



## Avaliação do Perfil Eletroforético das Proteínas Séricas em Matrizes Pesadas (*Gallus Gallus Domesticus*) da Linhagem Avian Farm

*Serum Protein Electrophoresis Evaluation in Adult Broiler Breeders (*Gallus Gallus Domesticus*) of the Avian Farm Strain*

### ■ Autor(es) / Author(s)

Hasegawa MY<sup>1</sup>  
Fontequê JH<sup>2</sup>  
Kohayagawa A<sup>3</sup>  
Boretti LP<sup>3</sup>

1- Pós-graduanda do Depto. de Clínica Médica-  
FMVZ/ USP, São Paulo

2-Pós-graduando do Depto. de Clínica  
Veterinária - FMVZ/Unesp, Botucatu

3-Docente do Depto. de Clínica Veterinária -  
FMVZ/UNESP, Botucatu

### ■ Correspondência / Mail Address

Márcia Yumiko Hasegawa

VCM - FMVZ/USP  
Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87  
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"  
05508-000 - São Paulo - São Paulo - Brasil

E-mail: myhasegawa@uol.com.br

### ■ Unitermos / Keywords

eletroforese, proteína, matrizes pesadas, galinha  
broiler breeders, electrophoresis, hen, protein

### ■ Observações / Notes

Apoio financeiro: Fundação de Amparo à  
Pesquisa do Estado de São Paulo.

### RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi determinar o perfil eletroforético das proteínas séricas em matrizes pesadas (*Gallus Gallus Domesticus*) sadias, da linhagem Avian Farm. Foram utilizadas 15 matrizes com 63 semanas de idade, provenientes do município de Conchas, São Paulo. Utilizou-se o método de biureto para a obtenção dos valores da proteína sérica total e a separação das frações protéicas pela técnica da eletroforese em gel de agarose, e a leitura do filme realizada por densitometria em 520nm. Obteve-se um total de sete frações, sendo que a  $\beta_1$  - globulina e  $\beta_2$  - globulina encontradas não foram citadas pelos autores consultados na literatura. A fração pré-albumina foi identificada em apenas seis das 15 amostras examinadas. Observou-se em cinco matrizes a divisão da  $\gamma$  - globulina em duas frações, denominadas  $\gamma - 1$  e  $\gamma - 2$ , de acordo com suas mobilidades eletroforéticas. A relação albumina/globulina (A/G) encontrada corrobora com os autores citados, demonstrando que esta diminui com o aumento da idade.

### ABSTRACT

*This work is aimed to determine the profile of electrophoretic serum protein in healthy adult broiler breeders (*Gallus gallus domesticus*) of the Avian farm strain. Fifteen breeders aging 63 weeks from Conchas, city located in the State of São Paulo, were assessed. The biuret method was used to obtain the total serum protein values and protein fractions separation through electrophoresis technique in agarose gel, and film reading through densitometry in 520nm. Seven fractions were obtained, whereas,  $\beta_1$  - globulin and  $\beta_2$  - globulin were not cited by the authors in the textbooks checked. The prealbumin fraction was identified only in six out of 15 samples analyzed. In five breeders, it was observed the division of  $\gamma$  - globulin into two fractions named  $\gamma - 1$  and  $\gamma - 2$ , according to the electrophoretic mobilities. The relation albumin/globulin (A/G) found in the experiment agrees with the other authors cited, demonstrating that it decreases as the age increases.*



## INTRODUÇÃO

Com o crescimento da atividade avícola, ocorreu grande desenvolvimento dos métodos de diagnóstico e de profilaxia das doenças aviárias. No entanto, aspectos básicos relacionados à fisiologia e às avaliações clínico-laboratoriais das aves ficaram relegadas.

Na área de patologia aviária, ocorrem muitas vezes dificuldades de se estabelecer um diagnóstico rápido e de baixo custo aos produtores. O perfil eletroforético das proteínas séricas não fornece informações específicas, mas é útil no diagnóstico quando seus valores são analisados e associados ao quadro clínico, sendo importantes para o diagnóstico, o prognóstico e o curso de algumas enfermidades (Kaneko, 1997).

Existe um grande número de métodos empregados na separação eletroforética das proteínas séricas, os quais diferem basicamente no tipo do meio de suporte usado. O acetato de celulose ainda é utilizado, entretanto, seu uso vem sendo suplantado pelo gel de agarose, como o meio de escolha dos laboratórios clínicos (Kaneko, 1997).

A concentração da proteína sérica total (ou plasmática) nas aves é menor quando comparada a dos mamíferos, variando entre 3,0 e 6,0 g/dL (Campbell & Dein, 1984). Normalmente, resultados abaixo de 3,0 g/dL significam hipoalbuminemia, porque a albumina é a maior fração protéica individual do plasma. A hipoproteinemia pode ocorrer na doença renal crônica ou hepática, má nutrição e absorção ou perda sanguínea crônica. Os valores menores que 2,5 g/dL indicam prognóstico grave, e na hipoproteinemia severa raramente as aves sobrevivem. Os valores acima de 6,0 g/dL ocorrem nos quadros de desidratação ou devido ao aumento nas globulinas totais e a hiperglobulinemia pode estar associada a doenças, tais como: tuberculose, aspergilose, clamidiose, septicemias bacterianas ou infecção bacteriana crônica (Campbell & Coles, 1986).

Segundo Lumeij (1987), ocorre uma variação marcada entre as espécies. Nas aves fêmeas, a concentração de proteínas totais aumenta antes da ovipostura, podendo ser atribuída à indução por estrógeno, elevando as frações globulínicas. Spano *et al.* (1988) descrevem a diferença nos níveis da proteína total sérica quando foi usado o padrão bovino e aviário, obtendo taxas menores neste último padrão.

Nas aves sadias, a albumina é a maior fração protéica e nas inflamações agudas ou crônicas ocorre uma diminuição na sua concentração. A relação

albumina/globulina (A/G) tem maior significado clínico mesmo que a concentração da proteína total se encontre dentro dos parâmetros normais de referência, pois essa relação pode estar diminuída (Lumeij, 1997).

A pré-albumina é uma proteína produzida no fígado que tem a função de transportar a tiroxina (T4 e T3) e a vitamina A. A sua baixa concentração pode sugerir a diminuição na síntese ou maior eliminação renal devido à síndrome nefrótica (Jain, 1993). Em humanos, a diminuição dessa fração é observada nos processos inflamatórios agudos de etiologia diversa, principalmente associados à insuficiência funcional das células hepáticas. Dessa maneira, a pré-albumina é um indicador de maior utilidade que a albumina (Naoum, 1990).

A albumina é sintetizada no fígado e catabolizada por vários tecidos, onde sua síntese é influenciada pela nutrição, balanço hormonal, estado geral do fígado, estresse e concentração extravascular. Suas funções estão relacionadas com o transporte de substâncias e com a regulação e manutenção da pressão coloidosmótica sanguínea (Jain, 1993).

A alfa-globulina ( $\alpha$ -globulina) inclui as glicoproteínas, haptoglobulina, ceruloplasmina, e  $\alpha_2$ -macroglobulina. A transcortina ( $\alpha$ -globulina) é a proteína de transporte primária de corticosterona no plasma das galinhas; conseqüentemente, ela aumenta nas infecções. As beta-globulinas ( $\beta$ -globulinas) normalmente estão elevadas quando há um aumento nas  $\beta$ -lipoproteínas em doenças crônicas. Nas gama-globulinas ( $\gamma$ -globulinas) incluem-se os anticorpos circulantes que aumentam nas inflamações crônicas (Campbell & Coles, 1986).

Muitos estudos têm sido realizados com relação à determinação das proteínas séricas e seu valor no diagnóstico e prognóstico das doenças na avicultura. Porém, não existem valores de referência para as matrizes pesadas da espécie *Gallus Gallus* da linhagem Avian Farm, o que nos levou à motivação para a referida pesquisa, utilizando-se a técnica do perfil eletroforético das proteínas séricas.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o perfil eletroforético das proteínas séricas das matrizes pesadas (*Gallus Gallus Domesticus*) sadias da linhagem Avian Farm.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 15 matrizes pesadas, de um lote total de 9.000 aves da espécie *Gallus Gallus*, da linhagem Avian Farm, com 63 semanas de idade, provenientes do município de Conchas, São Paulo. A produção total desse lote é de 150 ovos/ave alojada e a média semanal de eclodibilidade é de 82%, sendo o padrão da linhagem



de 168 ovos/ave, e de 79% de eclodibilidade.

As amostras foram obtidas mediante a punção cardíaca com seringas plásticas e transferidas 5,0 mL de sangue de cada amostra para tubos de vidro, sem anticoagulante. Após a colheita, as amostras foram centrifugadas para a obtenção dos soros para a realização da técnica de eletroforese.

A proteína sérica total foi determinada por meio do método colorimétrico pela reação do biureto utilizando kit comercial (CELM, São Paulo, Brasil) com leitura 540 nM em espectrofotômetro (SB-210, CELM, São Paulo, Brasil).

A separação das frações protéicas séricas foi realizada segundo a técnica de eletroforese em gel de agarose, de acordo com o kit comercial (CELMGEL – CELM), utilizando-se tampão veronal/EDTA 0,05M em pH 8,6, corante Negro de Amido a 0,2%, ácido acético a 5% e a leitura do filme realizada por densitometria em 520nm (Densitômetro digital modelo DS35 – CELM) (Canavessi, 1997). O tempo de permanência na cuba foi modificado para 40 minutos, com a finalidade de melhorar a visualização e a separação das frações protéicas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontram-se representados na Tabela 1 e na Figura 1.

A proteína sérica total foi determinada pelo método de biureto, obtendo-se uma média de 4,2 g/dL, que está dentro dos valores encontrados por Campbell & Dein (1984).

O fracionamento eletroforético das proteínas séricas permitiu-nos observar seis frações distintas: pré-albumina, albumina,  $\alpha$  - globulina,  $\beta_1$  - globulina,  $\beta_2$  - globulina e  $\gamma$  - globulina. Entretanto, a pré-albumina estava presente somente em seis das 15 amostras examinadas, com uma média de 0,3%, porém, não existe uma explicação para a sua ausência.

A média absoluta da proteína sérica total e suas frações: albumina,  $\alpha$  - globulina,  $\beta_1$  - globulina,  $\beta_2$  - globulina,  $\gamma$  - globulina em g/dL foram de 4,2; 1,5; 0,4; 0,4; 0,3 e 1,5, respectivamente. Na determinação da relação A/G, obteve-se o valor de 0,59. Esses valores concordam com aqueles obtidos por Samadieh *et al.* (1969) para galinhas de 155 dias de idade, utilizando a técnica de eletroforese em papel, porém as frações protéicas  $\beta_1$  - globulina e  $\beta_2$  - globulina não foram citados por esse e outros autores na literatura consultada. As frações denominadas  $\gamma$  - 1 e  $\gamma$  - 2 no experimento não foram

relatadas anteriormente por esses autores.

A relação A/G diminuiu com a idade, indicando que o trabalho está de acordo com as literaturas estudadas.

Os dados da proteína sérica total, albumina, globulina e a relação A/G encontrados por Ross *et al.* (1978) em linhagens comerciais de diferentes idades foram próximas às médias dos valores encontrados neste trabalho, porém os autores não citam os métodos utilizados.

A transcortina não foi evidenciada neste experimento, mas acredita-se que maiores estudos deverão ser direcionados a essa fração protéica de transporte primário de corticosterona (Campbell & Coles, 1986), uma vez que as aves são susceptíveis ao estresse.

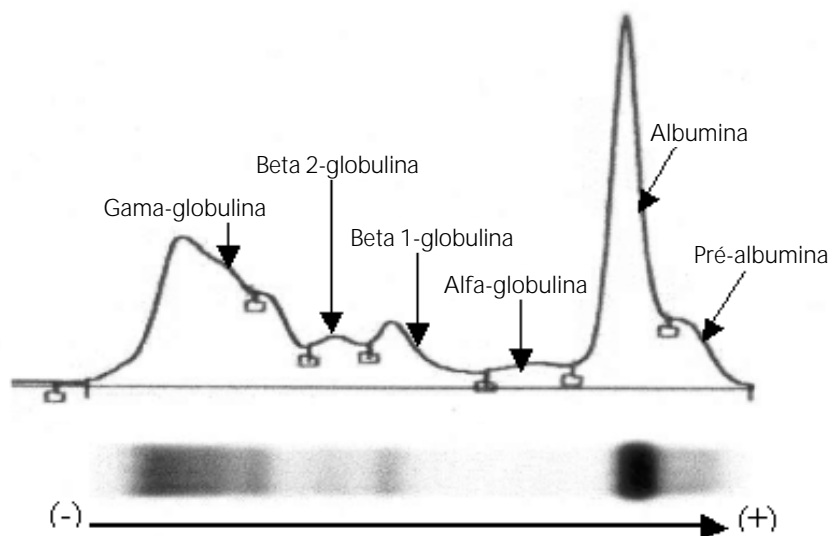
## CONCLUSÕES

Neste experimento, foi possível a identificação de sete frações, sendo: pré-albumina, albumina,  $\alpha$  - globulina,  $\beta_1$  - globulina,  $\beta_2$  - globulina,  $\gamma_1$  - globulina e  $\gamma_2$  - globulina. A pré-albumina foi identificada em apenas seis das 15 amostras processadas. Observou-se em cinco matrizes a divisão da  $\gamma$  - globulina em duas frações, denominadas  $\gamma$  - 1 e  $\gamma$  - 2, de acordo com as suas mobilidades eletroforéticas.



**Tabela 1** – Média ( $\bar{x}$ ), desvio padrão (s), limites superior (L.S.) e inferior (L.I.) dos valores relativos (%) e absolutos (g/dL) do perfil eletroforético das proteínas séricas e relação albumina/globulina (A/G) em matrizes pesadas da linhagem Avian Farm.

Variáveis	Proteínas													
	Proteína Sérica		Albumina		GLOBULINAS									
	Total g/dL	%	g/dL	Alfa-globulina		Beta 1 - globulina		Beta 2 - globulina		Gama-globulina		A/G		
			%	g/dL	%	g/dL	%	g/dL	%	g/dL	%	g/dL	%	g/dL
$\bar{x}$	4,2	36,5	1,5	9,5	0,4	10,8	0,5	7,6	0,3	35,3	1,5	0,58	0,59	
s	0,81	3,63	0,36	1,93	0,12	1,32	0,1	1,45	0,07	3,08	0,32	0,09	0,09	
L.S.	5,3	41,8	2,1	12,4	0,6	13,2	0,6	9,4	0,4	40,1	2,1	0,76	0,7	
L.I.	1,7	29,5	0,9	6,2	0,1	9,3	0,3	4,4	0,2	29,3	0,8	0,42	0,43	



**Figura 1** - Perfil eletroforético das proteínas séricas: pré-albumina, albumina, alfa-globulina, beta 1-globulina, beta 2-globulina e gama-globulina em matriz pesada (*Gallus Gallus*) da linhagem Avian farm.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Campbell TW, Coles EH. Avian clinical pathology. In: Coles EH. Veterinary Clinical Pathology. 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders, 1986. 279-301p.

Campbell TW, Dein FJ. Avian hematology. The basics. Veterinary Clinics of North American: Small Animal Practice 1984; 14 (2): 223-48.

Canavessi AMO. Valores do perfil eletroforético das proteínas séricas de bovinos da raça Nelore (*Bos indicus*) criados na região de Botucatu, São Paulo: Influência dos fatores etários e sexuais. [Dissertação]. Botucatu (SP): Universidade Estadual Paulista; 1997.

Jain NC. Essentials of veterinary hematology. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.

Kaneko JJ. Serum proteins and the dysproteinemias. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 5<sup>th</sup> ed. San Diego: Academic Press; 1997. p.117-38.

Lumeij JT. The diagnostic value of plasma proteins and non-protein nitrogen substances in birds. Veterinary Quarterly 1987; 9(3): 262-8.

Lumeij JT. Avian clinical biochemistry. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 5<sup>th</sup> ed. San Diego: Academic Press, 1997. p.857-83.

Naoum PC. Eletroforese – técnicas e diagnósticos. São Paulo: Santos; 1990.

Ross JG, Christie G, Halliday WG, Morley Jones R. Haematological and chemistry "comparison values" for clinical pathology in poultry. Veterinary Record 1978; 102(2): 29-31.

Samadieh B, Bankowski RA, Carrol EJ. Electrophoretic analysis of serum proteins of chickens experimentally infected with marek's diseases agent. American Journal of Veterinary Research 1969; 30(5): 837-46.

Spano JS, Whitesides JF, Pedersoli WM, Krista LM, Ravis WM. Comparative albumin determinations in ducks, chickens, and turkeys by electrophoretic and dye-bindings methods. American Journal of Veterinary Research 1988; 49(3): 325-6.

