

PROTEINOGRAMA SÉRICO DE GANSOS DA CHINA (*ANSER CYGNOIDES*, LINNAEUS, 1758, ANSERIFORMES :*ANATIDAE*) SADIOS DE SETE DIAS DE IDADE CRIADOS EM CATIVEIRO, OBTIDOS PELA TÉCNICA DE ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA (SDS-PAGE)

SANTANA, A.M.^{1*}; CAMPIONI, J.M.²; SCHMIDT, E.M.S.²; SILVA, P.C.¹; PAULILO, A.C.²; FAGLIARI, J.J.¹

RESUMO

O ganso da china (*Anser cygnoides*), pertencente à família Anatidae, é uma ave cuja produção comercial voltada ao consumo de carne e industrialização de penas está extensivamente distribuída no mundo. O seu alto potencial zootécnico vem levando ao aumento da criação, causando concentração de aves em algumas áreas, podendo ocorrer disseminação de doenças infecciosas, já que, em alguns países como o Brasil, ainda são criados soltos em fazendas, em contato com outras aves, de corte e poedeiras. Desta forma, torna-se necessário a busca de conhecimentos que auxiliem o entendimento dos vários processos patológicos nesta espécie. O objetivo do estudo foi obter informações sobre o proteinograma sérico de gansos saudáveis de sete dias de idade criados em cativeiro, de modo a auxiliar na detecção de doenças inflamatórias/infecciosas nessa espécie animal. Foram utilizados onze gansos da China de sete dias de idade, alojados em galpão de alvenaria convencionalmente utilizados em ensaios com frangos de corte, onde receberam água e ração à base de milho e farelo de soja à vontade. As aves foram submetidas à contenção física para colheita de sangue, por punção da veia ulnar. Os soros obtidos foram colocados em tubos eppendorf e armazenados a -20°C até o momento das análises. Foram determinadas as concentrações séricas de proteínas totais pelo método do biureto. O proteinograma foi realizado pela técnica de eletroforese utilizando gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE). Os dados foram expressos na forma de média e desvio padrão, valores mínimos e máximos. As concentrações séricas de proteínas totais variaram de 3,44 a 5,21 g/dL, com média de 4,09 g/dL. A técnica SDS-PAGE permitiu o fracionamento de 28 proteínas, cujos pesos moleculares variaram de 21.000 a 216.000 dáltons, sendo possível identificar, entre elas, as proteínas de fase aguda ceruloplasmina, transferrina, hemopexina, albumina, haptoglobina e glicoproteína ácida, bem como as imunoglobulinas IgA, IgG de cadeia pesada e IgG de cadeia leve. Assim, os resultados obtidos neste estudo podem ser utilizados como base para a interpretação de alterações no proteinograma sérico desta espécie animal.

INTRODUÇÃO

O ganso da China (*Anser cygnoides*), originário da Ásia Oriental, é uma das raças de gansos mais encontradas no Brasil. Pertence a Ordem Anseriforme,

¹ Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV, UNESP, Campus de Jaboticabal; Via Prof. Paulo D. Castellane, s/n, 14884-900, Jaboticabal, SP; E.mail: fagliari@fcav.unesp.br

² Departamento de Patologia Veterinária, FCAV, UNESP, Campus de Jaboticabal;

Família Anatidae que inclui, também, cisnes, patos e marrecos. São animais herbívoros, que se alimentam de milho e ração, podendo até ingerir frutas e legumes. São bastante rústicos e precoces, exigem muito pouco em termos de investimento, instalações e manejo; quando bem alimentados, seu peso pode chegar a quatro quilogramas em dez semanas. Em razão do alto potencial zootécnico é uma ave cuja produção comercial voltada ao consumo de carne e industrialização de penas está extensivamente distribuída no mundo e vem aumentando em vários países (BUCKLAND & GUY, 2002).

O aumento da criação de gansos tem ocasionado concentração destas aves em algumas áreas, tornando-se uma preocupação em relação a disseminação de doenças infecciosas, já que, em alguns países como o Brasil, além da criação tecnicada e confinada, os gansos ainda são criados soltos em fazendas, em contato com outras aves. Sabe-se, por exemplo, que os gansos da China são resistentes à doença clínica, entretanto, susceptíveis à infecção natural ao vírus da doença de Newcastle (REIS & NÓBREGA, 1956), podendo servir como fonte de infecção para espécies altamente susceptíveis à doença como frangos de corte e poedeiras. Desta forma, torna-se necessário a busca de conhecimentos que auxiliem o entendimento dos vários processos patológicos nesta espécie para que se estabeleça uma criação racional desse animal.

As avaliações dos teores de proteína totais e de suas frações propiciam subsídios para adequada interpretação do estado de hidratação, bem como de inflamação, infecção, doença imunomediada e alteração na síntese protéica. O estudo da cinética das proteínas de fase aguda e das imunoglobulinas pode ser útil para o entendimento da fisiopatogenia dos mais variados processos inflamatórios/infecciosos, contribuindo para o diagnóstico precoce e controle das enfermidades, bem como para definir o prognóstico. Assim, o conhecimento de valores de normalidade torna-se essencial, servindo de base para interpretação de disfunções orgânicas.

Neste contexto, o emprego da técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) é de grande valia, já que se trata de uma técnica relativamente simples e de baixo custo, possibilitando a visualização de concentrações séricas extremamente baixas e a identificação de várias proteínas (GORDON, 1995), inclusive proteínas de fase aguda da resposta inflamatória e imunoglobulinas. Esta técnica vem sendo aplicada com sucesso em medicina veterinária, como já relatado em estudos com pneumonia de bezerras induzida pela inoculação intrabronquial de *Manheimia (Pasteurella) haemolytica* (FAGLIARI, 2003) e no abdômen agudo em equinos (FAGLIARI & SILVA, 2002).

Sabendo-se que a avaliação dos teores de proteína total e de suas frações representa uma ferramenta de grande utilidade no estabelecimento de diagnóstico e prognóstico, o objetivo do estudo foi obter informações sobre o proteinograma sérico de gansos saudáveis de sete dias de idade criados em cativeiro, de modo a auxiliar na detecção de alterações protéicas em enfermidades nessa espécie animal.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados onze gansos da China de sete dias de idade pertencentes ao aviário experimental do Departamento de Patologia Veterinária da FCAV–UNESP-Campus de Jaboticabal. As aves foram alojadas em galpões de alvenaria convencionalmente utilizados em ensaios com frangos de corte, onde receberam água e ração à vontade. As rações à base de milho e farelo de soja seguiram as recomendações de exigências nutricionais do NRC (National Research Council) (1994). Do primeiro ao sétimo dia de vida, as aves foram alojadas em bateria, com aquecimento realizado com auxílio de campânulas providas de lâmpada incandescente. No sétimo dia, as aves foram submetidas à contenção física para colheita de sangue, por punção da veia ulnar. Os soros obtidos foram acondicionados em tubos eppendorf e armazenados a -20°C até o momento das análises. Foram avaliadas as concentrações séricas de proteína total pelo método do biureto, utilizando-se kit comercial (Labtest Diagnóstica). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Labquest, Labtest) semi-automático. Para o fracionamento eletrobrético das proteínas em SDS-PAGE, utilizou-se a técnica proposta por WEBER & OSBORN (1969). Os pesos moleculares e as concentrações das frações protéicas foram determinados mediante densitometria. Para a identificação das proteínas foram utilizados marcadores com pesos moleculares de 20 kilodáltons (kD), 24 kD, 29 kD, 45 kD, 55 kD, 66 kD, 97 kD, 116 kD e 200 kD. Para a avaliação densitométrica das bandas protéicas foram confeccionadas curvas de referência a partir da leitura do marcador padrão, bem como as proteínas purificadas ceruloplasmina, haptoglobina, α_1 -antitripsina, transferrina e IgG (Sigma). Os dados foram expressos na forma de média e desvio padrão, valores mínimos e máximos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As concentrações séricas de proteína total (g/dL) e das frações protéicas dos onze gansos da China (*Anser cygnoides*) sadios de sete dias de idade são apresentadas na Tabela 1.

O teor sérico médio de proteína total foi de 4,09 g/dL. Segundo SCHMIDT (2007), as concentrações plasmáticas das proteínas totais em aves são menores do que nos mamíferos, variando de 2,5 a 4,5 g/dL, sendo que os principais fatores que influenciam tais valores em aves são idade, sazonalidade, manejo e doenças (LUMEIJ, 1997).

A técnica SDS-PAGE permitiu o fracionamento de 28 proteínas, cujos pesos moleculares (PM) variaram de 21.000 a 216.000 dáltons (Da). Dentre elas, destacam-se as proteínas de fase aguda ceruloplasmina (117.000 Da), transferrina (88.000 Da), hemopexina (80.000 Da), albumina (65.000 Da), haptoglobina (44.000 Da) e glicoproteína ácida (40.000 Da), bem como as imunoglobulinas IgA (216.000 Da), IgG de cadeia pesada (59.000 Da) e IgG de cadeia leve (26.000 Da) e a proteína não identificada nominalmente de 25.000 Da (Tab. 1).

Os estágios iniciais de uma reação inflamatória, desencadeada por um processo infeccioso, como exemplo, incluem várias alterações denominadas respostas de fase aguda, sendo uma de suas características a ambigüidade comportamental de dois grupos de proteínas plasmáticas de origem hepática. As proteínas de fase aguda positivas, como a ceruloplasmina, hemopexina,

haptoglobina e glicoproteína ácida, elevam-se no soro sanguíneo em muitos processos inflamatórios e infecciosos agudos. Neste trabalho, estas quatro proteínas foram identificadas e suas concentrações foram 42,8, 212, 31,0 e 16,8 mg/dL, respectivamente. Diferente das proteínas de fase aguda positivas, as concentrações séricas das proteínas de fase aguda negativas, como transferrina e albumina, geralmente diminuem em processos inflamatórios/infecciosos agudos. Neste estudo, os teores destas proteínas foram 461 e 2.042 mg/dL, respectivamente.

A IgA é uma imunoglobulina que atua no epitélio intestinal reduzindo a colonização bacteriana e, conseqüentemente, a ocorrência de infecção. Neste estudo, a concentração sérica média da imunoglobulina foi 27,4 mg/dL.

Uma boa proteção contra agentes infecciosos muitas vezes requer tanto imunidade mediada por células T quanto imunidade humoral. Assim, em várias infecções com repercussão sistêmica a resposta imune humoral é caracterizada por alto título de IgG, sendo esta imunoglobulina de fundamental importância na eliminação de microorganismos extracelulares por meio de opsonização e posterior fagocitose. Neste trabalho, foram detectadas concentrações séricas de IgG de cadeia pesada e de IgG de cadeia leve de 199 e 30,4 mg/dL, respectivamente.

Concluindo, em razão de os onze animais serem mantidos no mesmo espaço físico e submetidos ao mesmo sistema de manejo, inclusive nutricional, é possível que os resultados ora apresentados possam ser utilizados como base na interpretação do proteinograma sérico de gansos da China e, conseqüentemente, auxiliar no diagnóstico e prognóstico de doenças inflamatórias, nutricionais e imunomediadas que acometem essa espécie animal.

Tabela 1. Média, desvio padrão (DP) e valores mínimos e máximos das concentrações séricas de proteína total (g/dL) e das frações protéicas (mg/dL) de onze gansos da China (*Anser cygnoides*) sadios de sete dias de idade criados em cativeiro.

Proteínas	Peso molecular (Dáltons)	Média	DP	Valores mínimos	Valores máximos
Proteína total		4,09	0,53	3,44	5,21
IgA	216.000	27,4	6,47	18,4	39,9
Ceruloplasmina	117.000	42,8	7,64	33,7	55,5
Transferrina	88.000	461	96,3	314	687
Hemopexina	80.000	212	39,1	159	289
Albumina	65.000	2.042	262	1.709	2.564
IgG, cadeia pesada	59.000	199	34,1	145	255
Haptoglobina	44.000	31,0	8,29	13,7	47,7

Glicoproteína ácida	40.000	16,8	4,00	9,49	25,4
IgG, cadeia leve	26.000	30,4	6,79	19,5	40,7
NI* de 25 kD	24.000	453	52,1	369	541

*NI: proteína não identificada nominalmente.

REFERÊNCIAS

BUCKLAND, R.; GUY, G. Goose Production, F.A.O. **Animal Production Health Paper**, 154. F.A.O., United Nations, 2002.

FAGLIARI, J.J.; WEISS, D.J.; McCLENANHAN, D.; EVANSON, O.A. Serum protein concentration in calves with experimentally induced pneumonic pasteurellosis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.55, n.2, p.581-586, 2003.

FAGLIARI, J.J.; SILVA, S.L. Hemograma e proteinograma plasmático de eqüinos hípidos e de eqüinos acometidos por abdômem agudo, antes e após laparotomia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.54, n.6, p.559-567, 2002.

FAGLIARI, J.J.; McCLENAHAN, D.; EVANSON, O.A.; WEISS, D.J. Changes in plasma protein concentrations in ponies with experimentally induced alimentary

laminitis. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v.59, p.1234-1237, 1997.

GORDON, A.H. **Electrophoresis of proteins in polyacrylamide and starch gels**. New York: Elsevier, 1995. 213p.

LUMEIJ, J. T. Avian Clinical biochemistry. In: KANEKO, J.J; HARVEY, J.W.; BRUSS,M.L.**Clinical biochemistry of domestic Animals**. 5thed. San Diego: Academic Press, p.857-883,1997.

REIS, J.; NÓBREGA, P. **Tratado de doenças das aves**. 2. ed. São Paulo: Edições Melhoramento, 1956. 123p.-RELATÓRIO ANUAL UBA 2003-2004.

SCHMIDT, E. M. S.; LOCATELLI -DITRICH, R.; SANTIN, E.; PAULILLO , A.C. Patologia clínica em aves de produção – Uma ferramenta para monitorar a sanidade avícola – revisão. **Archives of Veterinary Science**. v.12, n.3, p.9-20, 2007.

WEBER, K.; OSBORN, M. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. **Journal of Biology Chemical**, v. 214, p. 4406-4412, 1969.