

Relação entre o nível sérico de gamaglobulinas e as atividades de gamaglutamiltransferase, fosfatase alcalina e aspartato aminotransferase de bezerros recém-nascidos

(Gammaglobulin, gammaglutamyl transferase, alkaline phosphatase, and aspartate aminotransferase relationship in newborn calves)

J. J. Fagliari, E.C. Oliveira, M.F. Pegorer,
L.C. Ferrante Júnior, E. Campos Filho

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP
14870-000 - Jaboticabal, SP

RESUMO

Analisaram-se 140 amostras de soro sanguíneo de bezerros da raça Holandesa, recém nascidos, com o objetivo de verificar a relação entre a concentração de gamaglobulina e as atividades das enzimas gamaglutamiltransferase, fosfatase alcalina e aspartato aminotransferase nos primeiros seis dias de vida. Não se observou correlação significativa entre os níveis de gamaglobulina e atividade de aspartato aminotransferase. A correlação positiva significativa verificada no primeiro dia de vida, entre teor de globulina e atividade da fosfatase alcalina foi de pouca intensidade, não sendo considerado um teste seguro de identificação de hipogamaglobulinemia. Observou-se correlação positiva significativa, com variações intensas, ao redor de 24 a 30 horas pós-nascimento, entre níveis de gamaglobulina e atividade da gamaglutamiltransferase, quando comparados aos valores obtidos nas primeiras seis horas pós-natal. Pode-se considerar tal enzima como teste de identificação indireta de bezerros hipogamaglobulinêmicos, por falha na transferência de imunoglobulinas colostrais.

PALAVRAS CHAVE: Gamaglobulinas, gamaglutamiltransferase, fosfatase alcalina, aspartato aminotransferase, bezerro

ABSTRACT

Seven daily serum collection were taken from 20 newborn calves with the objective of verifying the relation between gammaglobulin levels and the gammaglutamyltransferase (gama GT), alkaline phosphatase (AF) and aspartate aminotransferase (AST) activities on the first six days of age. No correlation between gammaglobulin level and the AST activity was observed. The positive significant correlation noticed on the first day of age, between the globulin level and the AF activity had low intensity, not being considered a good test for hypogammaglobulinemic identification. A positive significant correlation was observed with an intensive change about 24 to 30 hours following birth, between the gammaglobulin levels and the gama GT activity, when compared to the values noticed on the first six hours following birth. It may be considered this enzyme as an indirect identification test for hypogammaglobulinemic calves, by ineffective transference of colostral immunoglobulins.

Key words: Gammaglobulin, gammaglutamyltransferase, alkaline phosphatase, aspartate aminotransferase, calf

INTRODUÇÃO

Bezerros recém-nascidos apresentam-se hipogamaglobulinêmicos (Fagliari et al., 1986; Besser & Osborn, 1993), ou mesmo agamaglobulinêmicos (Boyd, 1989). Não é rara a persistência de baixos níveis de gamaglobulinas em bezerros recém-nascidos incorretamente manejados, chegando tal distúrbio acometer 25% dos animais (Kelly, 1991) e causando considerável índice de mortalidade nessa faixa etária, especialmente por infecções pulmonares e/ou intestinais. O fato da placenta das vacas dificultar a passagem de anticorpos da mãe ao feto torna extremamente importante a transferência de imunoglobulinas maternas ao bezerro através do colostro, nas primeiras 24 horas após o nascimento (Logan et al., 1978; Pellerin, 1982). Perino et al. (1993) consideram que ocorre falha na transferência de imunidade passiva quando o bezerro recém-nascido apresenta níveis séricos de proteínas totais abaixo de 4,20g/dl, transcorridas 48 horas após o nascimento. Após este período, Adams et al. (1993) relatam que níveis seroprotéticos de recém-nascidos de 1,70g/dl de imunoglobulinas mantiveram bom estado de saúde no primeiro mês de vida. Francisco & Quigley (1993) verificaram que o valor sérico máximo de gamaglobulinas acontece 24 horas após a ingestão de colostro.

A determinação sérica de imunoglobulinas é realizada por fracionamento eletroforético que requer equipamentos nem sempre disponíveis em laboratórios

de análises clínicas. Pivont et al. (1982) concluíram que os testes de turbidez do sulfato de zinco, da coagulação do glutaraldeído e da precipitação do sulfato de sódio não mostraram resultados satisfatórios, quando empregados no diagnóstico rápido de hipogamaglobulinemia.

A enzima gamaglutamiltransferase (gama GT) está presente em quantidade relativamente elevada no colostro de vacas e ovelhas e, juntamente com os anticorpos do colostro, é transferida no sangue do bezerro recém-nascido (Pauli, 1983; Boyd, 1989). Bostedt (1983) constatou que ruminantes recém-nascidos apresentaram elevação significativa das atividades séricas das enzimas gamaglutamiltransferase, fosfatase alcalina e aspartato aminotransferase, após ingerirem colostro. Hasim & Braun (1989) notaram que tal valor diminui após a primeira semana de vida.

Paris et al. (1982) verificaram correlação positiva significativa entre a atividade de gamaglutamiltransferase e de proteínas totais do soro sangüíneo de bezerros recém-nascidos, com maiores valores de 40 a 50 horas após a ingestão de colostro.

O objetivo principal do presente estudo foi verificar possível relação entre os níveis séricos de gamaglobulina e as atividades das enzimas gamaglutamiltransferase, fosfatase alcalina e aspartato aminotransferase, com intuito de propor provas de laboratório alternativas confiáveis, de menor custo e maior praticidade que o fracionamento eletroforético, para identificação de bezerros hipogamaglobulinêmicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Analisaram-se 140 amostras de soro sangüíneo de 20 bovinos recém nascidos de parto normal, da raça Holandesa e aparentemente sadios. Para isso, foram colhidas amostras diárias de 20,0ml de sangue de cada animal, a partir do nascimento e durante seis dias por punção da veia jugular. A primeira colheita foi realizada uma a seis horas após o nascimento e as demais a cada 24 horas. Após a coagulação sangüínea e a retração do coágulo, as amostras foram centrifugadas a 3.000rpm, durante 15 minutos, para obtenção das amostras de soro, analisadas imediatamente após a colheita.

A concentração sérica da proteína total foi determinada por espectrofotometria (método de biureto) utilizando-se kit¹ apropriado para tal. A fração gamaglobulina foi obtida por fracionamento eletroforético, conduzido em cuba horizontal com tampão veronal sódico pH 8,6, utilizando-se fitas de acetato de celulose², com separação durante 60 minutos a 220 volts. As fitas foram coradas com solução 0,5% de amido de Schwartz 108, em metanol e ácido acético glacial (9:1) durante cinco minutos, lavadas em diferenciador metanol-ácido acético glacial (9:1) e diafanizadas em duas fases: a primeira, em metanol-ácido acético-glicerol (85:24:1ml), durante 10 minutos e secagem à temperatura ambiente, e a segunda, em dioxana-isobutanol (7:3). A leitura da fita foi realizada em densitômetro com registrador de extensão e integrador automático³.

As atividades das enzimas gamaglutamiltransferase (Gama GT), fosfatase alcalina (FA) e aspartato aminotransferase (AST) foram determinadas por espectrofotometria⁴, utilizando-se os métodos de Szaz modificado, de Roy modificado e de Reitman & Frankel, respectivamente, utilizando-se kits⁵ comerciais. Todas as análises bioquímicas foram realizadas em duplicata, considerando-se a média das duas determinações como resultado do exame. Para verificação da relação entre os níveis séricos de gamaglobulina e as atividades das enzimas gama GT, FA, e AST foram calculados os coeficientes de correlação linear (Fleiss, 1973).

RESULTADO E DISCUSSÃO

Pelas Tab. 1 e 2 e Fig. 1 verifica-se que a concentração sérica de gamaglobulina, baixa nas primeiras seis horas de vida ($0,56 \pm 0,27\text{g/dl}$), elevou-se brusca e significativamente logo após a ingestão de colostro, alcançando nível máximo 24 a 30 horas após o nascimento ($2,08 \pm 0,40\text{g/dl}$). A partir daí apresentou ligeiro decréscimo, sendo a concentração sérica média de $1,70 \pm 0,30\text{g/dl}$ no sexto dia de vida, valor considerado capaz de proteger o bezerro no primeiro mês de vida, de acordo com Biswal et al. (1993). Tal comportamento também foi verificada por Fagliari et al. (1986), Boyd (1989), Kelly (1991) e Besser & Osborn (1993), que afirmaram haver perda gradual da capacidade de absorção intestinal de imunoglobulinas colostrais a partir do primeiro dia de vida. A elevação significativa desta sero-proteína nas primeiras 24 a 30 horas pós-nascimento, ou

¹ LABTEST

² BOSKAMP

³ CARLS ZEISS

⁴ CELM-E-225 D

⁵ LABTEST

seja, logo após a mamada do colostro é considerada decorrente da transferência de imunoglobulinas colostrais (Logan et al., 1978; Pellerin, 1982; Paris et al., 1992; Adams et al., 1993; Francisco & Quigley, 1993 e Perino, 1993).

Tabela 1. Valores séricos de gamaglobulina (g/dl) e atividades séricas médias de gamaglutamiltransferase - Gama GT (UI/L), de fosfatase alcalina - FA (UI) e de aspartato aminotransferase - AST (u/ml) de bezerros recém-nascidos, nos primeiros seis dias de idade.

Constituinte sérico	Idade						
	1 a 6 h	1 dia	2 dias	3 dias	4 dias	5 dias	6 dias
Gamaglobulina	0,56	2,08	1,88	1,79	1,75	1,71	1,70
s	± 0,27	± 0,40	± 0,37	± 0,32	± 0,33	± 0,31	± 0,30
Gama GT	42,25	767,50	650,40	509,90	416,20	293,00	206,40
s	± 25,89	± 294,91	± 225,17	± 172,17	± 141,75	± 104,32	± 72,68
F.A.	309,05	388,30	365,60	345,10	328,00	318,25	310,00
s	± 84,70	± 94,56	± 91,00	± 95,08	± 79,70	± 79,64	± 69,53
AST	35,80	45,65	41,20	37,85	35,50	34,10	33,90
s	± 10,69	± 15,35	± 12,66	± 10,87	± 9,40	± 8,66	± 8,57

Tabela 2. Coeficientes de correlação entre níveis de gamaglobulina e atividades séricas de gamaglutamiltransferase (gama GT), fosfatase alcalina (FA) e aspartato aminotransferase (AST) de bezerros recém-nascidos, nos primeiros seis dias de idade.

Constituinte sérico	Idade						
	1 a 6 h	1 dia	2 dias	3 dias	4 dias	5 dias	6 dias
Gama GT	0,65**	0,71**	0,65**	0,65**	0,71**	0,68**	0,64**
FA	0,36 ^{NS}	0,71**	0,62**	0,58**	0,58**	0,50 ^{NS}	0,47 ^{NS}
AST	0,40 ^{NS}	0,03 ^{NS}	0,22 ^{NS}	0,09 ^{NS}	0,15 ^{NS}	0,18 ^{NS}	0,07 ^{NS}

** significativo a 1%

^{NS} não significativo

Verificou-se que não houve correlação significativa entre a fração gamaglobulina e a atividade da enzima aspartato aminotransferase, contrariando as afirmações de Bostedt (1983), que constatou tal relação. Com respeito à atividade da enzima fosfatase alcalina, verificou-se correlação positiva significativa no primeiro dia de vida, porém com variações não tão intensas quando comparadas aos valores obtidos nas primeiras seis horas de vida (de 309,05±74,70 para 388,30±94,56 UI/L). Pauli (1983) verificou que a concentração desta enzima no colostro de ovelhas não foi suficiente para provocar seu acréscimo no soro sangüíneo do neonato, sugerindo que ela tenha origem intestinal. É possível que tal causa tenha provocado a elevação temporária da atividade da fosfatase alcalina no soro sangüíneo dos bezerros estudados.

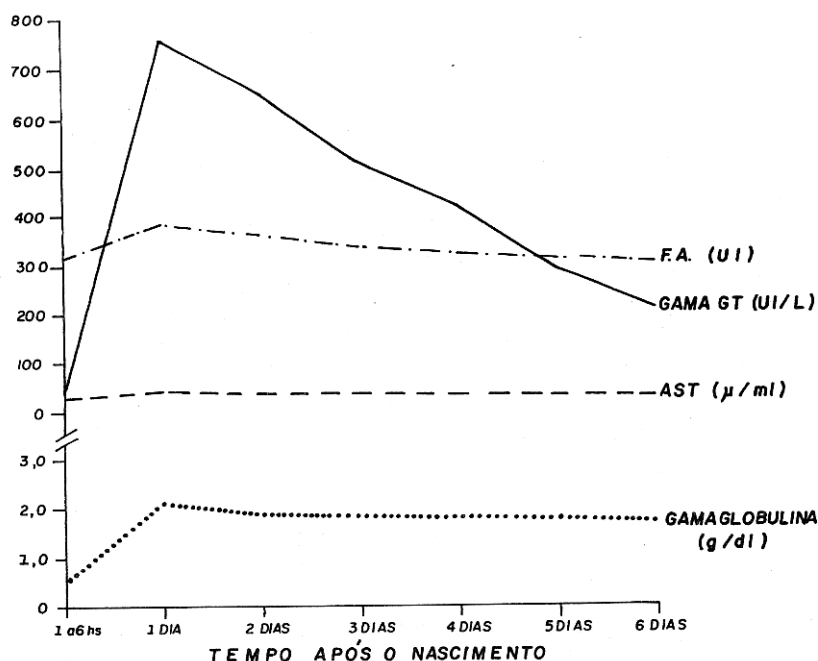


Figura 1. Concentração de gamaglobulina e atividades das enzimas gamaglutamiltransferase (gama GT), fosfatase alcalina (FA) e aspartato aminotransferase (AST) no soro sanguíneo de bezerros recém-nascidos

Foi constatada correlação positiva significativa entre os valores de gamaglobulina e a atividade da gama GT, com variações acentuadas entre os valores obtidos ao nascimento e aqueles verificados 24 a 30 horas pós-natal (de $0,56 \pm 0,27$ para $2,08 \pm 0,40$ g/dl, para as imunoglobulinas e de $42,25 \pm 25,89$ para $767,20 \pm 294,91$ UI/L, no caso da gama GT). Verificou-se que a atividade da gama GT permaneceu acima do índice normal descrito para bovino adulto, ou seja, 18,0 UI/L (Hasim & Braun, 1989), com valores de $650,40 \pm 225,17$ UI/L, no segundo dia de vida, decrescendo para $206,40 \pm 72,68$ no sexto dia. No entanto, a partir do segundo dia pós-nascimento já não existiu correlação positiva significativa com a gamaglobulina, talvez pelo fato da absorção intestinal desta enzima ser menos efetiva que a da imunoglobulina, como citou Boyd (1989), ou mesmo por ter um *clearance* sanguíneo mais rápido. É possível que, mesmo não havendo correlação positiva significativa entre gama GT e gamaglobulina, a partir do segundo dia de vida, exista a possibilidade de identificação de bezerros

hipogamaglobulinêmicos, utilizando-se tal prova de laboratório durante a primeira semana de vida, uma vez que no presente estudo foram constatados valores médios que superaram a 200,0 UI/L, considerado por Paris et al. (1992) como indicativo de nível de imunoglobulina protetor.

CONCLUSÕES

Pode-se considerar a determinação da atividade sérica de gama GT como um exame de laboratório alternativo na identificação indireta de bezerros gamaglobulinêmicos, por falha na transferência de imunoglobulinas colostrais; em vista da elevada atividade sérica da gama GT nos primeiros dias de vida dos bezerros, o valor deste exame como prova de função hepática fica limitado, pelo menos, aos seis primeiros dias de vida, em bezerros que consumiram adequada quantidade de colostro nas primeiras horas pós-nascimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R. et al. Physiologic differences between twin and single born beef calves in the first two days of life. *Cornell Vet.*, v.83, p13-29, 1993.
- BESSER, T.W. & OSBORN, D. Effect of bovine serum albumin on passive transfer of immunoglobulin to newborn calves. *Vet. Immunol. Immunopath.*, v.37, n.2/4, p.321-327, 1993.
- BISWAL, S.P. et al. Estimation of total serum protein and immunoglobulin level in neonatal calves. *Indian Vet. J.*, v.70, p.7-9, 1993.
- BOSTEDT, H. Comparison of the developing enzyme profile in the blood calves and lambs in the neonatal adaptation period. *Berl. Munch Tier. Woch.*, v.96, p.431-432, 1983.
- BOYD, J.W. Serum enzyme changes in newborn calves fed colostrum. *Vet. Clin. Path.*, v.18, p.47-51, 1989.
- FAGLIARI, J.J.; LUCAS, A.; FERREIRA NETO, J.M.; OLIVEIRA, J.A. Quadro seroprotéico de bezerros submetidos a três sistemas de imunização contra paratifo. *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, v.38, p.665-683, 1986.
- FRANCISCO, S.F.A. & QUIGLEY, J.D. Serum immunoglobulin concentrations after feeding maternal colostrum or maternal colostrum plus colostrum supplement to dairy calves. *Am. J. Vet. Res.*, v.54, p.1051-1054, 1993.

- FLEISS, J.L.: *Statistical methods for rates and proportions*. New York, John Wiley, 1973. 223p.
- HASIN, M. & BRAUN, J.P. Importance diagnostique de la gamma glutamyltransferase chez les ruminants. *Pont. Vet.*, v.21, p.169-174, 1989.
- KELLY, J.C. Serum immunoglobulin concentrations in genetically different types of suckling beef calves in a tropical environment. *Aus. Vet. J.*, v.68, p.261-263, 1991.
- LOGAN, E.F. et al. Absorption of colostral immunoglobulins by the neonatal calf. *Brit. Vet. J.*, v.134, p.258-262, 1978.
- PARIS, T.N.N. et al. Intérêt de la gamma-glutamyl transférase sérique et la protidémie totale pour le contrôle de la prise colostrale chez les veaux nouveau-nés. *Rec. Med. Vet.*, v.168, p.43-47, 1992.
- PAULI, J.V. Colostral transfer of gammaglutamyltransferase in lambs. *New Z. Vet. J.*, v.31, p.150-151, 1983.
- PELLERIN, J.L. L'immunité néonatale des bovins. *Rév. Méd. Vét.*, v.133, p.521-537, 1982.
- PERINO, L.J. et al. Serum gamma-glutamyltransferase activity and protein concentration at birth and after suckling in calves with adequate and inadequate passive transfer of immunoglobulin. *Am. J. Vet. Res.* v.54, p.56-59, 1993.
- PIVONT, P. et al. Rapid diagnostic tests for hypogammaglobulinaemia in the newborn calf: comparison and developments. *Ann. Med. Vet.*, v.126, p.621-628, 1982.