

PROTEÍNAS DE FASE AGUDA NEGATIVA EM VACAS COM DOENÇAS CLÍNICAS OU SUBCLÍNICAS NO PÓS-PARTO RECENTE

JORDANI BORGES CARDOSO¹; CAMILA PIZONI²; LAURA VALADÃO VIEIRA²; VINICIUS IZQUIERDO²; ELIZA ROSSI KOMNINOU²; MARCIO NUNES CORRÊA³

¹Universidade Federal de Pelotas – jordanicardoso.12@gmail.com

²Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária- nupeec@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas– marcio.nunescorreia@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A vaca leiteira nas 3 últimas semanas de gestação passa por um período crítico chamado de período de transição, que perdurará até as 3 semanas após o parto. Nesse momento ocorrem eventos como o crescimento exponencial do feto e a transição de gestante para lactante, provocando um aumento da demanda energética, e, portanto, das exigências nutricionais. Contudo, a dieta não supre a maior necessidade de nutrientes, pois em decorrência da menor capacidade de armazenamento do rúmen há consequente queda na ingestão de matéria seca (IMS), o que leva a uma situação de déficit energético conhecida como balanço energético negativo (BEN) (NETO et al. 2011).

Uma das consequências mais marcantes do BEN, é o comprometimento da resposta imune, que aumenta a predisposição de doenças metabólicas e clínicas. É por esta razão que 75% destas enfermidades ocorrem durante este período (REIS et al. 2016; LEBLANC et al. 2006). CORASSIN et al. (2011) observou principalmente a incidência de metrite (22,6%), retenção de placenta (19%), cetose (16,9%), deslocamento de abomaso (1,9%) e hipocalcemia (1,7%), em seu estudo realizado com vacas holandesas de alta produção, durante o período de transição.

Com a manifestação de uma patologia, seja por uma infecção ou por condição que leve à dano tecidual, a primeira resposta fisiológica do organismo é a inflamação local, caracterizada por uma resposta inespecífica, inata (CECILIANI et al. 2012). O processo inflamatório envolve a ação de várias células do sistema imune, mediadores moleculares e vasos sanguíneos e os fenômenos mais evidentes de inflamação em nível sistêmico são a presença de febre, leucocitose e alteração dos níveis de proteínas de fase aguda na circulação sanguínea.

Na resposta inflamatória de fase aguda, a produção de proteínas de fase aguda (PFA) pelo fígado pode aumentar (PFApositivas) ou diminuir (PFA negativas), sendo que para bovinos a Albumina (Alb) e Paraoxonase (Pon) são consideradas as principais PFA negativas sendo amplamente estudadas como biomarcadores de enfermidades (TURK et al. 2008; SCHINIEDER et al. 2013; BURKE et al. 2010; SOUZA et al. 2008; BIONAZ et al. 2007; TREVISI et al. 2012; MONTAGNER et al. 2016; PRADEEP, 2013).

O objetivo do presente estudo foi avaliar os níveis séricos de albumina e paraoxonase em vacas leiteiras durante o pós-parto recente, acometidas ou não por enfermidades subclínicas ou clínicas.

2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado em uma propriedade leiteira no município de Rio Grande (32° 16 'S, 52 ° 32'W), de maio a julho de 2019. Todos os procedimentos com animais foram aprovados pelo comitê de ética em experimentação animal da

Universidade Federal de Pelotas, sob código 0102025-2017. Foram utilizadas 38 vacas holandesas múltiparas, recém-paridas, as quais eram mantidas em sistema de confinamento no modelo *compost barn*, ordenhadas duas vezes ao dia e alimentadas em três parcelas, com ração totalmente misturada (TMR) calculada para atender as exigências nutricionais de acordo com o NRC (2001) e água *ad libitum*.

Foi realizado semanalmente exame clínico completo nos animais até o 28º dia pós-parto, afim de monitorar a ocorrência das seguintes doenças: hipocalcemia (clínica: Ca abaixo de 5 mg / dL; subclínica: Ca entre 5 mg / dL e 8,5 mg / dL no 3º dia pós-parto), retenção de placenta (por mais de 12h de pós-parto), deslocamento de abomaso, mastite (clínica: presença de grumos, teste da "caneca de fundo escuro"; subclínica: CCS acima de 200x1000cel / mL), e metrite clínica (disgnosticada por meio do Metricheck®). Ao final do período experimental os animais foram distribuídos em três grupos: doenças clínicas (DC) (n=16), doenças subclínicas (DS) (n=10) e animais saudáveis (S) (n=12), como controle. Cada vaca poderia ainda, ter sido acometida por mais de uma doença.

Para avaliação das proteínas de fase aguda foram realizadas coletas de sangue de todos os animais por meio de punção da veia coccígea, utilizando o sistema BD Vacutainer® (BD Diagnostics, São Paulo, Brasil), nos dias 0, 1, 2, 3, 7, 10, 14, 21 e 28 após o parto. O sangue foi centrifugado a 1800 X g para obtenção do soro (frasco sem anticoagulante de 10mL) e o soro obtido foi alíquotado em 2 microtubos de 1,5 ml, para armazenamento. As amostras foram congeladas a -80 ° C para análise posterior. As proteínas de fase aguda avaliadas foram paraoxonase (PON-1) e a albumina (Alb), sendo a albumina avaliada por meio de kit (Labtest, Brasil) em um analisador automático LabMax Plenno (Labtest, Brasil) e a PON-1, analisada através de um método cinético previamente descrito por BROWNE et al. (2007).

Para a análise estatística dos dados obtidos, foi utilizado Statistical Analysis System (2009) no qual todas as variáveis foram submetidas à análise de normalidade por meio do Teste de Shapiro-Wilk ($P > 0,90$) e posteriormente submetidos a análise de comparação de médias através do teste ANOVA PROC MIXED. A diferença estatística foi considerada quando o valor de p foi inferior a 0,05.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os níveis de ALB e PON foram menores no grupo de vacas com doenças clínicas em comparação aos demais grupos ($P < 0,05$) (tabela 1). Acredita-se que isso ocorreu devido essas proteínas serem de fase aguda negativa e reduzirem seus níveis com o aparecimento de enfermidades. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por SCHINIEDER et al. (2013) e BURKE et al. (2010), que ao avaliarem os níveis séricos de PFA em vacas leiteiras com infecções uterinas como metrite, também observaram diminuição dessas proteínas no grupo doente. Durante um processo inflamatório o fígado atua dando suporte ao sistema imune (FLECK, 1989), liberando as citocinas pró-inflamatórias como Interleucina - 1 (IL-1), interleucina -6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral alfa (FNT- alfa). No entanto, essas citocinas interferem negativamente na produção de proteínas de fase aguda negativa, reduzindo os seus níveis com a ocorrência de enfermidades (REIS et al. 2016, SOUZA et al. 2008).

Tabela 1: Níveis de Albumina e Paraoxonase em vacas no pós-parto recente acometidas ou não por doenças clínicas e subclínicas.

	DC*	DS*	S*	Valor de p		
				G	D	G*D
Alb (g/dL)	2,55±0,08 ^A	3,00±0,09 ^B	2,87±0,08 ^B	0,0011	0,0658	0,8987
Pon(U/L)	82,31±2,40 ^A	94,58±3,05 ^B	99,22±2,72 ^B	<0001	0,0249	0,2793

^{A e B} Letras maiúsculas na mesma linha indicam diferença estatística entre os grupos.

*DC(Doenças Clínicas); DS (Doenças Subclínicas) e S(Saudáveis)

A redução da Alb em vacas acometidas por doenças clínicas pode ter ocorrido em consequência da degradação de aminoácidos pela via de gliconeogênese como relatado por BELL et al. (2000), favorecendo a produção de PFA positivas para o fígado. Já a diminuição de Pon é uma consequência da redução nos níveis de HDL, que diminuem devido à queda nos níveis da Apolipoproteína A, uma proteína de fase aguda negativa, que também é base para formação de HDL, desencadeando sua diminuição. (BIONAZ et al. 2007). TREVISI et al. (2012) corrobora com esses achados, afirmando que existe uma correlação negativa entre ocorrência de enfermidades e os níveis séricos das proteínas de fase aguda negativa.

No entanto o decréscimo nos níveis das proteínas de fase aguda negativas é observado apenas em doenças clínicas, corroborando com os achados do nosso estudo, no qual não foram evidenciadas diferenças entre os níveis de PFA de vacas saudáveis e com doenças subclínicas (tabela 1). Isso está de acordo com FREIGOLD et al. (1998) e BIONAZ et al. (2007) que relatam que a gravidade da doença interfere no resultado. E afirmam que a resposta das PFA é diretamente proporcional à extensão da lesão tecidual ou inflamação, sendo que em casos de ocorrência subclínica, devido a resposta inflamatória ser mais tênue, há pouca interferência sobre os níveis séricos dessas proteínas.

Deve-se ainda ressaltar o impacto da diminuição das PFA, uma vez que exercem importante função biológica no organismo. A Alb por exemplo transporta diferentes compostos como ácidos graxos, minerais, hormônios e produtos farmacêuticos, além de ser reservatório de aminoácidos para síntese de PFA positivas (RECZYNSKA et al. 2018; TOTHOVA et al. 2014). Já a Pon atua no metabolismo de lipídios, protegendo o organismo contra o desenvolvimento de estresse oxidativo (TURK et al. 2008).

4. CONCLUSÃO

Houve diminuição dos níveis séricos de albumina e paraoxonase apenas nas vacas leiteiras acometidas por doenças clínicas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BELL, A. W.; BURHANS, W. S.; OVERTON, T. R. Protein nutrition in late pregnancy, maternal protein reserves and lactation performance in dairy cows. **Proceedings of the Nutrition Society**, London, v.59, n.1, p.119-126, 2000.
- BIONAZ, M.; TREVISI, E.; CALAMARI, L.; LIBRANDI, F., FERRARI, A., BERTONI, G. Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. **Journal of dairy science**, Champaign, v.90, n.4, p.1740-1750, 2007.
- BROWNE, R.W.; KOURY, S.T.; MARION, S.; WILDING, G.; MUTI, P.; M. TREVISAN. Accuracy and biological variation of human serum paraoxonase-1 activity and polymorphism (Q192R) by Kinetic Enzyme Assay. **Clinical Chemistry**, New York, v.53, n.2, p.310–317, 2007.

- BURKE, C. R.; MEIER, S.; MCDUGALL, S.; COMPTON, C.; MITCHELL, M.; ROCHE, J. R. Relationships between endometritis and metabolic state during the transition period in pasture-grazed dairy cows. **Journal of dairy science**, Champaign, v.93, n.11, p.5363-5373, 2010.
- CECILIANI, F.; CERON, J. J.; ECKERSALL, P. D.; SAUERWEIN, H. Acute phase proteins in ruminants. **Journal of proteomics**, Hungria, v.75, n.14, p.4207-4231, 2012.
- CORASSIN, C. H.; MACHADO, P. F.; COLDEBELLA, A.; CASSOLI, L. D.; SORIANO, S. Importância das desordens do parto e seus fatores de risco sobre a produção de leite de vacas Holandesas. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.32, n.3, p.1101-1110, 2011.
- FEINGOLD, K. R.; MEMON, R. A.; MOSER, A. H.; GRUNFELD, C. Paraoxonase activity in the serum and hepatic mRNA levels decrease during the acute phase response. **Atherosclerosis**, Amsterdam, v.139, n.2, p.307-313, 1998.
- LEBLANC, S., LISSEMORE, K.; KELTON, D.; DUFFIELD, T.; LESLIE, K. Major advances in disease prevention in dairy cattle. **Journal of dairy science**, Champaign, v.89, p.267-1279, 2006.
- MONTAGNER, P.; KRAUSE, A. R. T.; SCHWEGLER, E.; WESCHENFELDER, M. M.; RABASSA, V. R.; SCHNEIDER, A.; CORRÊA, M. N. Reduction of liver function delays resumption of postpartum ovarian activity and alters the synthesis of acute phase proteins in dairy cows. **Research of Veterinary Science**, Inglaterra, v.106, n.1, p. 84-88, 2016.
- NETO, A. C.; DA SILVA, J. F. C.; DEMINICIS, B. B.; FERNANDES, A. M.; JARDIM, J. G.; AMORIM, M. M.; GUIMARÃES FILHO, C. C. Problemas metabólicos provenientes do manejo nutricional incorreto em vacas leiteiras de alta produção recém paridas. **Revista Científica eletrônica de Medicina Veterinária**, São Paulo, v. 12, n. 11, p.1-25, 2011.
- PRADEEP, M. Application of acute phase proteins as biomarkers in modern veterinary practice. *Indian Journal of Animal Research*, Haryana, v. 43, n. 1, p. 1-13, 2014.
- RECZYŃSKA, D.; ZALEWSKA, M.; CZOPOWICZ, M.; KABA, J.; ZWIERZCHOWSKI, L.; BAGNICKA, E. Acute phase protein levels as an auxiliary tool in diagnosing viral diseases in ruminants-A review. **Viruses**, Basel, v. 10, n.9, p.502, 2018.
- REIS, J. F.; MADUREIRA, K. M.; SILVA, C. P. C.; BALDACIM, V. P. A.; FAGLIARI, J. J.; GOMES, V. Serum protein profile of Holstein cows during the transition period. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 68, n.3, p.587-595, 2016.
- SCHNEIDER, A.; CORRÊA, M.N.; BUTLER, W.R. Acute phase proteins in Holstein cows diagnosed with uterine infection. **Research of Veterinary Science**, Inglaterra, v. 95, n. 1, p. 269-271, 2013.
- Souza, R. M.; Garcia, N. A. C. R.; Birgel, D. B.; Junior, E. H. B. Influência do puerpério e da fase pós-puerperal na função hepática de vacas da raça holandesa criadas no estado de São Paulo. **Ciência Animal Brasileira**, Goias, v.9, n.1, p.141-147, 2008.
- TREVISI E.; AMADORI M.; COGROSSI S.; RAZZUOLI E.; BERTONI G. Metabolic stress and inflammatory response in high-yielding, periparturient dairy cows. **Research in veterinary science**, Inglaterra v. 93, n. 2, p. 695-704, 2012.
- TURK, R.; JURETIC, D.; GEREŠ, D.; SVETINA, A.; TURK, N.; FLEGAR-MEŠTRIC, Z. Influence of oxidative stress and metabolic adaptation on PON1 activity and MDA level in transition dairy cows. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 108, v.1, p.98-106, 2008.