



Correlação entre variáveis sanguíneas do perfil proteico e β -hidroxibutirato de borregas¹

Correlation between blood variables of the protein profile and β -hydroxybutyrate ewe lambs¹

Vanessa Veronese Ortunho^{*2}, Wilmar Sachetin Marçal³, Gabriela Souza Peres Carvalho⁴, Maria Eduardade Souza Carli⁵, Mariane Beline⁶

¹ Este trabalho faz parte da tese da primeira autora.

² Funec- Santa Fé do Sul- SP, Doutora em Ciência Animal e docente de Anatomia e Fisiologia Animal na *vanessaverort@yahoo.com.br

³ Professor doutor da UEL, Departamento de Clínica Veterinária, wilmar@uel.br

⁴ Unesp – Campus de Ilha Solteira - gspczootecnista@gmail.com

⁵ FZEA-USP - carlimariaeduarda@gmail.com

⁶ Unesp – Campus de Ilha Solteira - marianebeline@gmail.com

Resumo: Este trabalho pesquisou a correlação existente entre os metabólitos do perfil proteico com o β -hidroxibutirato. Foram utilizadas 30 fêmeas ovinas da raça Suffolk, as quais foram separadas aleatoriamente em dois grupos de 15 fêmeas: um grupo recebeu sal mineral comercial contendo componentes inorgânicos e o outro grupo recebeu sal mineral comercial contendo alguns minerais orgânicos na forma de carboaminofosfoquelato. O sistema adotado foi o confinamento e o sal mineral foi fornecido *ad libitum*. As colheitas de sangue foram mensais, com início um mês antes do início da estação de monta, que iniciou quando as fêmeas estavam com aproximadamente 8 meses de idade e terminou com 10 dias após o parto. Houve correlação positiva entre os valores séricos de albumina e creatinina, albumina e proteína total, ureia e creatinina e entre β -hidroxibutirato e ureia.

Palavras-chave: Sangue; Minerais; Ovelhas.

Abstract: The objective of this study was research the correlations between the proteic profile and β -hydroxybutyrate. The objects of the study were 30 Suffolk ewes randomly distributed in two groups of 15 females. A control group received inorganic commercial mineral salt and the challenge group received commercial mineral salt containing some organic minerals in the carboaminofosfoquelate form. Mineral salt consumption started when the females were approximately 4 months old. The adopted system was confinement and feeding consisted of commercial ration (23.04% PB), sugar cane, water and mineral salt, supplied *ad libitum*. Reproduction started when the females were approximately 8 months old. All animals had blood collected monthly, who started in reproduction and finished 10 days after parturition. The correlations studied showed different behaviors according to the parameters analyzed.

Key words: Blood; Minerals; Sheep.

Autor para correspondência. E. Mail: *vanessaverort@yahoo.com.br

Recebido em 20.12.2015. Aceito em 12.6.2016

<http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20160021>

Introdução

A importância das análises sanguíneas como meio semiológico, auxiliando os veterinários a estabelecerem diagnósticos, firmarem prognósticos e acompanharem os tratamentos das inúmeras enfermidades que atingem os animais domésticos é reconhecida e consagrada mundialmente (VIANA et al., 2002).

Entretanto, para que estes objetivos possam ser alcançados utilizados na plenitude, tornou-se fundamental a realização de mais pesquisas, principalmente aquelas que analisam os animais criados nas condições brasileiras.

Sabendo da importância da dosagem de albumina, β -hidroxibutirato (BHB), proteína total, creatinina e ureia na prevenção e diagnóstico de doenças metabólicas, realizou-se este estudo que dosou estes metabólitos em ovelhas suplementadas com minerais orgânicos e inorgânicos e realizou-se o estudo de correlação entre estes parâmetros, que é importante para visualizar se a variação de uma variável acompanha proporcional ou inversamente a variação de uma outra (SAMPAIO, 1998).

Apenas três pesquisas que analisam a correlação de parâmetros sanguíneos foram encontradas na literatura, e não há trabalho disponível que analisou a correlação de parâmetros sanguíneos de animais que receberam diferentes suplementações minerais.

Ramin, Asri e Majdani (2005), realizaram a correlação entre BHB, glicose e ureia em ovelhas não prenhe e encontraram correlação positiva entre os valores plasmáticos de BHB e ureia, correlação negativa entre os valores séricos de glicose e ureia enquanto não foi encontrada correlação entre os valores plasmáticos de BHB e glicose.

Mc Manus (2009), pesquisou a correlação entre fatores fisiológicos e as variáveis do hemograma de ovelhas Santa Inês e encontrou correlação positiva entre frequência cardíaca e respiratória, correlação positiva também foi encontrada entre temperatura da pele e hora do dia e também foi positiva a correlação entre a concentração de hemoglobina e a espessura da pele do animal.

Eshratkiah (2010), realizou a correlação entre as variáveis do perfil lipídico e encontrou correlação positiva entre os valores séricos de colesterol HDL e triglicérides, correlação positiva também foi encontrada entre os valores séricos de colesterol total e triglicérides, porém correlação negativa foi encontrada entre o colesterol LDL e os valores séricos de triglicérides. Este trabalho teve como objetivo investigar a correlação existente entre BHB, albumina plasmática, proteína total, ureia e creatinina, incluindo a correlação entre os parâmetros de animais prenhes e não prenhes e dos que receberam mineral orgânico e inorgânico.

Material e Métodos

O experimento foi realizado numa propriedade rural localizada no município de Prado Ferreira, 23°02'22'' de latitude Sul, 51°26'32'' de longitude Oeste e 651m de altitude, norte do Paraná, Brasil (IPARDES, 2007). Foram utilizadas 30 fêmeas ovinas da raça Suffolk, as quais foram separadas aleatoriamente em dois grupos de 15 fêmeas:

um grupo recebeu sal mineral comercial inorgânico e o outro grupo recebeu sal mineral comercial contendo alguns minerais orgânicos, na forma de carboamino fosfoquelato. Para que não houvesse mistura entre os lotes, colocou-se colar de diferentes cores nos 2 grupos. Optou-se por trabalhar com sal mineral comercial, Tabela 1, para que pudesse ser simulado o que realmente ocorre no campo.

Tabela 1 – Fórmula do sal mineral orgânico e inorgânico que foi fornecido ao grupo experimental e controle, em níveis de garantia por kg do produto.

Elemento	Formulação Mineral Orgânica	Formulação Mineral Inorgânica
Cálcio	120g	140g
Fósforo	87g	60g
Sódio	147g	136g
Enxofre	*18g	5g
Cobre	*590mg	150mg
Cobalto	*40mg	90mg
Cromo	*20mg	-
Ferro	*1.800mg	-
Iodo	80mg	180mg
Manganês	*1.300mg	400mg
Selênio	*15mg	13mg
Zinco	*3.800mg	3.000mg
Molibdênio	300mg	-
Flúor (máx.)	870mg	600mg
Magnésio	-	6g
Cloro	-	216g
Lisina	-	200 mg
Metionina (máx.)	-	40 mg
Tirosina	-	82 mg
Solubilidade do Fósforo em Acido Cítrico a 2% (mín)	95%	95%

* minerais orgânicos
 Fonte:Dados obtidos para a pesquisa

As fêmeas iniciaram o consumo dos sais aos 4 meses de idade, ao desmame, com pesos iniciais de 20,26 ± 4,54 kg para

as fêmeas que receberam sal mineral orgânico e 21,9 ± 4,9 kg para as fêmeas que receberam sal mineral inorgânico. O

sistema adotado foi o confinamento e a alimentação consistiu de ração comercial (23,04% Proteína Bruta), cana de açúcar picada, que era oferecida todos os dias; água e sal mineral; fornecidos à vontade nos cochos.

Em março de 2008 quando os animais estavam com aproximadamente 8 meses e pesos médios iguais a $35,33 \pm 4,46$ kg e $37,2 \pm 6,45$ kg para os grupos orgânico e inorgânico, respectivamente, foram colocados em estação de monta, a qual teve duração de 3 meses, e para que não houvesse interferência do macho, houve rodízio mensal na cobertura.

Após 2 meses de seu término, foi realizado o exame de ultrassonografia para verificação da quantidade de ovelhas

prenhes no rebanho, as quais não foram separadas do lote inicial para que não fosse introduzida outra variável.

As colheitas de sangue foram realizadas conforme Tabela 2 e foram realizadas após jejum *over-night* e através de venopunção da jugular utilizando o sistema a vácuo com agulhas BD Vacutainer® descartáveis 22G X 1”, adaptador para tubos de colheita e tubos de 10 ml sem anticoagulante. O transporte dos tubos até o laboratório de patologia clínica do Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina foi realizado em estantes verticais, sendo que o conjunto estante- tubos foi colocado numa inclinação de aproximadamente 45° para facilitar a separação do soro.

Tabela 2 – Calendário de colheita de sangue das fêmeas secas e que emprenharam durante o experimento.

Colheitas	Fêmeas gestantes	Fêmeas Secas
1	1 mês antes da estação de monta (fev.2008)	1 mês antes da estação de monta (fev. 2008)
2	Início estação de monta (março 2008)	dia do início da estação de monta (março 2008)
3	1º mês de gestação	abr/08
4	2º mês de gestação	mai/08
5	3º mês de gestação	jun/08
6	4º mês de gestação	jul/08
7	5º mês de gestação	ago/08
8	10 dias do pós-parto	set/08

Fonte: Dados da pesquisa.

No laboratório as amostras foram centrifugadas por 10 minutos para obtenção do soro, o qual foi colocado em tubos de *ependorf* e congelados a -10°C para posteriores análises. A concentração do β -hidroxibutirato foi obtida por espectrofotometria utilizando kit de metodologia enzimática cinética da marca Randox.

A concentração da albumina plasmática e proteína total foram obtidas por espectrofotometria utilizando metodologia colorimétrica, a concentração de ureia plasmática foi realizada utilizando metodologia enzimática-colorimétrica e a dosagem de creatinina por metodologia cinética-colorimétrica, todos da marca Gold Analisa.

Para facilitar a análise dos dados, os grupos foram denominados de T para tipo de sal consumindo e P para presença ou não de prenhes, no experimento ficando as seguintes combinações:

- T0P0 fêmeas que receberam sal inorgânico e que não ficaram prenhes,
- T0P1 fêmeas que receberam sal inorgânico e que engravidaram,
- T1P0 fêmeas que receberam sal orgânico e que não ficaram prenhes e
- T1P1 fêmeas que receberam sal orgânico e que engravidaram.

Os dados obtidos foram avaliados através do programa SAEG (Ufv, 2007). A realização do experimento foi aprovada pelo CEEA/UEL sob número de protocolo 22/07.

Resultados e Discussão

A taxa de prenhez não foi diferente significativamente ($X^2 > 0,05$) para os grupos que receberam suplementação mineral inorgânica (6) e orgânica (2). Acredita-se que esta taxa pode ter sido influenciada pelo baixo peso das fêmeas no início da estação de monta e por serem nulíparas. Os dados médios apresentados na Tabela 3 se referem aos valores observados de albumina plasmática, de proteína total, de ureia, de creatinina e de BHB. Percebeu-se que as médias encontradas estão dentro dos valores de referência de acordo com Kaneko (1997) e que somente houve diferença no BHB quando foi analisada a diferença entre fêmeas gestantes e secas. Esta pesquisa concorda com Harmeyer & Schlumbohm (2006) e com Duehlmeier et al. (2011) que estudaram as alterações metabólicas de ovelhas secas, prenhes e lactantes, encontraram diferenças estatísticas entre os períodos estudados, sendo que os maiores valores de β -hidroxibutirato foram encontrados durante o final da gestação e lactação, quando compararam com o período seco e início da gestação.

Tabela 3 – Valores séricos médios observados de albumina plasmática (g/dl), proteína total (g/dl), creatinina (mg/dl), ureia (mg/dl) e BHB (mmol/l) em função do tipo de sal, prenhez e dias de colheita em fêmeas ovinas Sufflok.

Fontes de variação	Albumina plasmática (g/dl)	Proteína Total (g/dl)	Creatinina (g/dl)	Ureia (mg/dl)	BHB (mmol/l)
<i>Tipo de sal (T)</i>					
Inorgânico (0)	2,61	5,9	1,06	33,58	0,27
Orgânico (1)	2,67	5,88	1,08	34,68	0,27
<i>Prenhes (P)</i>					
Ausente (0)	2,59	5,92	1,07	34,17	0,26 b
Presente (1)	2,7	5,86	1,07	34,1	0,28 a
Médias Gerais	2,65	5,9	1,07	34,13	0,27

Médias seguidas de letras diferentes diferem entre si significativamente pelo Teste de Tukey a 5%.

Fonte: Dados da pesquisa.

A presença ou ausência de fêmeas gestantes no rebanho não alterou os valores plasmáticos de nenhum dos parâmetros proteicos analisados, concordando com Ribeiro (2004) que estudou ovelhas vazias, gestantes e lactantes da raça Border Leicester x Texel, criadas em regime extensivo no Rio Grande do Sul.

Batavani, Ansari & Asri (2006) estudando ovelhas da raça Makuii acompanhadas durante o período seco e durante a gestação não encontraram diferença entre os períodos reprodutivos quando analisaram a proteína total e a albumina.

Na Tabela 4 são apresentados os valores de correlação e pode-se observar que somente a correlação entre BHB e albumina, e entre BHB e creatinina não foram significativas, porém as duas correlações mostraram tendência a serem negativas. As correlações entre creatinina e albumina, proteína total e albumina, BHB e proteína total, ureia e creatinina foram significativas para as fêmeas gestantes do experimento.

Correlações positivas foram encontradas entre os valores séricos de albumina e creatinina, albumina e proteína total, entre BHB e ureia, entre creatinina e proteína total e entre creatinina e ureia.

Tabela 4 – Correlações entre os vários parâmetros analisados dos animais estudados.

	Albumina	BHB	Creatinina	Proteína Total	Ureia
Albumina	1	-0,04	0,25**	0,18**	-0,12*
BHB		1	-0,09	-0,27**	0,12*
Creatinina			1	0,21**	0,13*
Proteína Total				1	0,15**
Ureia					1

*($P \leq 0,05$); ** ($P \leq 0,01$).

Fonte: Dados da pesquisa.

Correlações negativas foram encontradas entre os valores séricos de BHB e proteína total e entre albumina e os valores séricos de ureia. Não foram encontradas correlações entre os valores séricos de albumina e BHB e entre BHB e creatinina. Ramin, Asri & Majdani (2005), também encontraram correlação positiva entre os valores séricos de BHB e ureia e concluem que esta correlação pode ser explicada pelo fato de que em casos de ausência de glicose a concentração sérica de BHB e de ureia, aumentem por haver a metabolização de gordura e consequentemente, aumentando o catabolismo de proteínas aumente os valores de ureia. González & Scheffer (2003), que recomendam que para avaliar a função renal de um animal pode apenas

realizar a determinação sérica ou da ureia ou da creatinina, pois ambas as substâncias são excretadas pelo rim.

A determinação de uma correlação positiva entre a proteína total e a albumina já foi explicada por Kaneko (1997) que relatou que na avaliação sérica de proteína total estão incluídas a albumina, globulinas e outras proteínas, portanto em casos de altas concentrações de albumina os valores séricos de proteína total são aumentados.

Conclusões

As correlações encontradas mostram que ao se determinar um parâmetro sanguíneo pode-se estimar o valor de um outro sem que seja necessária a determinação de um segundo teste, otimizando tempo e diminuindo custos com a compra de kits de diagnósticos, materiais e mão de obra, sendo isso essencial

em casos que os proprietários tem pouco recurso, ou há pouca verba disponível para a realização de uma pesquisa.

Nesse experimento correlações positivas foram encontradas entre os valores séricos de albumina e creatinina, albumina e proteína total, entre BHB e ureia, entre

creatinina e proteína total e entre creatinina e ureia.

Correlações negativas foram encontradas entre os valores séricos de BHB e proteína total e entre albumina e os valores séricos de ureia. Não foram encontradas correlações entre os valores séricos de albumina e BHB e entre BHB e creatinina.

Referências

1. BATAVANI, R.A.; ANSARI, M.H.; ASRI, S. Concentrations of serum total protein and protein fractions during diestrus and pregnancy in Makuui ewes. **Comparative Clinical Pathology**, Surrey, v. 15, p. 227-230, 2006.
2. DUEHLMEIER, R. et al. Metabolic adaptations to pregnancy and lactation in German Blackheaded Mutton and Finn sheep ewes with different susceptibilities to pregnancy toxemia. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 96, p. 178-184, 2011.
3. ESHRATKHAH, B. et al. Relationship between the blood thyroid hormones and lipid profile in Moghani sheep; influence of age and sex. **Comparative Clinical Pathology**, Iran, v. 19, p.15-20, 2010.
4. GONZÁLEZ, F.H.D., SCHEFFER, J.F.S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; CAMPOS, R. (Eds.). **Anais do I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2003. p. 73-89.
5. HARMEYER, J.; SCHLUMBOHM, C. Pregnancy impairs ketone body disposal in late gestating ewes: Implications for onset of pregnancy toxemia. **Research in Veterinary Science**, Hannover, v. 81, p. 254-264, 2006.
6. INSTITUTO PARANAENSE DE DESENVOLVIMENTO ECONOMICO E SOCIAL – IPARDES. Área, altitude e coordenadas geográficas, segundo os municípios do Paraná. In: _____. **Anuário estatístico do Estado do Paraná**. Curitiba, 2007. Disponível em: <http://www.ipardes.gov.br/anoario_2007/1territorio/tab1_1_1.htm> Acesso em: 20 out. 2008.
7. KANEKO, J.J. Carbohydrate Metabolism and its disease. In: _____. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed. New York: Academic Press, 1997. p. 45-81.
8. MCMANUS, C. et al. Heat tolerance in Brazilian sheep: physiological and blood parameters. **Tropical Animal Health and Production**, Dordrecht, v. 41, n. 1, p. 95-101, 2009.
9. PREMIX SUPLEMENTAÇÃO MINERAL. **Agrícola Cantelli**. Disponível em: <http://www.cantelli.com.br/destaque_007.php>. Acesso em: 14 abr. 2008.
10. RAMIN, A.G.; ASRI, S.; MAJDANI, R. Correlations among serum glucose, beta-hydroxybutyrate and urea concentrations in non-pregnant ewes. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 57, p. 265-269, 2005.
11. RIBEIRO, L.A.O. Perfil metabólico de ovelhas Border Leicester X Texel durante a gestação e a lactação. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 99, p. 155-159, 2004.
12. SAEG. **Sistema para Análises Estatísticas**, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

13. SAMPAIO, I.B.M. **Estatística Aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998.

14. TORTUGA COMPANHIA ZOOTÉCNICA AGRÁRIA. **Produtos para Ovinos**. Disponível em:http://www.tortuga.com.br/produto_integra.asp?id=66&linha=1&categoria=6>. Acesso em: 11 fev. 2008.

15. VIANA, R.B. et al. Influência da gestação e do puerpério sobre o leucograma de caprinos da raça Saanen, criados no Estado de São Paulo. **Brazilian Journal Veterinarian Research Animal Science**, São Paulo, v. 39, n.4, p. 196-201, 2002.