

## Relación albúmina: globulina plasmáticas en tres épocas del año en vacas de la raza Carora del estado Lara. Venezuela

*Relation albumin: globulins in Carora race cows during three seasons of the year in Lara State, Venezuela*

Matheus, N., Ramírez, F., Salazar C., Leonardi, F. y Bravo, H.

Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA). Decanato de Ciencias Veterinarias.

Cátedra Libre de Ganado Carora. Unidad de Investigación en Ciencias Funcionales

Dr. "Haity Moussatché". Apartado postal 400, Barquisimeto. Venezuela.

### RESUMEN

Muchas funciones como transporte de sustancias, movimiento coordinado, control del crecimiento, soporte mecánico e inmunidad, están basadas en proteínas. El objetivo de este estudio fue caracterizar la relación albúmina/globulinas plasmáticas (A/G) en tres épocas del año (sequía, entrada de lluvia y lluvia) en vacas de la raza Carora. Para este estudio se seleccionaron al azar 23 vacas de la Estación Experimental "Manuel Salvador Yépez" de la Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado", las concentraciones de albúmina y globulinas se determinaron por el método electroforético en acetato de celulosa y la concentración de proteínas totales por el método colorimétrico (Kit Wiener Lab). Se aplicó un ANAVA para determinar si hay diferencias en las concentraciones de proteínas plasmáticas totales en diferentes épocas. Se encontró que la concentración de proteínas plasmáticas totales es mayor en entrada de lluvia con respecto a la sequía y lluvia ( $p < 0,05$ ), por otra parte la relación A/G en las tres épocas fue menor a la unidad. Los resultados obtenidos indican que la época del año afecta la concentración de proteínas plasmáticas totales y que la concentración de globulina en animales en condiciones tropicales es proporcionalmente mayor que la concentración de albúmina.

**Palabras claves:** Proteínas plasmáticas, albúmina, globulinas, vacas Carora.

### ABSTRACT

Proteins have a pivotal function in a variety of processes that include transport of substances and drugs, movement coordinate, control of body growth, mechanical support and immunity, therefore understanding and measuring its relation among them is important in medicine. We are interested in the characterization of the relationship between albumin/globulins throughout three different seasons (dry, begging of rain and rainy season) using Carora Breed dairy cows. In this study 23 cows randomly selected were used in the station Experimental "Manuel Salvador Yopez". The albumin and globulin concentration was determined by electrophoretic technique using cellulose acetate and total protein by colorimetric methods (Kit Wiener Lab). It was observed that total proteins concentration was significantly higher at the beginning of rain that dry, and rainy season ( $p < 0,05$ ), furthermore, albumin/globulin ratio in the three different seasons was lower that one. These results suggest a clear seasonal variation in the total plasma protein concentration and the globulin concentration, in tropical animals is proportionally higher that the albumin concentration.

**Key words:** Plasma protein, albumin, globulin, Carora race.

### INTRODUCCIÓN

La sangre está constituida por un 5-7% de moléculas proteicas, llamadas proteínas plasmáticas, las cuales están suspendidas en el plasma sanguíneo. Estas proteínas tienen diferentes funciones como transporte de sustancias, mantenimiento de la presión oncótica, inmunidad humoral, entre otras, lo que contribuye al mantenimiento de la homeostasis. Las características químicas y pesos

moleculares de estas proteínas, han permitido clasificarlas en: albúmina, globulinas y fibrinógeno. Las globulinas de acuerdo a su movilidad en el campo eléctrico se clasifican en: alfa, beta y gamma globulinas, sintetizadas en su mayoría a nivel hepático con excepción de las gamma globulinas que son sintetizadas por las células plasmáticas (Ganong, 2000).

La concentración de proteínas plasmáticas

totales y fraccionadas (albúmina,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  globulinas) representan un método de diagnóstico que refleja situaciones patológicas en múltiples sistemas orgánicos como lo son: deficiencia proteica severa, malnutrición, malabsorción, enfermedades hepáticas y renales entre otras (Larson et al. 1980). Su determinación junto con: hematocrito, hemoglobina, glucosa sanguínea, urea, calcio, fosfato inorgánico, magnesio, potasio, sodio, cobre y el hierro, son uno de los principales análisis químicos sanguíneos que forman parte del test de perfil metabólico de las vacas lecheras, siendo éstos indicadores confiables de alteraciones sanguíneas en los rebaños lecheros afectados por enfermedades que alteran la eficiencia de conversión proteica y el retorno financiero. El perfil metabólico del rebaño constituye el primer prerrequisito para maximizar un programa de manejo (Parker et al. 1976).

Los valores referenciales de la concentración de proteínas plasmáticas, son obtenidos de investigaciones realizadas en países donde las condiciones ambientales y por ende, el manejo de los animales es muy diferente a las tropicales. Esto junto con el aumento considerable de la aplicación de los análisis clínicos, especialmente de la química sanguínea para el diagnóstico preciso de patologías en animales, son las razones que motivaron la realización de este estudio, que tiene como objetivo general: Determinar la concentración de proteínas totales y la relación albúmina/globulina plasmáticas en tres épocas del año (sequía, entrada de lluvia y lluvia) en vacas de la raza Carora del estado Lara.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **A. Diseño de Investigación**

Está enmarcado dentro de la investigación de campo, en el cual se aplica el método científico en el tratamiento de las variables y sus relaciones, lo que permite concluir y dar recomendaciones.

### **B. Área de Estudio, Población y Muestra**

Este Trabajo fue llevado a cabo en la estación experimental "Manuel Salvador Yépez", explotación lechera con un manejo semi-intensivo, ubicada en la población de Torrellero en el municipio Simón Planas del Estado Lara, zona enmarcada como bosque seco tropical de acuerdo a la clasificación climática de las zonas de vida Holdridge (Ewel et al. 1976). Presenta

una temperatura media anual de 26,45°C, evaporación de 133,47mm, precipitación 139,9mm, con una distribución de las lluvias que permitió dividir el año en varias épocas a saber:

Época de Sequía: Enero -Marzo

Época de Entrada de Lluvia: Abril y Mayo

Época de Lluvia: Junio -Octubre

Época de Salida de Lluvia: Noviembre y Diciembre.

Se seleccionaron al azar, a través de un muestreo aleatorio simple, 23 vacas raza Carora de una población de 122 bovinos, con una edad 3-4 años, diferentes estados reproductivos y productivos, una media de peso corporal de 420Kg y de condición corporal de 3, utilizándose una escala del 1 al 5 de acuerdo al método subjetivo de apreciación visual propuesto por el National Institute For Research in Dairy (NIRD) modificado por Fattet (1988) y utilizado en Venezuela por Domínguez *et al.* (1996) y Martínez *et al.* (1996). Las vacas seleccionadas para la primera toma de muestra persistieron durante todo el estudio.

## **C. Técnicas de Levantamiento de Información**

### **1. Toma de Muestra**

Las muestras de sangre se extrajeron de la vena yugular y fueron recolectadas en tubos vacutainer (Becton Dickinson and company, USA) de 7 ml con anticoagulante (EDTA) e identificadas. Las mismas fueron tomadas antes del ordeño de la mañana, 3 veces durante el año. Época de sequía: 03 de Marzo 2000, época de entrada de lluvias: 13 de Abril 2000 y época de lluvias: 07 de Junio 2000.

Las muestras fueron transportadas posteriormente en una cava con hielo hasta la Unidad de Investigación en Ciencias Funcionales "Dr. Haity Moussatché" (UNIHM) del Decanato de Ciencias Veterinarias.

Se centrifugaron a 3000rpm por 20 minutos en una centrífuga Clay Adams modelo 21152 (Sparks, MD. USA), a continuación se les extrajo el plasma con una pipeta Pasteur, se transfirieron a un tubo de almacenamiento y se conservaron a -20°C en un freezer Revco Scientific (Asheville, NC. USA), hasta su procesamiento por duplicado para medir la concentración de proteínas plasmáticas totales y realizar la corrida electroforética.

## 2. Concentración de Proteínas Plasmáticas

La concentración de proteínas plasmáticas totales fue determinada por el método colorimétrico descrito por Rojkin *et al.* (1974), mediante el Kit de Wiener Lab (Rosario, Argentina) cuyo fundamento se basa en la reacción de los enlaces peptídicos de las proteínas con el ión cúprico, en medio alcalino, para dar un complejo color violeta a una temperatura de 37°C en un baño de María por 15 minutos, cuya intensidad es proporcional a la concentración de proteínas totales de la muestra. Se utilizó como estándar una solución de albúmina y globulinas en estado nativo con títulos conocidos de proteínas. Se procedió a leer su absorbancia en un espectrofotómetro Spectronic 21 (Rochester, NY, USA) a una longitud de onda de 540 nm. Los resultados quedaron expresados en g/dl de proteínas totales.

## 3. Concentración de Proteínas fraccionadas

La concentración de proteínas fraccionadas se determinó por el método de electroforesis en acetato de celulosa para proteínas de Helena Laboratories. La muestra de plasma fue corrida por 15 minutos a 180 voltios y coloreada con Ponceau S por 6 minutos, luego la lámina de acetato fue lavada en solución de ácido acético al 5% tres veces en 2 minutos, posteriormente se deshidrató con metanol durante 10 segundos, se clarificó durante 5 minutos con una solución que contiene 30 partes de ácido acético glacial, 70 partes de metanol absoluto y 4 partes de Clear Aid. Posteriormente fue llevada a una estufa a 60°C por 15 minutos.

La lectura se realizó utilizando un densitometro con filtro de 525 nm (Helena Laboratories) evidenciándose las zonas de la albúmina,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  globulinas. (Keay y Doxey, 1984).

### D. Análisis Estadístico

Los datos fueron procesados en el paquete estadístico SPSS versión 7.5, para Windows, a los cuales se aplicó un Análisis Descriptivo, Se utilizó un ANAVA para determinar el efecto de la época del año sobre la concentración de proteínas plasmáticas totales. Las medias fueron consideradas estadísticamente significativas con un  $p < 0,05$  (Bravo y Paparella, 1992).

## RESULTADOS

Las concentraciones de proteínas obtenidas fueron sometidas a un análisis estadístico (ANAVA). En la figura 1 puede observarse que la concentración de proteínas totales y albúmina en la entrada de lluvia son mayores estadísticamente que las encontradas en la época de sequía y lluvia ( $p < 0,05$ ).

La concentración de b-globulina es mayor en época de entrada de lluvia y lluvia si la comparamos con la época de sequía ( $p < 0,01$ ), por otra parte la concentración de  $\gamma$ -globulina es mas elevada en época de sequía y entrada de lluvia que en época de lluvia ( $p < 0,01$ ) (Figura 1).

Los valores obtenidos en la concentración de globulinas totales, en todas las épocas de muestreo, fueron superiores a la concentración de albúmina (Figura 2). La relación albúmina/globulina (A/G) presentaron valores inferiores a la unidad, esto puede ser evidenciado en la figura 1 en donde se observa que del 100% representado por la concentración de proteínas plasmáticas totales, el mayor porcentaje está dado por las globulinas, siendo la albúmina porcentualmente menor al 50%.

El estudio electroforético permitió determinar que de la concentración total de globulinas el mayor porcentaje está representado por las gammaglobulinas (Figuras N°1, 2 y 3). La concentración de esta fracción es inferior en la época de lluvia ( $p < 0,01$ ).

## DISCUSIÓN

La síntesis de proteínas plasmáticas puede ser afectada según Rottshild *et al.* (1988), por factores ambientales, nutricionales, enfermedades agudas, crónicas, factores fisiológicos como preñez, lactación, edad, cambios hormonales y stress (Putnam, 1960). En este estudio se evidenció que la concentración de proteínas también puede verse afectada por la época del año, resultados que coinciden con los obtenidos por Hyvarinen *et al.* (1975), los cuales indicaron que existe un claro cambio estacional en la concentración de proteínas plasmáticas totales y sus fracciones, siendo estas concentraciones elevadas en época de verano, acentuándose este incremento en época de primavera.

De igual manera, Marai *et al.* (1999), en Africa Sahariana en animales importados, reportaron que la concentración de proteína

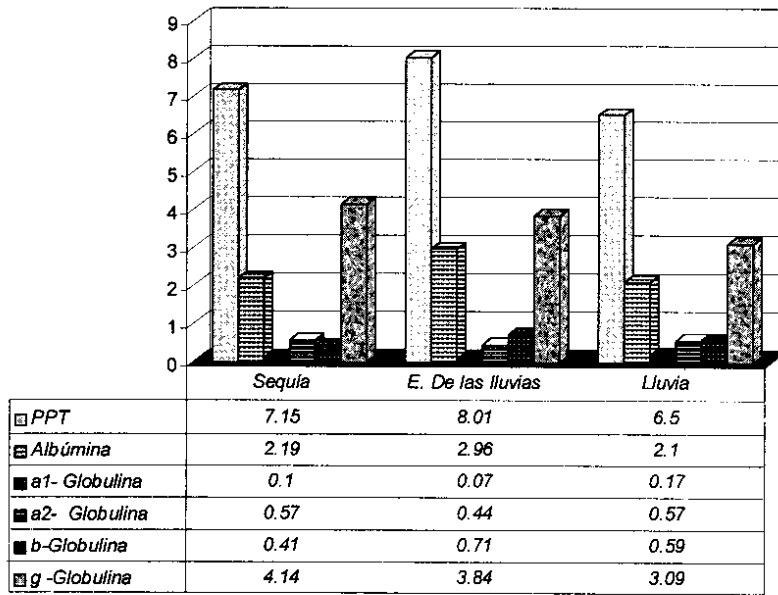


Figura 1. Perfil protéico en vacas raza Carora muestreadas en tres épocas del año

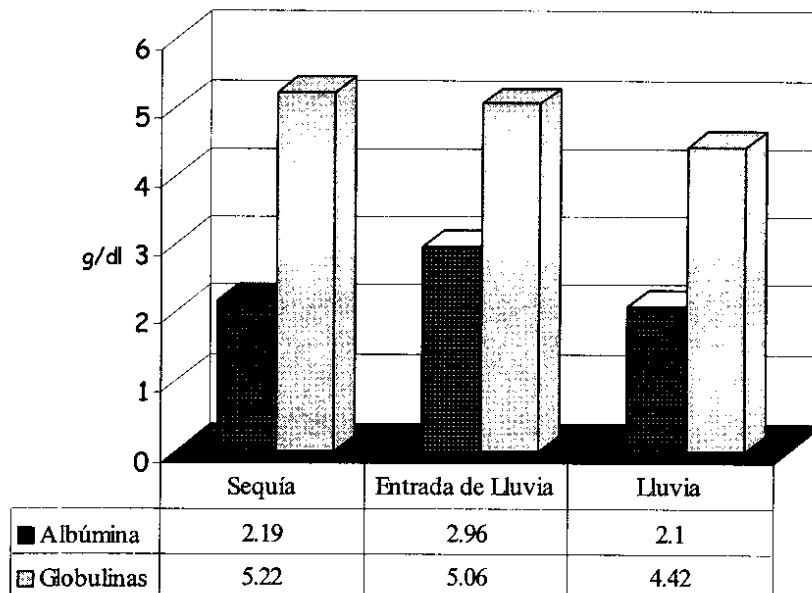
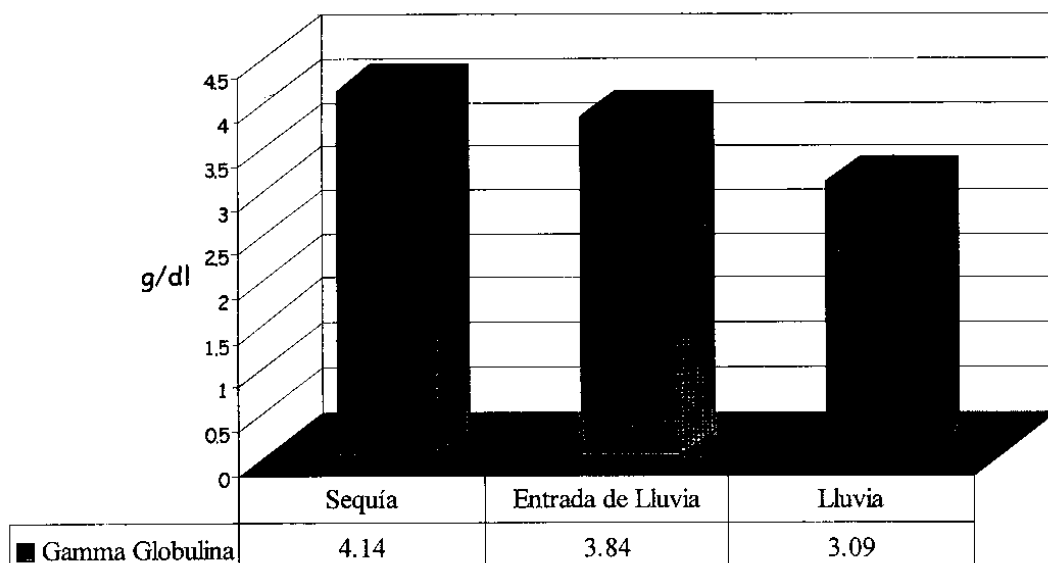


Figura 2. Niveles protéicos de albúminas y globulinas en vacas raza Carora en tres épocas del año



La concentración de gamma globulina en Lluvia es inferior ( $p < 0.01$ )

Figura 3. Concentración total de  $\gamma$  globulina en vacas raza Carora en tres épocas del año

sérica total entre otros cambios fisiológicos y bioquímicos, se ven disminuidos en aquellas vacas que no estén adaptadas a las condiciones de temperaturas elevadas, durante los meses de verano.

Los cambios en la temperatura así como en la distribución de las lluvias, influyen en el desarrollo y calidad de los pastos, siendo esta la principal fuente nutritiva para los rumiantes en condiciones tropicales. Por lo tanto, cambios ambientales pueden afectar la concentración de proteínas plasmáticas.

Los valores obtenidos en las proteínas plasmáticas totales, resultaron similares a los reportados por Di Michele *et al.* (1978), en un estudio realizado en bovinos mestizos del estado Carabobo y Guarico, y por los reportados en las literaturas referenciales para Venezuela (Coles, 1989; Perk y Lobl, 1961; Putnam, 1960).

La concentración de albúmina, globulinas totales y la relación Albúmina/Globulina en este estudio, no coincide con los valores reportados por los autores de las literaturas de referencia. En todas las épocas de muestreo, la concentración de albúmina fue inferior a la concentración de globulinas, por lo tanto la relación albúmina/globulina (A/G) presenta

valores inferiores a la unidad. Datos similares fueron obtenidos por Fasano y Otaiza en la región Centroccidental y reportados por Di Michele *et al.* (1978), Parra *et al.* (1999). Este fenómeno puede ser debido en Venezuela, a la respuesta inmunológica del organismo animal al ataque de agentes infecciosos a los cuales está expuesto frecuentemente. Whitaker *et al.* (1999), reportaron resultados similares en un trabajo llevado a cabo en varios países incluyendo Venezuela, explicando que esto se debe a la presencia de gran cantidad de enfermedades inflamatorias que afectan a los rebaños.

En animales lecheros, la disminución de la concentración de albúmina puede ser debida a una disminución proteica en la dieta, lo que puede provocar una reducción continua en la síntesis de proteínas como albúmina y hemoglobina. La severidad de la hipoalbuminemia, va a depender de la relación entre la ingesta de proteína y la secreción de leche (Manston *et al.*, 1975). Smith *et al.* (1994), reportaron que la concentración de albúmina durante la depleción proteica y energética, no es mantenida a expensas de la albúmina extravascular, pero sí se puede ver afectada por cambios en la tasa de catabolismo y síntesis.

De igual manera, Manston *et al.* (1975) reportaron que el contenido de proteína en la dieta en vacas lactantes puede afectar a largo plazo la concentración de albúmina plasmática. Esto puede explicar la disminución en la concentración de albúmina encontrada en este estudio, ya que en condiciones tropicales la disponibilidad de alimento en época de sequía es baja.

El contenido de proteínas totales es similar al encontrado por Latorre, S. y col. (2000) en su estudio de 16 fincas en Colombia con diferentes sistemas de alimentación. Los índices encontrados en este análisis, corresponden al de las vacas en fincas sin suplementación del estudio de Latorre. Esta similitud nos hace reflexionar de un posible insuficiente aporte proteico en las dietas de las vacas de la Estación Experimental. Latorre y col. Encontraron en vacas suplementadas un rango de 9 a 14 g/dl de proteínas totales.

#### CONCLUSIONES

En las vacas Carora de la estación experimental "Manuel Salvador Yépez", la concentración de proteínas plasmáticas totales y albúmina en la entrada de lluvia son estadísticamente mayores que las encontradas en la época de sequía y lluvia.

La concentración de  $\beta$ -globulina es mayor en época de entrada de lluvia y lluvia con respecto a la época de sequía y la concentración de  $\gamma$ -globulina es más elevada en época de sequía y entrada de lluvia que en época de lluvia.

La relación albúmina/globulina en todas las épocas estudiadas fue inferior a la unidad. El mayor porcentaje de globulinas está representado por las gammaglobulinas.

Estos resultados son de gran valor, porque constituyen un índice importante para evaluar la calidad de la dieta, de igual manera, constituyeron la base para la realización de otros estudios donde se relaciona la concentración de proteínas plasmáticas con diferentes parámetros reproductivos, productivos e indicadores del crecimiento

#### CITAS BIBLIOGRAFICAS

**BRAVO, H. & Papparrella, L.** 1992. Estadística Aplicada para el Sector Agrícola: Conceptos, Procedimientos y Aplicaciones. Tomo I. Decanato de Ciencias Veterinarias. UCLA.

Barquisimeto, estado Lara.

**COLES, E.** 1989. Diagnóstico y Patología en Veterinaria. 4 ed. Interamericana McGraw Hill. México.

**DI MICHELE DE, R., Otaiza, V., et al.** 1978. Valores Hematológicos y de la Química Sanguínea en Bovinos de los Estados Carabobo y Guarico III. Proteínas Séricas, Nitrógeno Ureico y Creatinina. *Agronomía Tropical*. 28 (3): 233-248.

**DOMÍNGUEZ, C., Martínez, N., et al.** 1996. Effects of Strategic Feed Supplementation with Multinutrient Block on Productive and Reproductive Performance in Dual Purpose Cows. En: *Development of Feed Supplementation Strategies for Improving Ruminant Productivity on Small-Holder Farms in Latin-America through the use of Immunoassay Techniques*. IAEA-TECDOC-877. IAEA, Vienna. 97-105pp.

**EWEL, J., Madriz, A., et al.** 1976. Zonas de Vida de Venezuela. Memoria Explicativa sobre el Mapa Ecológico. República de Venezuela. M.A.C.

**FATTET, I., & Jaurena, G.** 1988. El Estado Corporal de las Vacas Lecheras. Hemisferio Sur. Buenos Aires.

**GANONG, W.** 1998. En *Fisiología Médica*, 16a Ed. Manual Moderno. México.

**HYVÄRINEN, H., Helle, T., et al.** 1975. Seasonal and Nutritional Effects on Serum Proteins and Urea Concentration in the Reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*). *Br. J. Nutr.* 33(1): 63-72.

**KEAY, G. & Doxey L.** 1984. Serum Protein Values from Healthy Ewes and Lambs of Various Ages Determined by Agarose Gel Electrophoresis. *Br. Vet. J.* 140, 85.

**LARSON, L., Mabruck, H., et al.** 1978. Relationship between Early Postpartum Blood Composition and Reproductive Performance in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.*, 63: 283-289.

**LATORRE, S., Alvarado, J., et al.** 2000. Subproductos Agrícolas para Nutrición de Rumiantes. Boletín de investigación N° 1. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. Programa Nacional de Transferencia de Tecnología. 10-23pp

**MANSTON, R., Russell, A., et al.** 1975. The Influence Dietary Protein upon Blood Composition in Dairy Cows. *Vet. Rec.* 96(23): 497-502.

- MARAI, A., Habeeb, A., et al.** 1999. Productive, Physiological and *Biochemical* Changes in Imported and Locally Born Friesian and Holstein Lactating Cows under Hot Summer Condition of Egypt. *Trop. Anim. Health. Prod.* 31(4): 233-243.
- MARTÍNEZ, N., Escobar, A., et al.** 1996. Effects of strategic feed supplementation on productive and reproductive performance in dual purpose cows. En: development of feed supplementation strategies for improving ruminant productivity on small-holder farms in latin-america through the use of immunoassay techniques. IAEA-TECDOC-887. IAEA, Vienna. 97-105pp.
- PARKER, B., & R. Blowey.** 1976. Investigations into the relationship of Selected Blood Components to Nutrition and Fertility of the Dairy Cow under Commercial Farm Conditions. *The Veterinary Record. Papers and Articles.* May 15.
- PARRA, O., Ojeda, A., et al.** 1999. Blood Metabolites and their Relationship with Production variables in Dual-Purpose Cows in Venezuela. *Pre. Vet. Med.* 27;38(2-3): 133-45.
- PERK, K., & Lobl, K.** 1961. Chemical and Electrophoretic Studies of the Serum of Cattle Infected Naturally with Asia. I Type Foot and Mouth Disease Virus. *Am. J. Vet. Res.* 22, 217-223.
- PUTNAM, F.** 1960. *The Plasma Proteins.* Volumen II. Academic Press. New York and London.
- ROJKIN, M. L., Alguin DE M., et al.** 1974. Proteínas totales del suero. Causas mas frecuentes del error en la reacción del Biuret. Nuevo reactivo cuproalcalino estable. *Vigo del Atlántico.* VI/63: 1931.
- ROTHSCHILD, M., Oratz, M. et al.** 1988. Serum albumin. *Hepatology.* 8(2): 385-401.
- SMITH, G., Weidel, S. et al.** 1994. Albumin catabolic rate and protein-energy depletion. *Nutrition.* 10(4):335-41.
- WARREN, S., L. Liao., et al.** 1986. Changes in plasma albumin concentration, synthesis rate, and mRNA level during acute inflammation. *Am. J. Physiol.* 251 (6 Pt 1): C928-934.
- WHITAKER, D., Goodger, W., et al.** 1999. Use of metabolic profiles in dairy cattle in tropical and subtropical countries on smallholder dairy farms. *Prev Vet Med.* 27;38 (2-3):119-31.