

## Perfil de proteínas plasmáticas em cadelas gestantes e não gestantes<sup>1</sup>

Camila I. Vannucchi<sup>2\*</sup>, Cristina F. Lúcio<sup>2</sup>, Fernanda M. Regazzi<sup>2</sup>, Daniel S.R. Angrimani<sup>2</sup>, Maíra M. Brito<sup>2</sup> e Renata A. Abreu<sup>2</sup>

**ABSTRACT.** Vannucchi C.I., Lúcio C.F., Regazzi F.M., Angrimani D.S.R., Brito M.M. & Abreu R.A. 2016. [Plasmatic protein profile of pregnant and non-pregnant bitches.] Perfil de proteínas plasmáticas em cadelas gestantes e não gestantes. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 36(8):781-786. Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Avenida Prof. Orlando Marques de Paiva 87, São Paulo, SP 05508-270, Brazil. E-mail: [cacavann@usp.br](mailto:cacavann@usp.br)

The study of the organic interaction and physiological adaptations during pregnancy is of utmost importance for clinical evaluation and diagnosis of pathological conditions of pregnant bitches. The aim of the present study was to compare the serum protein profile (total protein, albumin,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  and  $\gamma$  globulin) of pregnant and diestrous bitches. For this purpose, 40 healthy 2 to 7-year-old Great Dane bitches were used. The bitches were allocated in two experimental groups: Non-pregnant group (NP; n=20) and pregnant group (P; n=20). From each female, blood was drawn weekly during 9 weeks, from the diestrous onset until the beginning of anestrus or parturition, respectively from NP and P groups. The concentration of total protein, albumin and  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  and  $\gamma$  globulins were determined from serum samples. No statistical difference was found for total protein between 1st and 6th weeks of pregnancy or diestrus. In both groups, there was a progressive decline in total protein concentration. At the end of pregnancy (7th to 9th week), a significant increase in total protein was verified, suggesting an anabolic process. Albumin concentration decreased between the 1st and 9th week in both groups, however, more markedly in the P group (with significant difference between groups at 7th, 8th and 9th week). The levels of  $\alpha_1$  globulin in pregnant bitches increased significantly from the 2nd week on. Statistical difference was observed between groups only at the 8th and 9th week, during which a preparatory phase for parturition occurs. A significant rise in  $\alpha_2$  globulin was shown between the 2nd and 3rd week of gestation, however without difference from the NP group. There was significant difference for  $\alpha_2$  globulin between groups at the 4th, 5th, 6th, 8th and 9th week. Serum concentration of  $\beta$  globulin in diestrous bitches was superior than pregnant bitches at the 2nd, 4th and 7th week. During early gestation (1st to 3rd week) there was a decrease in  $\gamma$  globulin, simultaneously to the preimplantation period and formation of implantation sites. An increase in  $\gamma$  globulin was shown between the 8th and 9th week in pregnant bitches, possibly due to the increase in immunoglobulin synthesis targeting the mammary gland to form the colostrum. In conclusion, markedly changes in protein profile occur during gestation. It was possible to state different biological function of blood proteins in pregnant and diestrous bitches. The determined proteins are enrolled in the inflammatory stimulus during gestation, as well as in the hormonal regulatory mechanisms and maternal preparatory process to lactation.

INDEX TERMS: Total protein, albumin, globulin, pregnancy, diestrus, dogs.

<sup>1</sup> Recebido em 11 de junho de 2015.

Aceito para publicação em 13 de maio de 2016.

<sup>2</sup> Departamento de Reprodução Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP), Cidade Universitária, Avenida Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva 87, Butantã, São Paulo, SP 05508-270, Brasil. \*Autor para correspondência: [cacavann@usp.br](mailto:cacavann@usp.br)

**RESUMO.** O estudo das interações orgânicas da gestação e as mudanças fisiológicas que estão ocorrendo nesta fase são de extrema importância para a avaliação clínica da fêmea gestante ou para estabelecer o diagnóstico de processos patológicos em andamento. O objetivo do presente estudo foi comparar o perfil das diversas proteínas san-

gúneas (frações protéicas do soro - albumina,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  globulinas e proteína total) durante o período gestacional e no diestro em cadelas. Foram utilizadas 40 fêmeas caninas da raça Dogue Alemão, em idade variando entre 2 a 7 anos, clinicamente saudáveis. Os animais foram separados em dois grupos, denominados Grupo não gestante (NG) e Grupo gestante (G), constituídos por 20 fêmeas em diestro e 20 fêmeas gestantes, respectivamente. Preconizou-se coleta de sangue semanalmente de cada animal durante 9 semanas. Nas fêmeas do grupo NG, as amostras foram colhidas a partir do início do diestro, até a detecção do início do anestro; no grupo G, as amostras foram colhidas do início do diestro até o momento da parição. A partir do soro sanguíneo, foram determinadas as concentrações de proteína total, albumina,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  globulinas. Não houve diferença significativa quanto aos resultados de proteína sérica total entre a 1ª e 6ª semanas de gestação e diestro, havendo decréscimo gradual em ambos grupos. Já ao final da gestação (entre a 7ª e 9ª semanas), houve acréscimo significativo dos valores de proteína total, sugerindo ação anabólica. Os níveis de albumina sofreram queda da 1ª a 9ª semana, tanto no grupo gestante, como não-gestante, com diferença estatística entre os dois grupos na 7ª, 8ª e 9ª semanas. As concentrações de  $\alpha_1$  globulina nas fêmeas gestantes sofreram acréscimo significativo a partir da 2ª semana, contudo, diferença estatística entre os grupos NG e G ocorreu somente na 8ª e 9ª semanas, coincidindo com a fase de preparação à parição. Houve aumento no perfil de  $\alpha_2$  globulina entre a 2ª e 3ª semanas de gestação, porém tais valores não diferiram das fêmeas em diestro. Diferença significativa de  $\alpha_2$  globulina foi observada apenas durante a 4ª, 5ª, 6ª, 8ª e 9ª semanas entre os dois grupos avaliados. As concentrações séricas de  $\beta$  globulina nas cadelas não-gestantes foi superior às das fêmeas gestantes durante a 2ª, 4ª e 7ª semanas. Durante o primeiro terço da gestação (1ª a 3ª semana), foi observado queda dos valores de  $\gamma$  globulina, coincidente ao período pré implantacional e durante a formação dos sítios de implantação. Entre a 8ª e 9ª semanas de gestação, houve acréscimo significativo de  $\gamma$  globulina, possivelmente conseqüente ao aumento da produção de imunoglobulinas direcionadas à glândula mamária, como constituinte do colostro. Em conclusão, as proteínas alteram-se de forma evidente durante o período de gestação. Foi possível inferir diferenças nas funções biológicas das proteínas sanguíneas em cadelas gestantes e não gestantes. As proteínas determinadas estão envolvidas com o estímulo inflamatório durante a gestação, além dos mecanismos de regulação hormonal e preparação do organismo materno à lactação.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Proteína total, albumina, globulina, gestação, diestro, cães.

## INTRODUÇÃO

A fisiologia da gestação na cadela ainda não é totalmente conhecida ou entendida. O estudo das interações orgânicas da gestação e as mudanças fisiológicas que estão ocorrendo nesta fase são de extrema importância para a avaliação clínica da fêmea gestante ou para estabelecer o diagnóstico de processos patológicos em andamento.

O grupo de proteínas plasmáticas exerce importante papel nos mecanismos de regulação plasmática e transporte de fluidos intra e extracelular. Porém, a concentração das proteínas plasmáticas está na dependência do balanço hormonal, estado nutricional, balanço hídrico e estados de prenhez, parição e lactação (Jain 1993). O perfil protéico é modificado, em função do estabelecimento dos embriões e para manutenção dos processos de gestação e lactação (Jain 1993). Nos estágios finais da gestação, a concentração das proteínas plasmáticas decresce com o movimento das proteínas sanguíneas para a glândula mamária, particularmente para a formação do colostro (Jain 1986). Em especial, a albumina possui fundamental importância na manutenção da pressão oncótica do fluido intravascular, bem como elementar nos processos de transporte de substâncias. Mas, a síntese de albumina pelo fígado é dependente de padrões hormonais, estado nutricional, condições hepáticas gerais, estresse e concentrações extravasculares (Jain 1993). Como alterações orgânicas da gestação, Royal et al. (1979) citam o decréscimo da albumina sérica, acréscimo de  $\beta$  globulinas e  $\alpha_1$  globulinas e manutenção dos valores de  $\gamma$  globulinas.

A mensuração de globulinas séricas é importante parâmetro para avaliar animais que merecem atenção especial e para programas de saúde de indivíduos idosos (Batamuzi et al. 1996). É um método de triagem prático, pouco invasivo e de baixo custo que pode dirigir a avaliação clínica para métodos diagnósticos mais elaborados. Por exemplo, em determinadas circunstâncias, a concentração de proteína total pode ser normal, pois os níveis aumentados de  $\gamma$  globulina podem mascarar valores reduzidos de albumina ou  $\alpha$  globulinas. Desta forma, o fracionamento de proteínas séricas por eletroforese é o recurso apropriado para avaliação do perfil protéico (Sevelius & Andersson 1995). Os níveis protéicos normais durante a gestação são superiores aos níveis detectados durante a lactação, por aumento nos níveis de globulinas durante a prenhez (Prabhakaran et al. 1996). Porém, Fisher & Fisher (1981) observaram decréscimo de gamaglobulina em cadelas prenhes, comparando-se aos animais não gestantes. A fração da gamaglobulina, a qual não depende do funcionamento do fígado, fornece informações acerca dos níveis de anticorpos circulantes (Sevelius & Andersson 1995).

O objetivo do presente estudo foi comparar o perfil das diversas proteínas sanguíneas (frações protéicas do soro - albumina,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  globulinas e proteína total) durante o período gestacional e no diestro em cadelas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 40 fêmeas caninas da raça Dogue Alemão, em idade variando de 2 a 7 anos, clinicamente saudáveis, sem histórico de processos infecciosos e ou inflamatórios. Os animais recebiam o mesmo tipo de alimentação, constituída de ração comercial e água fornecida *ad libitum*. O manejo sanitário era uniforme, sendo que todos eram imunizados e vermifugados periodicamente; a sorologia para Dirofilariose e Brucelose também era realizada rotineiramente.

Os animais foram separados em dois grupos, denominados Grupo não gestante (NG) e Grupo gestante (G), constituídos por 20 fêmeas em diestro e 20 fêmeas gestantes, respectivamente.

**Colheita das amostras.** Para realização do estudo, preconizou-se colheita de sangue semanalmente de cada animal durante 9 semanas. Nas fêmeas do grupo NG, as amostras foram colhidas a partir do início do diestro, até a detecção do início do anestro; no grupo G, as amostras foram colhidas do início do diestro até o momento da parição. A avaliação do início do diestro e também do anestro foi realizada por meio de citologia vaginal, de acordo com padronização descrita por Olson et al. (1984). Para interpretação dos resultados do grupo G, o dia da ovulação foi calculado retrospectivamente como o 63<sup>a</sup> dia anterior ao parto e o dia do pico de LH, 65<sup>a</sup> dia (Concannon et al. 1983).

Os animais eram mantidos em jejum de 12 horas e, decorrido este período, após assepsia, foram colhidas amostras de sangue por punção da veia safena direita ou esquerda, utilizando-se sistema para colheita de sangue a vácuo (Vacutainer<sup>®</sup> Becton & Dickinson). Após a colheita, as amostras de sangue foram imediatamente centrifugadas no local da colheita a 1500 g por dez minutos. O soro obtido foi aliquoteado e armazenado em frascos plásticos resistentes ao congelamento a -20 °C até o processamento.

Para quantificação dos valores de proteína sérica total, utilizou-se o reativo do biureto, preparado conforme descrito em Strufaldi (1987), adaptado para o analisador bioquímico RA-100 (Technicon - Bayer<sup>®</sup>). A eletroforese de proteína séricas foi realizada utilizando-se a técnica descrita por Cannon et al. (1980). Tiras de acetato de celulose úmidas (Cellogel<sup>®</sup>) foram mantidas sob imersão em solução tampão Tris Barbitol (pH 8,8) por 10 minutos. Após este período, as fitas foram estiradas em cuba para eletroforese (Colab<sup>®</sup>) com as extremidades submersas na solução tampão. A cuba foi ligada por 5 min para a retirada de impurezas. Com auxílio de aplicador, as amostras foram depositadas sobre as fitas e a cuba ligada novamente por 35 min. Ao término da corrida, as fitas foram retiradas e submersas em corante Ponceau-S por 20 min. As fitas foram, então, lavadas alternadamente em solução de ácido acético 5% e água, e desidratadas por 2 min em metanol. Após diafanização em solução de metanol 84% e ácido acético 16% por 3 min, as fitas foram secas em estufa por aproximadamente 7 min. A leitura das fitas de eletroforese foi realizada em densitômetro (Turbo Z-30, Zênite<sup>®</sup>) e os valores expressos em g/dl.

**Análise estatística.** Os parâmetros avaliados neste estudo foram inicialmente testados quanto a sua distribuição normal, utilizando-se teste de Kolmogorov-Smirnov. Para as variáveis comparadas paramétricas (proteína sérica total, albumina,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  globulinas), utilizou-se Teste T com amostras independentes na comparação vertical (Grupo NG x Grupo G) e Teste T com amostras pareadas para o cotejo horizontal (entre semanas, dentro do mesmo grupo).

A comparação das médias e análise de variância foi realizada utilizando-se nível estatístico de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS

Os níveis de proteína total no grupo G apresentaram queda gradual da 1<sup>a</sup> à 7<sup>a</sup> semana, seguido de acréscimo da 7<sup>a</sup> a 9<sup>a</sup> semana (Fig.1A). O intervalo normal dos valores médios durante as semanas no grupo G foi de  $6,86 \pm 0,82$  a  $7,52 \pm 0,82$  g/dl. Em relação aos valores de proteína total no grupo NG, foi verificada queda à 1<sup>a</sup> semana seguida de acréscimo da 2<sup>a</sup> semana a 4<sup>a</sup> semana, quando iniciou-se nova queda até a 6<sup>a</sup> semana (Fig.1A). O intervalo normal dos valores médios durante as semanas de diestro foi de  $7,20 \pm 0,74$  a  $7,86 \pm 0,92$  g/dl. Quando comparados os valores médios de proteína total entre os grupos G e NG, diferença significativa ( $p < 0,05$ ) foi observada somente à 7<sup>a</sup> semana,

na qual o nível de proteína total no grupo NG foi superior ao grupo G (Fig.1A).

Analisando os valores de albumina nas fêmeas do grupo G, foi possível observar queda progressiva do início da gestação até o momento do parto (Fig.1B). O intervalo normal dos valores médios durante as semanas de gestação foi de  $2,64 \pm 0,47$  a  $3,68 \pm 0,33$  g/dl. Em relação ao perfil de albumina no grupo NG, observou-se queda das concentrações séricas da 1<sup>a</sup> a 9<sup>a</sup> semana, entretanto, de forma menos evidente que no grupo G (Fig.1B). O intervalo normal dos valores médios desta proteína foi de  $3,22 \pm 0,58$  g/dl (6<sup>a</sup> semana) a  $3,81 \pm 0,73$  g/dl (1<sup>a</sup> semana). Comparando os grupos G e NG, notou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) à 7<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup> e 9<sup>a</sup> semanas. Nas três últimas semanas, houve queda mais acentuada dos valores de albumina no grupo G do que no grupo NG (Fig.1B).

Ao se avaliar o perfil de  $\alpha_1$  globulina no grupo G, verificou-se queda entre a 1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> semana, seguida de aumento progressivo até o momento da parição (Fig.2A). Houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre a 2<sup>a</sup> e as demais semanas. O intervalo normal dos valores médios desta globulina durante as semanas de gestação foi de  $0,34 \pm 0,07$  g/dl (2<sup>a</sup> semana) a  $0,44 \pm 0,10$  g/dl (9<sup>a</sup> semana). Com relação aos valores de  $\alpha_1$  globulina no grupo NG, observou-se crescente aumento entre a 1<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> semana ( $p < 0,05$ ) e queda significativa ( $p < 0,05$ ) posterior entre a 5<sup>a</sup> e 9<sup>a</sup> semanas (Fig.2A). O intervalo normal dos valores médios de  $\alpha_1$  globulina no grupo NG foi de  $0,32 \pm 0,10$  g/dl (9<sup>a</sup> semana) a  $0,42 \pm 0,10$  g/dl

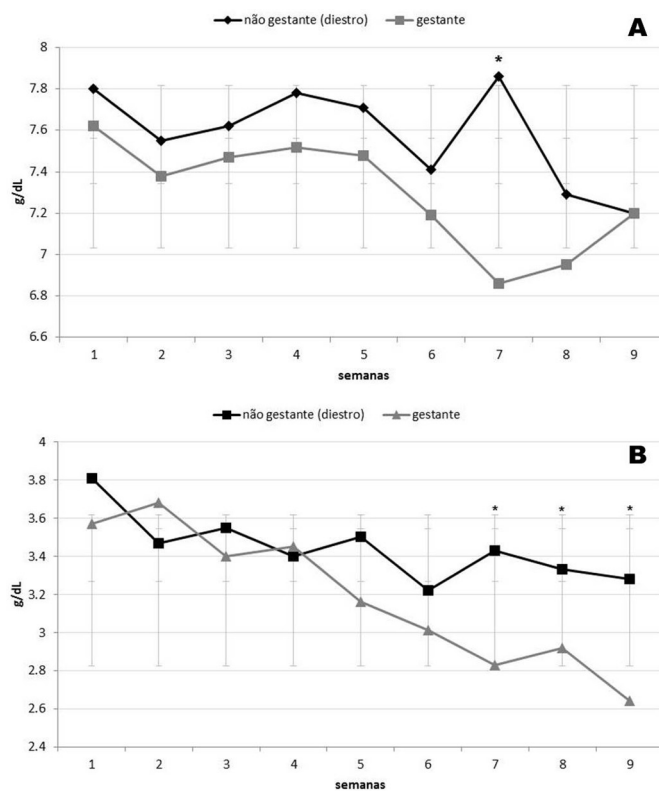
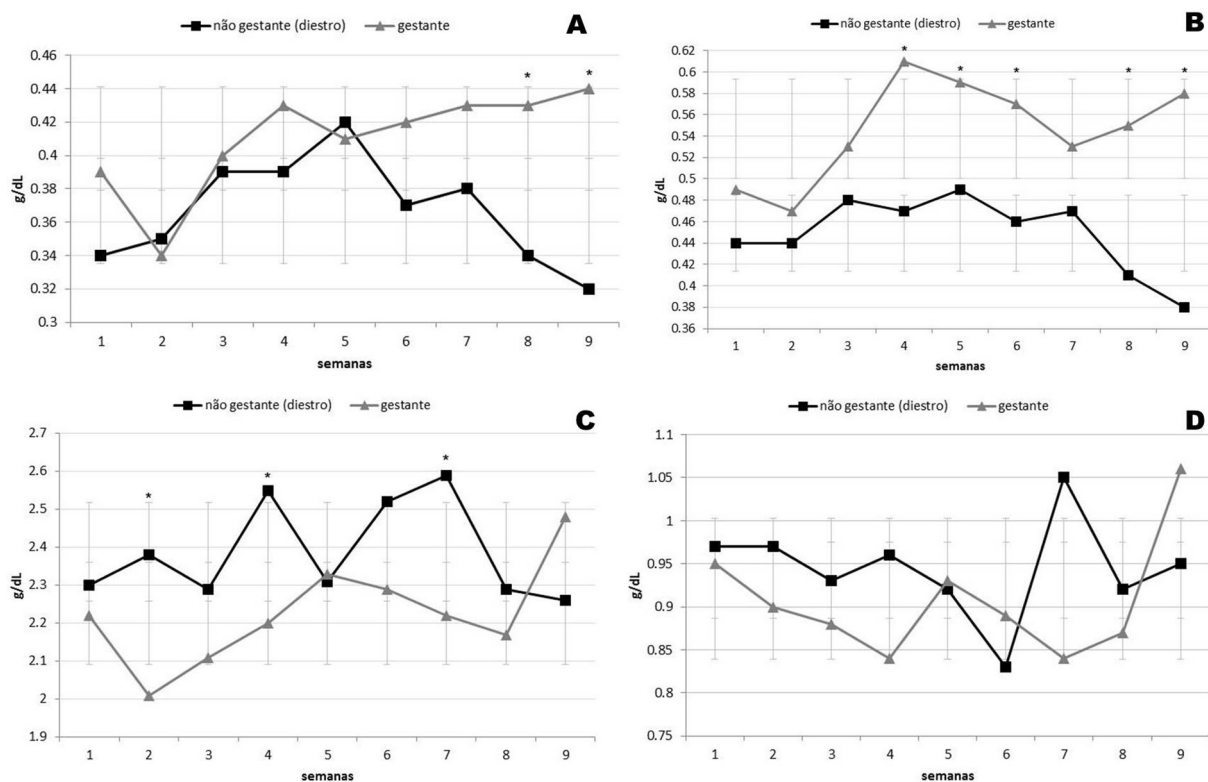


Fig.1. (A) Valores médios das concentrações séricas de proteína total e (B) albumina durante as semanas de diestro e gestação em cadelas. \* Indica diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre grupos.



dl (5ª semana). O grupo G apresentou valores superiores ( $p < 0,05$ ) na 8ª e 9ª semanas, comparando-se às concentrações de  $\alpha_1$  globulina no grupo G.

Os dados obtidos para  $\alpha_2$  globulina durante as semanas do grupo G revelaram queda inicial entre a 1ª e 2ª semanas, seguida de aumento entre a 2ª e 4ª semana e novo decréscimo entre a 4ª e 7ª semana (Fig.2B). Até o momento do parto, houve pequena elevação, a partir da 7ª semana. Diferença significativa ( $p < 0,05$ ) foi observada entre a 2ª semana e as demais. O pico da  $\alpha_2$  globulina ( $0,61 \pm 0,16$ g/dl) foi observado à 4ª semana e o menor valor ( $0,47 \pm 0,08$ g/dl) à 2ª semana. Quanto ao perfil de  $\alpha_2$  globulina durante as semanas do grupo NG, não foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre a 1ª e 7ª semanas, entretanto, a partir da 7ª semana houve queda significativa ( $p < 0,05$ ) (Fig.2B). O intervalo normal dos valores médios durante as semanas de diestro foi de  $0,38 \pm 0,13$ g/dl (9ª semana) a  $0,49 \pm 0,10$ g/dl (5ª semana). O grupo G apresentou níveis de  $\alpha_2$  globulina estatisticamente superiores ( $p < 0,05$ ) aos observados no grupo NG à 4ª, 5ª, 6ª, 8ª e 9ª semanas.

Com relação ao perfil de  $\beta$  globulina durante as semanas do grupo G, nota-se decréscimo entre a 1ª e 2ª semana e posterior aumento entre a 2ª e 5ª semana (Fig.2C). Entre a 5ª e 8ª semanas houve queda gradual, seguida de aumento final entre a 8ª e 9ª semana (Fig.2C). Houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre a 2ª semana e 4ª, 5ª, 6ª, 7ª, 8ª e 9ª semanas, demonstrando haver acréscimo nas concentrações  $\beta$  globulina a partir da 2ª semana de gestação. O intervalo normal dos valores médios no grupo G foi de  $2,01 \pm 0,46$  (2ª semana) a  $2,48 \pm 0,42$ g/dl (9ª semana). Durante as semanas do grupo NG, houve três elevações distintas nas concen-

trações de  $\beta$  globulina, à 2ª, 4ª e 7ª semanas, sendo que os valores desta globulina nas duas últimas semanas citadas diferem ( $p < 0,05$ ) das demais semanas de diestro (Fig.2C). Decréscimo nos níveis de  $\beta$  globulina entre a 7ª e 9ª semanas foi observado no grupo NG. O valor máximo desta proteína ocorreu à 7ª semana ( $2,59 \pm 0,55$ g/dl), enquanto o menor valor foi observado à 9ª semana ( $2,26 \pm 0,62$ g/dl). Os valores de  $\beta$  globulina no grupo G foram inferiores ( $p < 0,05$ ) à 2ª, 4ª e 7ª semanas comparando-se aos resultados obtidos para o grupo NG.

Os resultados de  $\gamma$  globulina obtidos durante as semanas do grupo G demonstraram diferença ( $p < 0,05$ ) entre a 1ª e 3ª, 4ª e 5ª, 5ª e 7ª e entre a 8ª e 9ª semanas. Houve queda nas concentrações séricas desta globulina da 1ª à 4ª semana de gestação, seguida de pico entre a 4ª e 5ª semana e posterior decréscimo entre a 5ª e 7ª semanas (Fig.2D). O valor máximo de  $\gamma$  globulina foi atingido à 9ª semana ( $1,06 \pm 0,20$ g/dl), enquanto o menor valor ( $0,84 \pm 0,24$ g/dl) ocorreu à 4ª semana. O perfil de  $\gamma$  globulina no grupo NG mostrou queda ( $p < 0,05$ ) entre a 1ª e 6ª semana. Entre a 6ª e 7ª semanas houve pico de  $1,05 \pm 0,42$ g/dl, seguido de decréscimo no valor desta globulina (Fig.2D). O valor mínimo de  $\gamma$  globulina foi observado durante a 6ª semana de diestro ( $0,83 \pm 0,30$ g/dl). Não houve diferença significativa entre os valores médios de  $\gamma$  globulina durante as semanas do grupo G e NG.

## DISCUSSÃO

A gestação é um processo fisiológico que altera os mecanismos de regulação hídrica, oncolítica e hormonal. Neste experimento, não houve diferença significativa quanto aos re-

sultados de proteína sérica total entre a 1<sup>a</sup> e 6<sup>a</sup> semanas de gestação e diestro, havendo decréscimo gradual em ambos os grupos experimentais. Por outro lado, ao medir os níveis de proteína total durante a gestação em mulheres, Haram et al. (1983) observaram decréscimo progressivo do 2<sup>o</sup> ao 7<sup>o</sup> mês de gravidez. Já ao final da gestação em cadelas (entre a 7<sup>a</sup> e 9<sup>a</sup> semanas), houve acréscimo significativo dos valores de proteína total, sugerindo ação anabólica. O estímulo para síntese proteica pode ser decorrente de ação hormonal, principalmente do estrógeno e corticosteroides (Harvey & West 1987). De fato, sabe-se que as concentrações de estrógeno e cortisol elevam-se ao final da gestação em cadelas (Concannon 2009). Desta maneira, é possível inferir que o aumento dos níveis de proteína total seja reflexo indireto da ação hormonal (estrógeno e cortisol), por estímulo ao anabolismo hepático.

A albumina é considerada proteína negativa, ou seja, ocorre desvio em sua síntese quando o fígado é requisitado para a produção seletiva de outras proteínas, tais como as proteínas de fase aguda ou em decorrência de enfermidades hepáticas (Jain 1989, Sevelius & Andersson 1995). Os níveis de albumina, neste experimento, sofreram queda da 1<sup>a</sup> a 9<sup>a</sup> semana, tanto no grupo gestante, como não-gestante. Entretanto, a queda de albumina ocorreu de forma mais acentuada no grupo de fêmeas gestantes, confirmada pela diferença estatística entre os dois grupos na 7<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup> e 9<sup>a</sup> semanas. Tal perfil fisiológico da albumina ao final da gestação pode ser atribuído à preparação do organismo materno ao momento do parto, direcionando a síntese hepática às proteínas de fase aguda e, ainda, à produção do leite e colostro durante a lactação. Em mulheres gestantes, Haram et al. (1983) observaram redução de albumina a partir do 4<sup>o</sup> mês de gravidez, também confirmando que a biossíntese de outras proteínas de igual prioridade para o crescimento e sobrevivência dos fetos explicam o perfil de albumina durante a gestação. A diminuição tanto dos níveis proteicos, como da albumina sérica ao longo da gestação pode ser, adicionalmente, atribuído à hemodiluição, por aumento do volume sanguíneo característico do período gestacional (Concannon et al. 1977).

As concentrações de  $\alpha$ 1-globulina nas fêmeas gestantes sofreram acréscimo significativo a partir da 2<sup>a</sup> semana, fato também descrito por Haram et al. (1983) em mulheres grávidas. Contudo, diferença estatística entre os grupos NG e G ocorreu somente na 8<sup>a</sup> e 9<sup>a</sup> semanas, coincidindo com a fase de preparação à parição. Haram et al. (1983) observou igualmente pico de  $\alpha$ 1 globulina próximo ao parto (9<sup>o</sup> mês de gestação). A região de alfa globulinas contém a fração proteica responsável pela resposta orgânica à inflamação e/ou infecção, explicando o aumento desta globulina nas semanas que antecedem ao parto.

Por volta de três décadas atrás, Gentry & Liptrap (1981) observaram mudanças nos valores de fibrinogênio plasmático em cadelas gestantes, não sendo o mesmo verificado nos animais em diestro. Atribui-se o aumento de fibrinogênio à invasão do embrião ao endométrio (Eckersall et al. 1993). Portanto, a resposta do organismo materno a este evento pode gerar reação inflamatória generalizada, com aumento das proteínas de fase aguda na cadela ges-

tante, principalmente após o estabelecimento dos sítios de implantação do embrião no endométrio (Vannucchi et al. 2002). A maioria das proteínas de fase aguda fazem parte da região de  $\alpha$ 2-globulina do fracionamento de proteínas séricas, portanto, a dosagem desta globulina permite a avaliação global do processo inflamatório. No presente estudo, houve diferença no perfil de  $\alpha$ 2-globulina entre a 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> semanas de gestação, porém tais valores não diferiram das fêmeas em diestro. Diferença significativa de  $\alpha$ 2-globulina foi observada apenas durante a 4<sup>a</sup>, 5<sup>a</sup>, 6<sup>a</sup>, 8<sup>a</sup> e 9<sup>a</sup> semanas entre os dois grupos avaliados. Aumento nas concentrações de  $\alpha$ 2-globulina também foi observado a partir do 4<sup>o</sup> mês de gestação em mulheres (Haram et al. 1983).

As concentrações séricas de  $\beta$ -globulina nas cadelas não-gestantes foram superiores às das fêmeas gestantes durante a 2<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 7<sup>a</sup> semanas. Houve aumento desta globulina a partir da 2<sup>a</sup> semana de gestação, até atingir seu pico máximo na semana da parição, resultado semelhante ao trabalho de Haram et al. (1983). A fração das  $\beta$ -globulinas compreende a transferrina, hemopexina e plasminogênio, proteínas envolvidas nos processos de coagulação (Jain 1986). Portanto, pode-se inferir que o aumento de  $\beta$ -globulinas ao final da gestação em cadelas seja um mecanismo fisiológico de preparação ao parto, para controle da hemorragia durante a decidação placentária.

Durante o primeiro terço da gestação nas cadelas (1<sup>a</sup> a 3<sup>a</sup> semana), foi observado queda dos valores de  $\gamma$ -globulina, coincidente ao período pré implantacional e durante a formação dos sítios de implantação. Fisher & Fisher (1981) também evidenciaram queda de 40-45% de tal globulina 21 dias após acasalamento, resultado indicador de gestação em cadelas. Em contrapartida, Haram et al. (1983) não observaram mudanças nos valores médios de  $\gamma$ -globulina durante a gestação em mulheres. A região  $\gamma$  do fracionamento de proteínas representa as imunoglobulinas monoclonais (IgA, IgG e IgM) (Sevelius & Andersson 1995), portanto, queda na concentração desta globulina durante a fase citada pode sugerir a não rejeição dos embriões pelo organismo materno, por meio da diminuição da possível resposta imunológica. Nestas circunstâncias, a concentração de proteínas séricas totais pode estar dentro dos parâmetros normais, já que o decréscimo de  $\gamma$ -globulina pode ser compensado pelo acréscimo de  $\alpha$ -globulinas. Portanto, o perfil eletroforético é mais apropriado para revelar o comportamento sérico ou plasmático de proteínas. Nas cadelas, a transferência de imunoglobulinas via placentária ou por fluxo do cordão umbilical ocorre a partir do terço final da gestação, como forma de imunidade passiva à progênie (Stoffel et al. 2000). De fato, entre a 8<sup>a</sup> e 9<sup>a</sup> semanas de gestação, houve acréscimo significativo de  $\gamma$ -globulina, possivelmente conseqüente ao aumento da produção de imunoglobulinas direcionadas ao feto ou à glândula mamária, como constituinte do colostro.

A área de reprodução em cães tem carência em linhas de pesquisa nas quais o principal enfoque seja entender e estabelecer referências para a fisiologia da espécie. A fêmea gestante, seja de qualquer espécie, merece especial atenção, já que apresenta variações fisiológicas evidentes. O presente trabalho mostrou alterações específicas das

cadelas gestantes e contribui para elucidar tópicos de inter-relação entre os fenômenos da prenhez. Valores de referência para os diversos parâmetros avaliados foram propostos, tanto para cadelas gestantes como não gestantes, no intuito de auxiliar a abordagem clínica de tais fêmeas.

### CONCLUSÕES

Nas condições deste estudo e com base nos resultados obtidos foi possível concluir que as proteínas alteram-se de forma evidente durante o período de gestação.

Foi possível inferir diferenças nas funções biológicas das proteínas sanguíneas em cadelas gestantes e não gestantes.

As proteínas determinadas estão envolvidas com o estímulo inflamatório durante a gestação, além dos mecanismos de regulação hormonal, adaptação à gestação e preparação do organismo materno à lactação.

### REFERÊNCIAS

- Batamuzi E.K., Kristensen F. & Jensen A.L. 1996. Serum protein eletrophoresis: potencial test for use in geriatric companion animal health programmes. *J. Vet. Med. A* 43:501-508.
- Cannon D.C., Olitzky I. & Inkpen J.A. 1980. Proteínas, p.437-439. In: Henry R.J., Cannon D.C. & Winkelman J.W.P. (Eds), *Química Clínica: bases y técnicas*. 2ª ed. Editorial JIMS, Barcelona. 862p.
- Concannon P.W., Powers M.E., Holder W. & Hansel W. 1977. Pregnancy and parturition in the bitch. *Biol. Reprod.* 16:517-526.
- Concannon P., Whaley S., Lein D. & Wissler R. 1983. Canine gestation length: variation related to time of mating and fertile of sperm. *Am. J. Vet. Res.* 44:1819-1821.
- Concannon P.W. 2009. Endocrinologic control of normal canine ovarian function. *Reprod. Domest. Anim.* 44:3-15.
- Eckersall P.D., Harvey M.J.A., Ferguson J.M., Renton J.P., Nickson D.A. & Boyd J.S. 1993. Acute phase proteins in canine pregnancy (*Canis familiaris*). *J. Reprod. Fertil.* 47:159-164.
- Fisher T.M. & Fisher D.R. 1981. Serum assay for canine pregnancy testing. *Mod. Vet. Pract.* 62:466.
- Gentry P.A. & Liptrap R.M. 1981. Influence of progesterone and pregnancy on canine fibrinogen values. *J. Small Anim. Pract.* 22:185-194.
- Haram K., Augensen K. & Elsayed S. 1983. Serum protein pattern in normal pregnancy with special reference to acute-phase reactants. *Brit. J. Obstet. Gynecol.* 90:139-145.
- Harvey J.W. & West C.L. 1987. Prednisone-induced increases in serum alpha-2-globulin and haptoglobin concentrations in dogs. *Vet. Pathol.* 24:90-92.
- Jain N.C. 1986. The plasma proteins, dysproteinemias and immune deficiency, p.940-1039. In: Jain E.C. (Ed.), *Schalm's Veterinary Hematology*. Lea and Febiger, Philadelphia. 1232p.
- Jain N.C. 1989. Acute phase proteins, p.468-471. In: Kirk R.W. (Ed.), *Current Veterinary Therapy X: small animal practice*. W.B. Saunders, Philadelphia. 1421p.
- Jain N.C. 1993. The plasma proteins, dysproteinemias, and immune deficiency disorders, p.349-380. In: Jain N.C. (Ed.), *Essentials of Veterinary Hematology*. W.B. Saunders, Philadelphia. 417p.
- Olson P.N., Thrall M.A., Nykes P.M. & Nett T.M. 1984. Vaginal cytology. I. A useful tool for staging the canine estrous cycle. *Comp. Contin. Educ. Pract. Vet.* 6:288-297.
- Prabhakaran V., Kokilaprabhakaran S. & Appajirao V.N. 1996. Haematological values during gestation and lactation in bitches. *Ind. Vet. J.* 73:935-937.
- Royal L., Ferney J. & Tainturier D. 1979. Mise au point sur les possibilites actuelles de diagnostic de la gestation chez les canivores domestiques. *Revue Méd. Vét.* 130:859-860.
- Sevelius E. & Andersson M. 1995. Serum protein electrophoresis as a prognostic marker of chronic liver disease in dogs. *Vet. Rec.* 137:663-667.
- Stoffel M.H., Friess A.E. & Hartmann S.H. 2000. Ultrastructural evidence of transplacental transport of immunoglobulin G in bitches. *J. Reprod. Fertil.* 118:315-326.
- Strufaldi B. 1987. *Práticas de Bioquímica Clínica*. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, p.282-326.
- Vannucchi C.I., Mirandola R.M. & Oliveira C.M. 2002. Acute-phase protein profile during gestation and diestrous: proposal for an early pregnancy test in bitches. *Anim. Reprod. Sci.* 74:87-99.