

**Proteína Total, Fracionamento Eletroforético e Fibrinogênio do Sangue de
Caprinos Confinados e em Pastoreio Semi-Extensivo***

**(Total Protein, Electrophoresis and Blood Fibrinogen of Goats Under
Confinement and Semi-Extensive Condition)**

Maria Adriana Machado¹

Joaquim Martins Ferreira Neto²

RESUMO

Neste experimento, comparou-se o quadro protéico sanguíneo de dois grupos de caprinos submetidos a confinamento e pastoreio semi-extensivo. Não se constatou diferença estatisticamente significativa nos níveis de proteína total plasmática e fibrinogênio entre os grupos. O perfil eletroforético mostrou sete frações: albumina, alfa-1, alfa-2, alfa-3, beta-1, beta-2 e gama globulina. Os animais confinados mostraram níveis de albumina, alfa-1-globulina e beta-1-globulina significativamente mais baixos e valores mais elevados para a fração gama das globulinas.

SUMMARY

The protein blood picture of two groups of goats under confinement and semi-extensive condition was compared in this work. The difference between total plasma protein and blood fibrinogen levels in the groups was not statistically significant. The electrophoresis showed seven fractions: albumin, alpha-1, alpha-2, alpha-3, beta-1, beta-2 and gama-globulin. The confined animals had significantly lower levels of albumin, alpha-1-globulin and beta-1-globulin and higher values for the globulin-gamma fraction.

INTRODUÇÃO

O Brasil possui 7.120.000 caprinos (ANUÁRIO ESTATÍSTICO, 1976) cuja criação é a principal atividade econômica das zonas semi-áridas do nordeste brasileiro. Mesmo assim, a sua criação é exercida sem maior adequação tecnológica, principalmente pela escassez de dados de pesquisa, sobretudo na literatura especializada brasileira.

Mundialmente, o sistema mais comum de criação de caprinos é o de pastoreio extensivo. Por outro lado, o sistema de criação em confinamento, mostra uma taxa de mortalidade mais alta atribuída ao parasitismo gastrointestinal e doenças respiratórias. Ainda com relação ao sistema de confinamento, SYME et alii (1974) registram um aumento no nível de agressão entre caprinos

★ Recebido para publicação em 11 de agosto de 1980.

1 Professora da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP - Campus de Botucatu.

2 Professor da Escola de Veterinária da U.F.M.G. - Belo Horizonte, bolsista do CNPq.

confinados e um menor consumo de alimentos.

Neste trabalho objetivou-se estudar e comparar a influência de dois sistemas de manejo (confinamento e pastoreio semi-extensivo) sobre o quadro protéico sanguíneo de animais da espécie caprina, já que inúmeras condições podem acarretar variações qualitativas e quantitativas desses elementos, procurando assim contribuir com mais alguns dados semiológicos para o estudo dessa espécie.

Os valores normais para proteína total e fracionamento eletroforético das proteínas séricas na espécie caprina foram determinados por diversos autores: BOGUTH (1953), SZUMOWSKI & THERET (1965), BIRGEL (1967) e GARZÓN et alii (1976). Os valores encontrados variam, de modo geral, entre 5.0 e 7.0 g/dl para proteína total, 40 e 50% para albumina, 14 a 18% para alfa-globulinas e 20 a 30% para gama-globulinas.

O estudo de GORCZYCA et alii (1960) mostrou que caprinos mais velhos tiveram valores estatisticamente mais altos para proteína total, beta-2 e gama-globulina com marcada diminuição de albumina.

FALASCHINI et alii (1954) não observaram diferenças significativas no quadro protéico de caprinos, submetidos a diferentes dietas alimentares. BIRGEL (1969) encontrou valores mais elevados para proteína total, globulinas e gama-globulinas em cabras das raças Anglo-Nubiana e Toggenbourg que receberam somente forragens, em relação aos animais que foram suplementados com ração concentrada.

Os estudos de eletroforese sobre papel conduzidos por GORCZYCA et alii (1960), evidenciaram quatro a cinco frações globulínicas e atribuíram as variações observadas nos vários componentes protéicos à mistura de raças dos animais estudados.

Uma revisão sobre as proteínas séricas dos animais domésticos, realizada por VESSELINOVITCH (1959), mostra que diferentes espécies não apresentam o mesmo padrão soro-protéico sob condições patológicas similares e que os bovinos e caprinos apresentam alterações restritas às frações albumina e gama-globulina.

Os valores normais de fibrinogênio plasmático foram determinados por diversos autores com variações de 1.1 a 0,362 (FRENCH, 1936 e BIRGEL, 1967).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 14 caprinos do sexo masculino, sem raça definida, de quatro a seis meses de idade, considerados clinicamente sadios.

Primeira etapa: Os animais foram divididos ao acaso em dois grupos de sete animais (Grupos I e II). Os animais do grupo I foram mantidos em regime de pastoreio semi-extensivo e os do grupo II confinados em uma mesma baía, assim permanecendo por 20 semanas.

Segunda etapa: Procedeu-se à inversão dos tratamentos. Assim os animais do grupo I passaram a ser submetidos a regime de confinamento em uma mesma baía e os do grupo II para o regime de pastoreio semi-extensivo. Os novos grupos eram constituídos de quatro animais cada um. Esta etapa teve duração de oito semanas.

A alimentação diária em ambas as etapas foi a mesma para os dois grupos e se constituiu de capim "ad libitum", 400 g de ração concentrada, contendo 15% de proteínas e mistura mineral à

vontade.★

As colheitas de sangue, em ambas as etapas, eram feitas a cada 15 dias, com os animais em jejum prévio de 12 horas. Na primeira etapa, foram efetuadas dez colheitas de sangue, e na segunda etapa, quatro colheitas.

As amostras de sangue foram obtidas através de punção da veia jugular. Para as dosagens de proteína total e fibrinogênio utilizou-se 0,1 ml de EDTA a 10% para 5 ml de sangue e para o fracionamento eletroforético utilizou-se soro obtido por centrifugação do sangue colhido em tubos de ensaio.

As análises laboratoriais foram realizadas pelos seguintes métodos:

a) Proteína total plasmática - foi determinada por refratometria★★, como recomendam SCHALM et alii (1975);

b) fracionamento eletroforético - foi conduzido em cuba horizontal★★★, usando-se como suporte para a separação fitas de acetato de celulose★★★★, como recomendam BRIERE & MULL (1964). A corrida durou 60 minutos, com 180 volts e em tampão veronal sódico, pH 8.6, com força iônica de 0,045.

A técnica utilizada foi a de Van ZYL (1966), modificada conforme os passos descritos a seguir: as fitas foram coradas com solução a 0,5% de amido Schwart em metanol-ácido acético (9:1) durante cinco minutos; lavadas em diferenciador metanol-ácido acético glacial (9:1); diafanizadas em duas fases: a primeira fase em metanol-ácido acético-glicerol (85:24:1 ml), durante 10 minutos, secagem em estufa com temperatura aproximada de 58°C, e a segunda fase em dioxana-isobutanol (7:3). A dosagem das frações protéicas foi realizada em densitômetro★★★★★ com registrador de extensão e integrador automático. A nomenclatura utilizada para as frações protéicas obtidas foi a sugerida por BOGUTH (1953).

c) Fibrinogênio - foi dosada pelo método proposto por KANEKO & SMITH (1967).

Análise Estatística - Na primeira etapa, os dois tratamentos (Grupos I e II), com sete animais em cada um, foram estudados em dez colheitas diferentes (quinzenais) perfazendo um total de vinte médias, comparadas após a análise de variância, em esquema inteiramente casualizado, através de teste t de Student, a 5%, optando-se pelo cálculo da diferença mínima significativa.

Na segunda etapa, ambos os grupos com quatro animais em cada um, foram estudados em quatro colheitas (quinzenais) totalizando oito médias que seguiram o mesmo esquema de análise descrito para a primeira etapa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

a) Proteína total plasmática

Não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias de ambos os grupos em nenhuma das 14 colheitas do experimento (primeira e segunda etapa), mas a média geral do Grupo I foi sempre ligeiramente mais alta que a do Grupo II em ambas as etapas, provavelmente por ter ti-

★ Sal mineral da CAMIG (Cia. Agrícola de Minas Gerais).

★★ Refratômetro Atago.

★★★ Sistema de Eletroforese Boskamp.

★★★★ Boskamp GmbH.

★★★★★ Densitômetro Carl Zeiss.

do a possibilidade de selecionar melhor o alimento, procurando ingerir forragem mais tenra, o que não acontecia com os confinados.

Os valores obtidos para proteína total plasmática foram mais baixos que os citados por GARZÓN et alii (1976), mas se assemelham aos valores médios obtidos por GORCZYCA et alii (1960) e BIRGEL (1967).

b) *Albumina*

As médias encontradas para albumina durante todo o experimento, foram mais baixas que as encontradas por BOGUTH (1953), GORCZYCA et alii (1960), SZUMOWSKI & THERET (1965), GARZÓN et alii (1976) mas semelhantes aos achados por BIRGEL (1967).

Na primeira etapa do experimento, as médias de albumina foram mais altas para o Grupo I, mas somente na quinta colheita a diferença foi estatisticamente significativa. Esse aumento provavelmente tenha ocorrido pelo aumento da proteína total, que apresentou nessa ocasião um dos valores mais altos de todo o experimento (TAB. I).

Na segunda etapa do experimento, o Grupo I (agora confinado) manteve suas médias mais elevadas que o Grupo II, que apresentou uma certa tendência a aumentar suas médias nas duas últimas colheitas.

Após um longo período de confinamento, os animais do Grupo II apresentaram certa dificuldade para se adaptar ao novo sistema de pastoreio semi-extensivo, mostrando inabilidade de seleção dos alimentos ingeridos, que foi sendo superada gradativamente. Essa dificuldade de seleção dos alimentos refletiu sobre os níveis de albumina, que se apresentaram inferiores, significativamente nas duas primeiras colheitas da segunda etapa, em relação às médias dos animais do Grupo I (TAB. II).

c) *Alfa-globulinas*

As frações alfa dos animais do Grupo I separaram-se em três frações, denominadas Alfa-1, Alfa-2 e Alfa-3, de acordo com o critério utilizado por BOGUTH (1953), SZUMOWSKI & THERET (1965) e GARZÓN et alii (1976), apresentando-se em níveis semelhantes aos encontrados por esses autores.

Os animais do Grupo II nem sempre apresentaram as três frações alfa, mas quando o fizeram, suas médias foram semelhantes às do Grupo I (em ambas as etapas).

A incidência das sub-frações alfa foi citada por GARZÓN et alii (1976) nos seus estudos de eletroforese de soro de caprinos sobre acetato de celulose, que encontrou uma frequência menor que 100% para as três frações. Esses dados explicam o não aparecimento da fração alfa-1 nas terceira, quinta, sexta e nona colheitas do Grupo II e da fração alfa-3 na terceira colheita desse mesmo grupo na primeira etapa (TAB. I).

O Grupo I apresentou médias de alfa-1 mais elevadas significativamente nas segunda e terceira colheitas da primeira etapa do experimento (TAB. I).

Para as demais frações da zona alfa, em ambas as etapas, não houve diferença significativa a registrar.

Segundo SCHALM et alii (1975), na zona alfa das globulinas, encontram-se várias frações protéicas, como: alfa-1-lipoproteínas, alfa-1-glicoproteínas, transcortina, tiroxina-ligada-globulina, Gc-globulinas, haptoglobina, ceruplasmina e colinesterase. As funções deste grupo heterogêneo

Valores médios de proteína total plasmática (P.T. - g/dl), do fracionamento eletroforético (g/dl), do fibrinogênio (g/dl) e relação A/G do sangue de caprinos por grupo e coleta. Primeira etapa

[illegible]

★ Diferença mínima significativa ($P < 0,05$) para comparar quaisquer duas médias dos grupos acima.

Valores médios de proteína total plasmática (P.T. - g/dl), do fracionamento eletroforético (g/dl), do fibrinogênio (g/dl) e relação A/G do sangue de caprinos por grupo e colheita. Segunda etapa

[illegible]

★ Diferença mínima significativa ($P < 0,05$) para comparar quaisquer duas médias dos grupos acima.

de substâncias não são conhecidas em todos os casos. Elas podem apresentar variações em estados fisiológicos e patológicos, ficando, pois, difícil interpretar alterações destas frações sem exames complementares mais sofisticados, como por exemplo a imunoeletroforese.

d) *Beta-globulina*

As frações beta dividiram-se em beta-1 e beta-2, de acordo com o mesmo critério citado para a denominação das frações alfa.

Os resultados obtidos são semelhantes aos de FALASCHINI et alii (1954) e CONTRERAS (1967) e estão acima dos de BOGUTH (1953), GORCZYCA et alii (1960), GARZÓN et alii (1976).

As médias do Grupo I foram ligeiramente mais altas que as do Grupo II, para ambas as frações. Foram estatisticamente diferentes apenas as médias de beta-1 nas colheitas de números quatro, oito e nove da primeira etapa, sendo as do Grupo I mais elevadas.

Após a inversão dos tratamentos, as médias do Grupo I (agora confinado) continuaram apresentando-se ligeiramente mais altas, sendo as diferenças, entretanto, destituídas de significação estatística.

Essa variação das frações da zona beta pode ser atribuída, em parte, às diferenças raciais dos animais utilizados, como foi observado por GORCZYCA et alii (1960) e BIRGEL (1969).

De acordo com SCHALM et alii (1975), na zona beta das globulinas migram beta-lipoproteínas, transferrina, hemopexina, plasminogênio e algumas imunoglobulinas e, em algumas espécies domésticas, há predomínio de beta-lipoproteínas sobre alfa-lipoproteínas. Durante todo o experimento, os 14 caprinos utilizados apresentaram sempre níveis mais elevados para as frações beta em relação às frações alfa das globulinas.

e) *Gama-globulinas*

Durante todo o experimento, os perfis eletroforéticos nunca mostraram divisões desta fração. Os resultados obtidos foram ligeiramente mais altos que os de FALASCHINI et alii (1954), SZUMOWSKI & THERET (1965), BIRGEL (1967), e GARZÓN et alii (1976) e finalmente, foram marcadamente mais elevados que os resultados obtidos por BOGUTH (1953) e GORCZYCA et alii (1960).

No início da primeira etapa do experimento, as médias do Grupo I eram mais elevadas que as do Grupo II, sendo diferentes estatisticamente apenas as médias da segunda colheita (TAB. I). A partir da quinta colheita, as médias de gama-globulina passaram a ser mais elevadas no Grupo II, permanecendo assim até a décima colheita, não sendo no entanto, estatisticamente significativa.

Na segunda etapa, o Grupo I que passou a ser confinado, apresentou uma tendência a aumentar seus níveis de gama-globulina, apresentando médias sempre mais elevadas que as do Grupo II, não sendo a diferença, porém, estatisticamente significativa.

Na zona gama das globulinas migram todas as imunoglobulinas que têm função anticorpo. Essa fração pode sofrer alterações absolutas e relativas, isto é, pode ocorrer um aumento devido a maior produção de anticorpos (aumento absoluto) ou por diminuição das demais frações (aumento relativo), segundo VESSELINOVITCH (1959), e SCHALM (1975). Assim, os valores mais elevados dos níveis de gama-globulina para os animais confinados podem ser explicados tanto por menores taxas de albumina e outras globulinas, como também por maior produção de anticorpos.

f) *Relação Albumina-Globulina (A/G)*

A relação A/G foi sempre menor que a unidade e está de acordo com os achados de SZUMOWSKI & THERET (1965) e BIRGEL (1967). Os demais autores citados na TAB. II encontraram valores mais elevados.

Em ambas as etapas do experimento, as médias do Grupo I foram mais altas que as do Grupo II, já que este apresentou níveis de gama-globulinas mais elevados.

g) *Fibrinogênio*

O fibrinogênio não apresentou diferenças estatisticamente significantes em nenhuma das etapas do experimento.

As médias do Grupo II foram mais elevadas em quase todas as colheitas, mas sem significação estatística.

Os resultados obtidos foram ligeiramente mais baixos que os valores citados por BIRGEL (1967) e foram bastante inferiores aos obtidos por FRENCH (1936).

CONCLUSÕES

Dentro das condições do presente trabalho, e tendo em vista a análise dos resultados, pode-se concluir que:

1. Não houve diferença estatisticamente significativa nos níveis de proteína total plasmática entre caprinos confinados e em pastoreio semi-extensivo. Entretanto, os níveis de albumina foram mais altos nos animais soltos.
2. A fração alfa-1 das globulinas apresentou médias mais elevadas nos caprinos soltos e as demais não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos. Por outro lado, o perfil eletroforético mostrou que as frações globulinas beta apresentaram valores sempre mais altos que as frações alfa. Os animais soltos mostraram valores mais elevados, com significação estatística para a fração beta-1 em algumas colheitas.
3. A relação A/G foi sempre menor que a unidade, sendo ligeiramente mais alta no Grupo I.
4. O fibrinogênio não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL, Rio de Janeiro, v. 37, 1976. 816p.
- BIRGEL, E.H. *Contribuição à hematologia de caprinos (Capra hircus), criados no Estado de São Paulo*. São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária da USP, 1967. 137p. (Tese, Mestrado).
- BIRGEL, E.H. Influência de fatores raciais e alimentares sobre o quadro proteico do sangue de caprinos. *Rev. Fac. Med. Vet. USP.*, São Paulo, 8(1):283-97, 1969.
- BOGUTH, W. *Papieroelektrophoretische serumuntersuchungen bei haussaigetieren*. I. Mitteilung. *Zentralbl. Veterinaermed.*, Hamburg, 1(2):168-87, 1953.
- BRIERE, R.O. & MULL, J.D. Electrophoresis of serum protein with cellulose acetate. A method

- for quantitation. *Am. J. Clin. Pathol.*, Philadelphia, 42(5):547-51, 1964.
- FALASCHINI, A.; BIONDO, G.; LEONTI, F. Sulle modificazioni della protidemia nei caprini in rapporto al età ed al regime alimentare. *Atti Soc. Ital. Sci. Vet.*, Pisa, 8:388-91, 1954.
- FRENCH, M.H. The serum proteins changes during the imunization of goats against rinderpest virus. *J. Comp. Pathol. Ther.*, New York, 49(3):246-50, 1936.
- GARZON GARRIDO ESPIGA, R.; ZARAGOZA, B. I.; VALLEJO, V. M.; RODERO, F. A. Polimorfismo bioquímico de la raza caprina granadina. *Arch. Zootec.*, Madrid, 25(98):147-70, 1976.
- GORCZYCA, L.R.; McCARTY, R.T.; LAZARONI Jr., J.A. Further studies of goats serum protein by paper electrophoresis. *Am. J. Vet. Res.*, Schaumburg, 21(84):851-5, 1960.
- KANEKO, J.J. & SMITH, R. The estimation of plasma fibrinogen and its clinical significance in the dog. *Calif. Vet.*, Moraga, 21(2):9-11, 1967.
- SCHALM, O.W.; JAIN, N.C.; CARROL, E.J. *Veterinary hematology*. 3.ed. Philadelphia, Lea & FEBIGER, 1975. 807p.
- SYME, G.J.; SYME, L.A.; JEFFERSON, T.P. A note on variations in the level of aggression within a herd of goats. *Anim. Prod.*, Edinburg, 18(3):309-12, 1974.
- SZUMOWSKI, P. & THERET, M. Electrophoretic study of the blood serum of sheep, goats and three presumed hibrids of the two species. *Recl. Med. Vet. Ec. Alfort.*, Paris, 41(2):101-4, 1965.
- VAN ZYL, L.C. Electrophoresis of bovine plasma proteins on cellulose acetate: the technique as adapted to standard equipment of use with filter paper strips. *J. S. Afr. Vet. Med. Ass.*, Pretoria, 37(4):46-4, 1966.
- VESELINOVITCH, S.D. The analysis of serum proteins of domestic animals by filter-paper electrophoresis. *Cornell Vet.*, Ithaca, 49(1):82-96, 1959.