

Valores de proteínas séricas en vacas gestantes

J. L. FERNÁNDEZ YERO Y T. VERDURA BARRIOS

Grupo de Inmunología y Lab. de Histopatología. Centro Nacional de Investigaciones Científicas, La Habana, Cuba

Recibido: 11 Junio de 1974

ABSTRACT. 75 Holstein cows were studied between their eighth and ninth months of pregnancy. In each of the animals studied the proteins were determined and so was electroforesis in cellulose acetate. Absolute and relative values were obtained for four fractions of serum proteins and these were: Albumen, Alpha, Beta and Gamma Globulins. The average and the standard deviations were calculated for each fraction. The Gamma globulin values of each animal are compared with the inhibition values of hemagglutination to PI-3 obtained by the Virology Department at CNIC. The results obtained are correlated and discussed with their significance physiopathological.

RESUMEN. Se estudiaron 75 vacas de la raza Holstein entre el 8vo. y 9no. mes de gestación. A cada uno de los animales estudiados se le realizó determinación de proteínas séricas y electroforesis en acetato de celulosa. Se obtuvieron valores absolutos y relativos para cuatro fracciones de proteínas séricas que fueron: Albúmina, Alfa, Beta y Gamma Globulinas y se calcularon la media y la desviación standard de cada una de las fracciones. Los valores de globulinas Gamma de cada uno de los animales se comparan con los títulos de inhibición de la hemaglutinación a PI-3 obtenidos por el Dpto. de Virología del CNIC. Se correlacionan y discuten los resultados obtenidos con su significación fisiopatológica.

INTRODUCCION

Este trabajo tiene como objetivo el conocimiento de los valores de proteínas séricas de un grupo de vacas gestantes de la raza Holstein y su relación con títulos de inhibición de la hemaglutinación a PI-3. Estos datos deben permitir el establecimiento de un criterio con respecto a la importancia del papel etiológico del virus en la masa ganadera de los centros estudiados, así como su relación con el estado inmunológico de los animales. Finalmente nos ofrece los conocimientos de partidas para

estudios pre y postnatales de terneros desde un punto de vista inmunológico y clínico.

MATERIALES Y METODOS

Electroforesis de seroproteínas. Las electroforesis se realizaron en acetato de celulosa Oxoid y cámara horizontal.

Se utilizó tampón Tris-Veronal-Veronal Na, pH 8.4 (7.20; 2.5; 9.65 gramos por litro) y una distancia entre puentes de 8 cm.

Se efectuó la corrida con una diferencia de potencial de 12.5 voltios/cm durante 135 minutos. Las muestras se depositaron sobre las tiras con un aplicador rectangular de 1.5 microlitros por 9 mm.

Coloración. Las tiras se colorearon con una solución de 0.5 g de Ponceau S en 100 ml de ácido tricloroacético al 5% durante 10 minutos y se decoloraron por lavados sucesivos en una solución de ácido acético al 5%. Se dejaron secar a temperatura ambiente entre dos hojas de papel de filtro grueso.

Evaluación. Para obtener valores precisos de las fracciones, éstas se cortaron cuidadosamente y se depositaron en tubos de ensayo con tapa roscada, donde fueron disueltas añadiéndoles 3 ml de una mezcla de cloroformo-etanol (90/10 v/v).

Se utilizaron como blanco fragmentos de acetato de celulosa de las mismas tiras, de tamaño proporcional y no continentes de alguna fracción proteica.

Todas las fracciones disueltas fueron evaluadas en un espectrofotómetro Unicam SP-600 con una longitud de onda de 5,130 Angstroms.

Se obtuvieron valores en % de cada una de las fracciones de los cuales posteriormente se pasó a valores absolutos por determinación de proteínas totales.

Determinación de proteínas. Se utilizó un micrométodo de determinación de proteínas por reacción de Biuret (modificado de Henry, 1969).

La curva de calibración se confeccionó con diluciones de un pool de suero bovino con concentración de Nitrógeno determinado por el método de Kjeldahl.

Inhibición de la hemaglutinación a PI-3. Los títulos de inhibición de la hemaglutinación a PI-3 se obtuvieron por la técnica tomada de "Diagnostic Procedures for Viral and Rickettsial Infections" (1969).

Todos los sueros analizados fueron tratados con IKO_4 .

La cepa viral es la No. 31 de la PI-3 del Laboratorio de Veterinaria de Alfort, Francia.

La obtención de estos títulos estuvo a cargo del Dpto. de Virología del CNIC y son parte de los presentados por Martínez y cols. (1973).

RESULTADOS

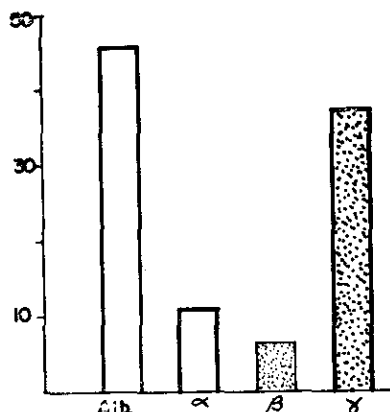
Los valores relativos (%) de las cuatro fracciones plasmáticas estudiadas en un grupo de animales de la raza Holstein entre el 8vo. y 9no. mes de gestación aparecen en el cuadro 1 y el gráfico 1.1. A partir de estos valores se obtuvo el índice albúmina/globulinas relativo, que fue 0.8368 para las medias de los valores.

CUADRO I

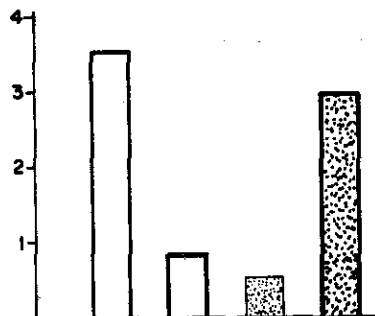
Fracción	\bar{X}	S	S ²	C.V.
Albúmina	45.16	8.15	73.58	18.82
Alfa	10.86	3.69	13.67	34.02
Beta	6.49	2.81	7.90	43.30
Gamma	37.08	8.49	72.22	22.91
Prot. Tot.	7.86	1.35	1.82	17.15

Los valores obtenidos por nosotros en estos animales son superiores en albúmina y gammaglobulinas a los obtenidos en animales no gestantes de la misma raza por electroforesis en papel por Granada y cols. (1971). A partir de los valores relativos de las electroforesis y determinando la concentración de proteínas séricas se obtuvo el valor absoluto para cada una de las fracciones del grupo de los 75 animales. Los resultados del proceso estadístico de estos datos aparecen en el Gráfico 1.2.

La media de proteínas totales fue de 7.8680 g/100 y su desviación standard 1.3501.



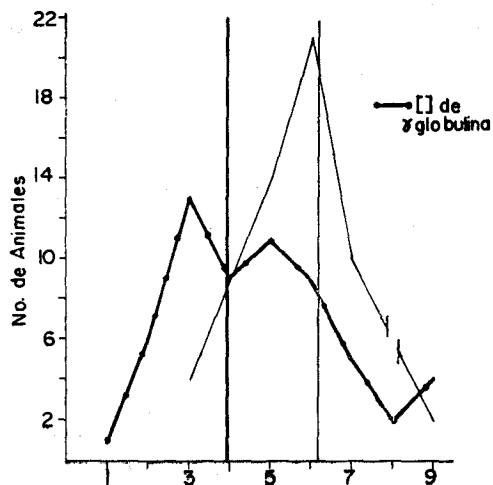
Gráf. 1.1. Valores en %.



Gráf. 1.2. Valores en g/100.

Para 60 de los 75 animales obtuvimos del Dpto. de Virología títulos de inhibición de la hemaglutinación a PI-3; los valores de las proteínas séricas tanto relativos como absolutos de estos 60 animales no diferían significativamente del conjunto de los 75. Con estos títulos y los valores de proteínas séricas de este grupo de animales se hicieron varios estudios comparativos.

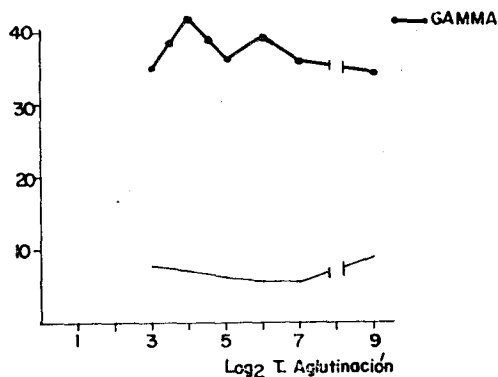
En el gráfico 2 aparecen las frecuencias en número de animales por logaritmo del título de inhibición de la hemaglutinación y concentración de gammaglobulinas.



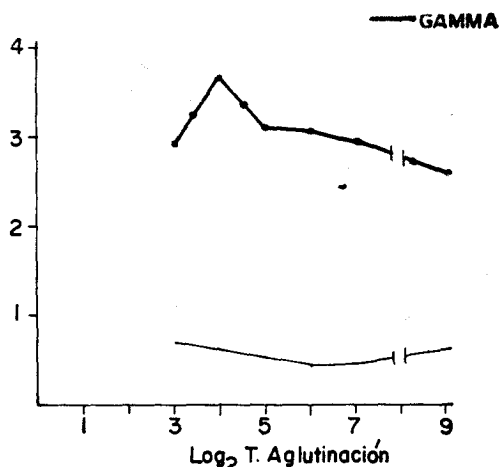
Gráf. 2. Distribución por [] de γ glob. en g/100 y \log_2 tit. Aglutinación.

En los gráficos 3 y 4 aparecen ordenadas las medias de los valores relativos y absolutos de las fracciones Beta y Gamma por título de inhibición de la hemaglutinación y la frecuencia de animales por cada título.

La media del título de inhibición de la hemaglutinación se aproxima a $1/64$.



Gráf. 3. Valores en % Beta-Gamma.

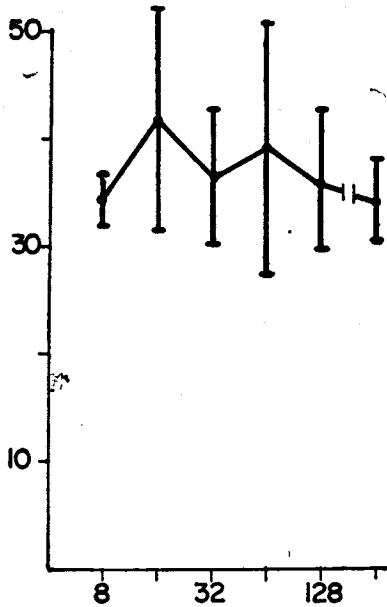


Gráf. 4. Valor en g/100 Beta-Gamma.

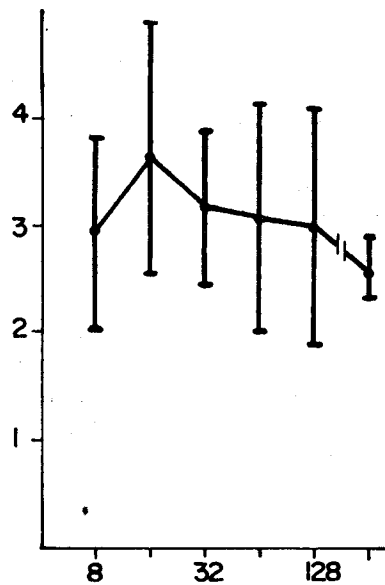
Se hicieron test de regresión con los valores de Beta y Gamma tanto absolutos como relativos y los títulos de inhibición de la hemaglutinación a PI-3. Sólo se encontró una relación significativa con una $r = -0.9757$ ($p < 0.001$) entre el valor en % de gammaglobulinas y el logaritmo de los títulos de inhibición de la hemaglutinación.

Existe pues una relación negativa entre los valores de títulos de inhibición de la hemaglutinación a PI-3 y los valores en % de gammaglobulinas. Esto implica que en el grupo de animales estudiados por nosotros coinciden significativamente títulos altos anti PI-3 medidos por su capacidad de inhibir la hemaglutinación con valores bajos pero normales de globulinas Gamma.

No se obtuvo significación, sin embargo, en la regresión de los valores absolutos de Gamma con títulos de inhibición de la hemaglutinación, a pesar de que las curvas se asemejan. Esta pérdida de significación la hemos atribuido a la dispersión de los valores que se produce al introducir un nuevo factor de variación que es el de conversión a valor absoluto (proteínas totales). Las diferencias en las desviaciones de la media se hacen evidentes al comparar los gráficos 5 y 6 (valor relativo y absoluto respectivamente).



Graf. 5.



Graf. 6

DISCUSION Y CONCLUSIONES

1. La relación inversa entre los títulos de inhibición de la hemaglutinación PI-3 y los valores en % de gammaglobulinas y la no existencia de la misma entre el valor absoluto de Gamma, así como de los valores de Beta tanto absoluto como relativo indican que no sería un virus de la PI-3 el responsable de la elevación de los valores de gammaglobulinas en los animales estudiados por nosotros.
2. En nuestro medio no parece utilizable la determinación del título de inhibición de la hemaglutinación a PI-3 como medio de detección de animales hipogammaglobulinémicos como han planteado Prevost y cols. (1967) debido a esta relación inversa existente entre títulos de inhibición de la hemaglutinación a PI-3 y valor de gammaglobulinas.

3. Veiga y cols., (1974) han aislado recientemente un virus de un ternero con sintomatología de neumoenteritis, que reacciona cruzadamente con el PI-3 dando títulos bajos. Esto plantea la posibilidad de la existencia de dos poblaciones virales que estén mezcladas en este estudio, una de ellas produciendo títulos altos contra PI-3 con poca elevación de gammaglobulinas séricas y la otra, que dando títulos bajos anti PI-3 (cruzados) produce mayores ascensos en los valores séricos de gammaglobulinas.

Esta coexistencia de títulos directos y cruzados hace necesario un estudio similar en el que se testen a la vez las dos poblaciones virales.

4. Smith y cols., (1967) han reportado que en la PI-1 los anticuerpos séricos sufren poco aumento y tienen una prevalencia menor, por lo que en un estudio futuro para hacerlo más concluyente deberán estudiarse también los anticuerpos en las secreciones respiratorias e intestinales.

RECONOCIMIENTOS

Agradecemos la colaboración de los Dres. J. J. Martínez y M. R. Veiga del Dpto. de Virología del CNIC en la orientación y discusión de los aspectos virológicos de este trabajo y de los compañeros de los servicios de veterinaria del Centro Genético "Sierra Maestra" por la recolección y envío de las numerosas muestras.

REFERENCIAS

- DIAGNOSTIC PROCEDURES FOR VIRAL AND RICKETTSIAL INFECTION.: 428, 4th. Edition, 1969.
- GRANADO A., DUQUE D. Y PEREDA R. Estudio electroforético del suero de bovinos de diferentes razas. *Rev. Cenic*, 3, 1-2, 1971.
- HENRY R. J. *Química Clínica* 1, 213, Ed. Jims, Barcelona, 1969.
- MARTÍNEZ J. J., VEIGA M. R. Y GONZÁLEZ R. Anticuerpos inhibidores de la hemaglutinación contra PI-3 bovina en el suero de vacas y terneros. Estudio en dinámica a partir del 9no. mes. IV Seminario Científico del CNIC.
- PREVOST A. BORREDON C., QUÉVAL R. ET MAURICE Y. Enquete sur l'infection des bovins par le virus Para-influenza-3 en Afrique Centrale. Application au controle de la sérologie de la peripneumonié. *Rev. Elev. Méd. Vet. Pays Trop.*, 20, 1, 1967

SMITH C.B., BELLANTI J.A. AND CHANOCK R.M. Immunoglobulins in serum and nasal secretions following infection with type 1 Parainfluenza virus and injection of inactivated vaccines. *Jour. of Immunol.* 99, 1, 1967.

VEIGA M.R., MARTÍNEZ J.J. Y NÚÑEZ A. Papel que juegan los virus de la PI-3 en la diarrea del ternero. a. De 0 a 30 días. *Revista Cenic, Ciencias Biológicas*, 5, 59. 1974.