/dL) com M2 (125,6mg/dL) ($P\leq 0,002$) e M3 (102,9mg/dL) ($P\leq 0,002$).

DISCUSSÃO

Este trabalho comprovou variações no perfil das frações sérico-proteicas em vacas Holandesas. Em razão do perfil multifatorial das frações proteicas, optou-se por apresentar esta discussão de acordo com as influências fisiológicas e homeorréticas ocorridas no período de transição, seguidas das intercorrências inflamatórias.

Os valores mínimos obtidos para a proteína total antes do parto coincidem com o período no qual se inicia a transferência de imunoglobulinas para a glândula mamária por mecanismo ativo de pinocitose para a formação do colostro (Larson, 1979), fato comprovado pela semelhança entre as variações obtidas para proteína total e imunoglobulinas na parição.

A proteólise das proteínas para gerar aminoácidos para a gliconeogênese diante do balanço energético negativo é pouco provável (Bell *et al.*, 2000), pois as concentrações de albumina apresentaram variações discretas e não significativas entre o parto e M1. Além disso, os valores de albumina detectados estão contemplados nos intervalos de 2.600,0 a 3.700,0mg/dL estabelecidos para bovinos na literatura (Kaneko *et al.*, 2008).

Os menores valores de IgG obtidos no pré-parto em relação ao pós-parto podem ser atribuídos à colostrogênese (Larson, 1979) ou ainda à redução na quantidade e na função dos linfócitos B, acarretando em redução na produção de imunoglobulinas e consequente imunossupressão (Ohtsuka *et al.*, 2004). Os valores medianos obtidos para IgG nesta pesquisa, de M-2 a M2, foram inferiores aos valores obtidos por Saut *et al.* (2009) no pós-parto (2.296,6mg/dL) e por Tóthová *et al.* (2014), que encontraram os valores de 2.500mg/dL em vacas sadias avaliadas nas duas primeiras semanas após o parto. Assim, os baixos teores de imunoglobulinas no pré-parto podem ter aumentado o grau de risco para as doenças da produção relatadas neste trabalho no período pós-parto, especialmente as infecções uterinas.

O aumento dos teores das proteínas de fase aguda positivas avaliadas neste trabalho (haptoglobina, glicoproteína ácida e ceruloplasmina) ao redor da parição pode ser justificado pelo processo inflamatório desencadeado pelo trabalho de parto, no qual as citocinas pró-inflamatórias IL-1, IL-6 e TNF- α estimulam a síntese hepática dessas proteínas, verificado pelo aumento progressivo em suas concentrações séricas na semana subsequente ao parto. Em contrapartida, as proteínas de fase aguda negativas (albumina e transferrina) foram inibidas (Bertoni e Trevisi, 2013).

A haptoglobina tem sido utilizada como um importante biomarcador de inflamação para monitorar a presença das doenças da produção no período de transição (Eckersall e Bell, 2010). A principal função da haptoglobina nos processos inflamatórios é prevenir a perda de ferro, por meio da formação de complexos estáveis com a hemoglobina; ou seja, o aumento dessa proteína na circulação torna o ferro indisponível para o metabolismo bacteriano (Petersen *et al.*, 2004). Essa proteína possui meia-vida mais longa quando comparada às outras proteínas de fase aguda positivas (Eckersall e Bell, 2010; Huzzey *et al.*, 2011).

As concentrações de haptoglobina geralmente são baixas (10,0 a 15,5mg/dL) ou até mesmo indetectáveis, entretanto, apresentam pico máximo no sétimo dia da lactação (40 a 50mg/dL), seguida por uma redução da terceira à quinta semana pós-parto (10,0 a 15,0mg/dL)

(Bertoni e Trevisi, 2013). Nesta pesquisa, o pico máximo de haptoglobina foi detectado na segunda semana pós-parto (60,9mg/dL), com discreta diminuição em M3 (57,6mg/dL), entretanto os valores detectados foram maiores que aqueles apresentados pelos autores acima referidos. Os dados da presente pesquisa também foram superiores aos valores de 2,0 e 10,0mg/dL, citados nas revisões realizadas por Eckersall e Bell (2010) e Ceciliani *et al.* (2012), respectivamente, considerando animais livres de inflamação.

Nightingale *et al.* (2015) determinaram as concentrações de haptoglobina (Hp) em vacas sadias no período de transição e as classificaram conforme o valor encontrado em três grupos distintos: *low cows*, para valores séricos de Hp abaixo de 0,84mg/dL; *moderate cows*, para valores obtidos entre 0,85 e 45,8mg/dL; e *high cows*, para valores entre 45,9 e 175,7mg/dL. Considerando os limiares descritos por estes autores, as vacas desta pesquisa pertenceriam ao grupo *moderate cows* no pré-parto (M-2, M-1 e M0) e grupo *high cows* no pós-parto (M1, M2 e M3).

Ceruloplasmina sérica apresentou perfil semelhante à haptoglobina, porém foi um pouco mais tardia que esta última, apresentando valores crescentes a partir do M2. As concentrações circulantes de ceruloplasmina aumentam e decrescem mais lentamente que a haptoglobina após o início da inflamação (Bertoni e Trevisi, 2013). A principal função da ceruloplasmina é proteger os tecidos danificados contra os radicais livres gerados pelas células inflamatórias após o processo de fagocitose do antígeno e *burst* respiratório (Murata *et al.*, 2004). Os valores de ceruloplasmina obtidos no presente trabalho foram superiores aos obtidos por Saut *et al.* (2009), que encontraram valores de 115,2; 74,9 e 78,1mg/dL, respectivamente, no dia do parto e nas três primeiras semanas após o parto.

A glicoproteína ácida também apresentou comportamento semelhante ao das outras proteínas de fase aguda positivas, e, apesar de não ter apresentado diferença estatística entre os momentos, pode-se considerar o seu envolvimento no período de transição, uma vez que pode atuar sistemicamente como uma proteína imunomoduladora, além de ser carreadora de substâncias endógenas ou

exógenas (Murata *et al.*, 2004). Os valores de glicoproteína ácida obtidos foram semelhantes ao intervalo de 20,0 a 45,0mg/dL apresentado por Ceciliani *et al.* (2012).

As variações para as proteínas de fase aguda negativas foram discretas, observando-se teor mínimo para a albumina em M2, o que coincide com o pico máximo das proteínas de fase aguda positivas. Esse perfil é mais um indício da presença de processo inflamatório em M1-M2, que desencadeou a liberação das citocinas pró-inflamatórias e a inibição da síntese de albumina e transferrina (Bionaz *et al.*, 2007). Os valores medianos e o perfil temporal da albumina obtidos neste trabalho foram semelhantes aos teores de 4.070,0; 4.570,0; 4.200,0 e 3.900,00, respectivamente, para o dia do parto, primeira, segunda e terceira semanas após o parto, obtidos por Saut *et al.* (2009).

Com relação à transferrina, essa proteína é responsável pelo transporte de ferro na circulação e apresenta atividade antibacteriana e antiviral. A redução na produção da transferrina em consequência do aumento da produção de proteínas de fase aguda positivas pelo fígado diminui a disponibilidade do ferro para as bactérias que possam ter colonizado o trato reprodutivo durante o parto (Petersen *et al.*, 2004). Os valores de transferrina obtidos neste trabalho foram superiores ao valor médio de 106,9mg/dL obtido por Saut *et al.* (2009).

Outro fator também identificado nesta pesquisa foi o elevado escore de condição corporal (ECC) apresentado pelas vacas no pré-parto (M-2=4,0), reduzindo para equivalente a 3,0 no M1. A perda de peso observada do M-2 ao M1 provavelmente ocorreu devido ao aumento da demanda energética para manutenção fetal e ao início da lactação, associada à diminuição da ingestão de matéria seca e consequente balanço energético negativo, fatores esses estressantes para as vacas (Drackley *et al.*, 2005). A diminuição do ECC do pré-parto ao pós parto também foi relatada por Busato *et al.* (2002) e Mouffok *et al.* (2013).

Akbar *et al.* (2015) verificaram que vacas com ECC entre 4,5 e 5,5 duas semanas antes do parto apresentaram maiores concentrações sanguíneas de ácidos graxos não esterificados (AGNE), enquanto Tóthová *et al.* (2014) concluíram que vacas com altas concentrações de AGNE

apresentaram menores concentrações de IgG e correlação negativa entre a concentração de AGNE e de proteínas totais séricas e albumina, provavelmente causadas pela infiltração de gordura e pelo comprometimento hepático em animais com alta mobilização lipídica. A maior concentração de AGNE também influenciou positivamente nos valores de haptoglobina e amiloide sérica A. Corassin *et al.* (2011) verificaram que vacas que apresentaram ECC acima de 4,0 no momento do parto apresentaram 1,48 vez mais chances de desenvolverem cetose.

Dessa forma, considerou-se que, nas vacas Holandesas analisadas nesta pesquisa, a deposição de gordura hepática e o provável excesso de AGNE circulantes desencadeados pelo alto ECC, aliado ao estresse causado pela perda abrupta de peso do pré ao pós-parto, geraram alterações metabólicas e comprometimento da função imunológica de maneira mais intensa às já frequentemente observadas no período de transição. Essas alterações aumentariam a susceptibilidade das fêmeas bovinas às doenças, sendo a infecção uterina a mais prevalente, quando comparada às outras enfermidades relatadas.

Tais alterações, aliadas aos fenômenos fisiológicos envolvidos com o período de transição, como o trabalho de parto, refletiram no perfil sérico proteico apresentado pelas vacas no período estudado, uma vez que a comparação dos valores obtidos para as vacas estudadas nesta pesquisa, em relação aos valores obtidos pelos autores aqui discutidos, permitiu afirmar que os teores de IgG foram inferiores, enquanto os valores de haptoglobina, ceruloplasmina e transferrina foram superiores aos relatados.

Além disso, a associação entre os efeitos ambientais, sociais, nutricionais e infecciosos exercidos sobre as fêmeas bovinas no período de transição pode aumentar a expressão das citocinas pró-inflamatórias IL-1, IL-6 e TNF- α (Drakley *et al.*, 2005), estimulando os hepatócitos a sintetizar as proteínas de fase aguda positivas e inibindo as proteínas de fase aguda negativas (Bionaz *et al.*, 2007).

CONCLUSÕES

Vacas Holandesas no período de transição apresentaram elevadas concentrações séricas de haptoglobina e ceruloplasmina e diminuição nos níveis de imunoglobulina e transferrina, relacionados às modificações ocorridas nesse período e ao elevado escore de condição corporal no pré-parto, resultando em alteração metabólica e imunossupressão acentuadas e em maior susceptibilidade às infecções bacterianas a partir da primeira semana pós-parto.

REFERÊNCIAS

- AKBAR, H.; GRALA, T.M.; RIBONI, M.V. *et al.* Body condition score at calving affects systemic and hepatic transcriptome indicators of inflammation and nutrient metabolism in grazing dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.98, p.1-4, 2015.
- BELL, A. W.; BURHANS, W. S.; OVERTON, T. R. Protein nutrition in late pregnancy, maternal protein reserves and lactation performance in dairy cows. *Proc. Nutr. Soc.*, v.59, p.119-126, 2000.
- BERTONI, G.; TREVISI, E. Use of the liver activity index and other metabolic variables in the assessment of metabolic health in dairy herds. *Vet. Clin. Food Anim.*, v.29, p.413-431, 2013.
- BIONAZ, M.; TREVISI, E.; CALAMARI, L. *et al.* Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.90, p.1740-1750, 2007.
- BUSATO, A.; FAISSLE, D.; KÜPFER, U.; BLUM, J. W. Body condition scores in dairy cows: associations with metabolic and endocrine changes in healthy dairy cows. *J. Vet. Med. Ser. A*, v.49, p.455-460, 2002.
- CECILLIANI, F.; CERON, J.J; ECKERSALL, P.D, SAUERWEIN, H. Acute phase proteins in ruminants. *J. Prot.*, v.75, p.4207-4231, 2012.
- CORASSIN, C.H.; MACHADO, P.F.; COLDEBELLA, A. *et al.* Importância das desordens do periparto e seus fatores de risco sobre a produção de leite de vacas Holandesas. *Semina*, v.32, p.1101-1110, 2011.

- DRACKLEY, J.K.; DANN, H.M.; DOUGLAS, G.N. *et al.* Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. *Ital. J. Anim. Sci.*, v.4, p.323-344, 2005.
- ECKERSALL, P.D.; BELL, R. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. *Vet. J.*, v.185, p.23-27, 2010.
- EDMONSON, A.J.; LEAN, I.J.; WEAVER, L.D. *et al.* A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.72, p.68-78, 1989.
- ESPOSITO, G.; IRONS, P.C.; WEBB, E.C.; CHAPWANYA, A. Interactions between negative energy balance, metabolic diseases, uterine health and immune response in transition dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.*, v.144, p.60-71, 2014.
- GOFF, W.; JOHNSON, W.; PARISH, S. *et al.* IL-4 and IL-10 inhibition of IFN- γ - and TNF- α -dependent nitric oxide production from bovine mononuclear phagocytes exposed to *Babesia bovis* merozoites. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v.84, p.237-251, 2002.
- HAILEMARIAM, D.; MANDAL, R.; SALEEM, F. *et al.* Identification of predictive biomarkers of disease state in transition dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.97, p.2680-2693, 2014.
- HUZZEY, J.M.; NYDAM, D.V.; GRANT, R.J.; OVERTON, T.R. Associations of prepartum plasma cortisol, haptoglobin, fecal cortisol metabolites, and nonesterified fatty acids with postpartum health status in Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.94, p.5878-5899, 2011.
- INGVARTSEN, K.L.; MOYES, K. Nutrition, immune function and health of dairy cattle. *Animal*, v.7, supl. 1, p.112-122, 2013.
- KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6.ed. San Diego: Academic Press, 2008. 936 p.
- KIMURA, K.; GOFF, J. P.; KEHRLI, M. E.; HARP, J. A. Phenotype analysis of peripheral blood mononuclear cells in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.82, p.315-319, 1999.
- LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, v.227, p.680-685, 1970.
- LARSON, B. L. Biosynthesis and secretion of milk proteins: a review. *J. Dairy Res.*, v.46, p.161-174, 1979.
- MEGLIA, G.E.; JOHANNISSON, A.; AGENÄS, S. *et al.* Effects of feeding intensity during the dry period on leukocyte and lymphocyte subpopulations, neutrophil function and health in periparturient dairy cows. *Vet J.*, v.169, p.376-384, 2005.
- MOUFFOK, C. E.; MADANI, T.; SEMANA, L. *et al.* Correlation between body condition score, blood biochemical metabolites, milk yield and quality in Algerian Montbéliarde cattle. *Pakistan Vet. J.*, v.33, p.191-194, 2013.
- 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.
- NIGHTINGALE, C.R.; SELLERS, M.D.; BALLOU, M.A. Elevated plasma haptoglobin concentrations following parturition are associated with elevated leukocyte responses and decreased subsequent reproductive efficiency in multiparous Holstein dairy cows. *Vet. Immunol.*, v.5, p.16-23, 2015.
- OHTSUKA, H.; TERASAWA, S.; WATANABE, C. *et al.* Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Vet. Res.*, v.35, p.163-187, 2004.
- PETERSEN, H.H.; NIELSEN, J.P.; HEEGAARD, P.M.H. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Vet. Res.*, v.35, p.163-187, 2004.
- SAUT, J.P.E.; MIYASHIRO, S.I.; RAIMONDO, R.F.S.; BIRGEL JUNIOR, E.H. Influência do período pós-parto no proteinograma de vacas Holandesas, obtido através da técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida. *Ciênc. Anim. Bras.*, supl.1, p.244-249, 2009.
- SCHNEIDER, A.; CORRÊA, M.N.; BUTLER, W.R. Acute phase proteins in Holstein cows diagnosed with uterine infection. *Res. Vet. Sci.*, v.95, p.269-271, 2013.
- TÓTHOVÁ, C.; NAGY, O.; KOVÁČ, G. Relationship between some variables of protein profile and indicators of lipomobilization in dairy cows after calving. *Arch. Tierzucht.*, v.57, p.1-9, 2014.