

**Influencia del desarrollo, sexo y tipo de destete
sobre algunas Actividades enzimáticas en plasma de terneros cruza cebú**

*Coppo, José A. - Coppo, Norma B. - Slanac, Alcides L.
Revidatti, María A. - Capellari, Adriana*

Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE.
Sargento Cabral 2139 - (3400) Corrientes - Argentina.
Tel: +54 (03783) 423464 - Fax +54 (03783) 425753 - E-mail: jcoppo@vet.unne.edu.ar

ANTECEDENTES

Las enzimas plasmáticas constituyen fuentes de información para indagar diferentes trastornos metabólicos del ganado ^{2,9}. Sus valores de referencia son bien conocidos en bovinos adultos ^{6,8,11}, no así en terneros, especialmente en los provenientes del cruzamiento cebú x británico, los más abundantes en el nordeste argentino. El objetivo del presente trabajo fue obtener intervalos de referencia para algunas actividades enzimáticas en terneros "media sangre cebú" entre el segundo y sexto mes de vida, así como indagar las eventuales modificaciones provocadas por el destete precoz (60 días) con relación al destete convencional (180 días).

MATERIALES Y MÉTODOS

Bajo un diseño prospectivo de medidas repetidas en el tiempo, se utilizaron 120 terneros cruza cebú de 2 meses de edad y 60-90 kg de peso, clínicamente sanos, 50% de cada sexo (machos castrados), en lactación al pie de madre. Los trabajos se realizaron en un establecimiento cercano a la ciudad de Corrientes, provisto de pasturas naturales. Se partitionaron dos lotes de 60 animales cada uno, identificándolos con caravanas. El lote *experimental* fue sometido a destete precoz (día 0) y el lote *control* fue mantenido en amamantamiento hasta la fecha del destete convencional (día 120). Los animales destetados fueron suplementados con un alimento balanceado (16% proteínas, EM = 2.77 Mcal/kg MS) al 1.5% PV. Ambos lotes fueron objeto de pesajes y extracciones de sangre durante los días 0, 7, 14, 21, 28, 60, 90 y 120, en horario matutino y bajo condiciones basales. Las enzimas se valoraron en suero acorde a las siguientes técnicas: Fosfatasa Alcalina (ALP, p-nitrofenilfosfato, 405 nm, reactivos Boehringer), Gamma Glutamil Transpeptidasa (GGT, p-nitroanilida, 405 nm, Wiener), Creatinfosfokinasa (CPK, ATP-cisteína, 334 nm, Wiener), Lactatodehidrogenasa (LDH, NADH-piruvato, 340 nm, Wiener) y Aspartato Aminotransferasa (AST, NADH-oxoglutarato, 334 nm, Wiener). Estadísticamente, la distribución normal se verificó por test de Wilk-Shapiro, obteniéndose medidas paramétricas de tendencia central (X), dispersión (DE) y riesgo (IC±95%), así como correlaciones (Pearson). Las diferencias entre sexos se investigaron por *covariancia* (bloques completos). El análisis de la variancia (Anova) incluyó los efectos *tratamiento* (destete precoz), *tiempo* (desarrollo) e *interacción* entre ambos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la *Figura 1* se detalla la evolución de ALP durante el desarrollo de los terneros de ambos lotes. Se advierte una paulatina pero constante declinación de esta actividad enzimática a lo largo de los 120 días de ensayo, ocurrida tanto en animales experimentales como controles. En efecto, habiéndose iniciado en niveles de alrededor de 460 UI/l, los valores finales se acercaron a 330 UI/l. Los rangos individuales extremos se ubicaron en 561 UI/l (día 0) y 256 UI/l (día 120). El elevado índice alcanzado por el test de Wilk-Shapiro aseguró la simetría gaussiana en todas las fechas de muestreo. Los intervalos de confianza revelaron, con 95% de seguridad, que ambos lotes permanecieron en una misma población estadística. No hubo significación estadística para el *efecto tratamiento*, pero sí para el *efecto tiempo*. Los animales precozmente destetados correlacionaron negativamente esta declinación enzimática con los aumentos de CPK (-0.98, p = 0.001) y LDH (-0.89, p = 0.002). Para bovinos adultos los valores de ALP se situarían en 200 UI/l ⁶, 220 UI/l ¹¹, 178 UI/l ³ y 170 UI/l ⁴. Algunos autores comunican márgenes tan amplios como 50 a 400 UI/l ¹ y 68-320 ⁹. Tal

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE
Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2000

disparidad bien podría responder a la utilización de distintas técnicas para su dosaje, habida cuenta que los diferentes métodos (cinético, punto final, optimizado) arrojan disímiles resultados. Para terneros los valores serían en general más altos, enmarcando en 309 UI/l⁷ y 315 UI/l⁶. La ontogenia sería una de las causas más importantes de disminución de ALP^{2,11}. Niveles superiores a 300 UI/l -propios de los terneros- se reducirían a 200 UI/l en la adultez⁶. Las elevadas tasas de ALP en la joven edad se deberían a la isoenzima ósea de esta actividad, indicadora del crecimiento de dicho tejido^{2,10}. El destete precoz no provocó cambios importantes sobre esta actividad enzimática, lo que permitiría descartar que la disminución de ALP se haya debido a razones nutricionales, dado que declinó tanto en animales destetados como en aquéllos amamantados al pie de madre. Atribuimos el paulatino, progresivo y homogéneo decremento de este analito a la ontogenia, avalados por la alta significación estadística detentada por el *efecto tiempo* en el Anova.

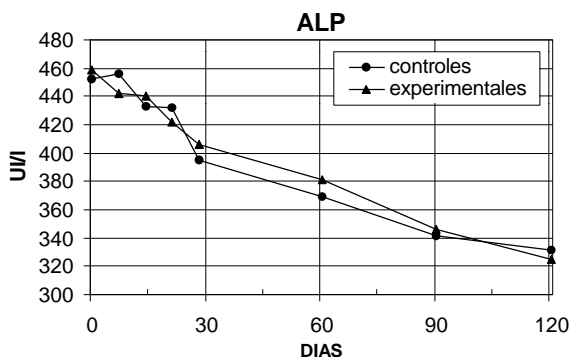


Figura 1: Fosfatasa Alcalina.

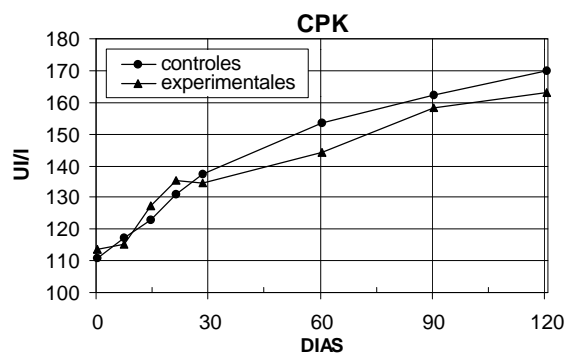


Figura 2: Creatinfosfokinasa.

La *Figura 2* ilustra el importante incremento experimentado por CPK a lo largo del ensayo, tanto en animales destetados como controles. La tendencia ascendente queda refrendada al constatar las diferencias entre promedios iniciales y finales (112 vs 166 UI/l). En cada fecha de muestreo, las diferencias entre ambos lotes fueron poco marcadas. Los rangos individuales más separados entre sí ocurrieron entre el día 0 (63 UI/l) y el día 120 (255 UI/l). Hubo normalidad distributiva (Wilk-Shapiro) y homogeneidad poblacional (intervalos de confianza $\pm 95\%$). El incremento de CPK en terneros testigos y experimentales (*efecto tiempo*) fue altamente significativo. No resultaron significativos el *efecto tratamiento* ni la *interacción tratamiento x tiempo*. Los aumentos de CPK de los terneros destetados correlacionaron positivamente con los incrementos de LDH (+0.85, $p = 0.005$) y negativamente con las declinaciones de ALP (-0.98, $p = 0.001$) y AST (-0.75, $p = 0.02$). Existe gran disparidad entre los niveles reportados como fisiológicos para el bovino adulto, quizás a consecuencia de haberse utilizado distintas técnicas de laboratorio en la valoración de CPK. Para algunos autores el intervalo de referencia oscilaría entre 5 y 12 UI/l⁹, 40 UI/l⁸, 40 a 60 UI/l⁶ y hasta 110 UI/l¹. En ocasiones anteriores nuestro grupo de trabajo halló en vacas actividades de 176 ± 83 UI/l³ y de 103 ± 15 UI/l⁵. En terneros los valores de CPK serían más bajos que en adultos, ubicándose en 30-50 UI/l⁶. Los trastornos de músculos cardíaco y esquelético constituirían la principal causa de alteración de esta actividad enzimática en animales domésticos^{2,6}. Con relación a las masas musculares, CPK aumentaría su concentración plasmática en las distrofias y excesivo ejercicio físico⁸. Animales con sangre cebú ostentarían niveles más elevados de la enzima que los verificados en ejemplares de sangre británica³. En virtud del sostenido incremento de la actividad enzimática en plasma de animales controles y experimentales, que se reveló directamente proporcional al avance de la edad y acusó un *efecto tiempo* altamente significativo, necesariamente debe concluirse que dicho comportamiento se debería a la ontogenia.

La *Figura 3* relata que AST mostró similares actividades plasmáticas en los promedios de animales experimentales y controles, tanto al comienzo de los ensayos (alrededor de 32 UI/l) como al final (30 UI/l). Si bien las curvas sugieren tendencias declinantes, la magnitud de tales cambios fue muy escasa. En todos los muestreos hubo distribución normal (Wilk-Shapiro) y homogeneidad poblacional entre animales controles y experimentales, pues los IC $\pm 95\%$ cubrieron holgadamente las medias de cada fecha. El Anova para medidas repetidas arrojó significación estadística para el *efecto tiempo* (leve declinación) pero no fueron significativos

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE
Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2000

ni el *efecto tratamiento* ni la *interacción tratamiento x tiempo*. Esta enzima correlacionó con LDH (-0.70, $p = 0.05$) y CPK (-0.75, $p = 0.02$). En bovinos adultos la actividad plasmática de AST se ubicaría en 15 a 35 UI/l¹, 38 a 50 UI/L¹⁰, 55 UI/l³, 45 UI/l⁴, 56 UI/l¹¹, 80 UI/l⁶ y 78 a 132 UI/l⁹. En terneros de otras razas habría sido encontrada en niveles de 19 a 27 UI/l⁹, 18 a 30 UI/l¹⁰, 33 a 45 UI/l⁷ y 30 UI/l⁶.

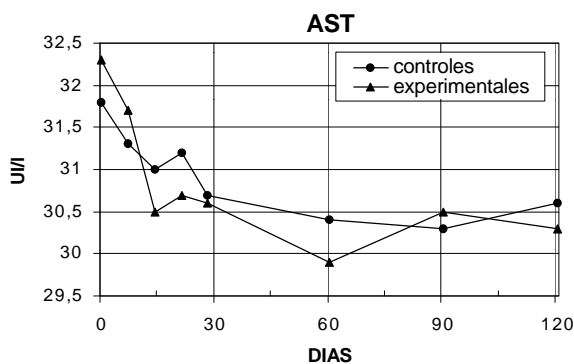


Figura 3: Aspartato Aminotransferasa

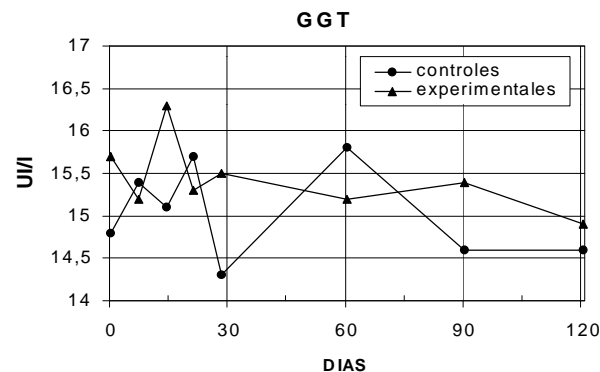


Figura 4: Gamma Glutamil Transpeptidasa

La ontogenia tendería a incrementar esta actividad enzimática en el plasma del bovino. En efecto, citando valores máximos reportados por algunos autores, surge que desde la etapa de ternero hasta animal adulto, AST se elevaría desde 19 hasta 132 UI/l⁹, desde 18 hasta 50 UI/l¹⁰ y desde 30 hasta 80 UI/l⁶. Exceptuando una ligera variación en el tiempo, cabría aseverar que esta enzima no fue modificada por el destete precoz. Nuestra “declinación” debería en realidad ser considerada como una fluctuación entre valores normales, pues de punta a punta la diferencia media fue de solamente 2 UI/l. La aparente contradicción entre esta “declinación” y el supuesto aumento que debería estar ocurriendo para alcanzar valores de adulto podría no ser tal, pues la enzima podría elevarse *a posteriori* de los 6-7 meses de edad (allí concluyó nuestra evaluación).

La *Figura 4* exhibe el irregular comportamiento de GGT, donde no se advierten tendencias manifiestas en animales experimentales ni controles. Pese a los altibajos, puede inferirse que hubo homogeneidad entre ambos lotes, que iniciaron los ensayos con promedios de 15.2 UI/l y culminaron con 14.7 UI/l. Hubo elevada dispersión de los valores de esta enzima, tal como lo reflejan rangos individuales mínimos de 4 y máximos de 39 UI/l. El test de Wilk-Shapiro en algunos casos (día 0 = 0.964, día 120 = 0.953) apenas logró superar el valor de tabla (0.947). No obstante, los intervalos de confianza aseguraron que -en cada fecha- los terneros experimentales y controles pertenecían a una misma población, con 5% de riesgo. El Anova (medidas repetidas) fue no significativo para los *efectos tratamiento* ni *tiempo*, como así tampoco para la *interacción* entre ambos. GGT no discriminó entre lotes experimentales y controles; tampoco varió con el transcurrir del tiempo ni correlacionó con el resto de los parámetros estudiados. La actividad GGT en plasma de bovinos adultos oscilaría entre 20 y 27 UI/l⁶. En vacas cruce cebú de nuestra zona de influencia, fue hallada en niveles medios de 24 UI/l³ y 17-18 UI/l⁴. En terneros habría una mayor dispersión, habiéndose reportado límites entre 18 y 34 UI/l⁶ y hasta 42 UI/l⁷. La mayor parte de las publicaciones se ocupa de las modificaciones de esta enzima como consecuencia del daño hepático^{1,2,6}. La actividad GGT fue similar en lotes experimentales y controles (*efecto tratamiento*) y no varió en función del crecimiento (*efecto tiempo*); tampoco correlacionó con las otras enzimas.

La *Figura 5* indica que LDH obtuvo promedios iniciales de 597 y 571 UI/l en lotes control y experimental respectivamente. La media general inicial se ubicó en 584 UI/l. Hacia el final hubo mayor homogeneidad (controles: 584 UI/l, experimentales: 592 UI/l), con media general de 588 UI/l. Entre los días 0 y 120, los rangos individuales extremos fluctuaron entre 355 y 839 UI/l. Los intervalos de confianza de ambos lotes revelaron homogeneidad poblacional en cada uno de los ocho muestreos y la distribución fue gaussiana. El análisis de la variancia para medidas repetidas no fue significativo para los *efectos tratamiento* ni *tiempo*, como tampoco para la *interacción tratamiento x tiempo*. LDH mostró alto grado de correlación negativa con ALP (-0.89, $p = 0.002$) y AST (-0.70, $p = 0.05$), así como asociación lineal positiva con CPK (+0.85, $p =$

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL NORDESTE
Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2000

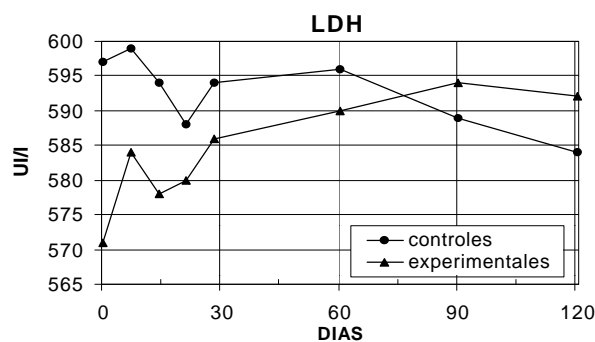


Figura 5: Lactatodehidrogenasa.

0.005). La actividad plasmática de esta enzima se caracteriza por fluctuar fisiológicamente dentro de márgenes muy amplios. Para el bovino adulto se han comunicado tasas entre 692 y 1445 UI/l⁹ y hasta 1500 UI/l^{6,8}. En vacas de cría cruzada cebú del nordeste argentino nuestro grupo de trabajo halló para LDH niveles de 917 ± 122 UI/l³ y 930 ± 85 UI/l⁵, más bajos que los anteriormente citados pero más altos que los publicados por Boon et al, 1981 (420 a 520 UI/l)¹. Estos últimos se asemejan a los valores aquí obtenidos (alrededor de 580 UI/l), pese a que en terneros del viejo continente se habrían hallado tasas de 1450 UI/l⁶. Casi todas las variaciones de LDH refieren a situaciones patológicas que involucrarían daños hepático y muscular^{9,11}. Ontogénicamente se afirma que a medida que transcurre el crecimiento LDH ascendería por aumentar la masa muscular de la cual proviene⁸, circunstancia que no ocurrió en nuestro ensayo. Habida cuenta que las tendencias ascendentes y descendentes no acusaron significación estadística (*efecto tiempo*), cabe inferir que la actividad LDH no fue afectada por el crecimiento de los terneros y tampoco por el tipo de destete (*efecto tratamiento*).

Al considerar el sexo como covariable, las diferencias entre terneros machos (castrados) y hembras no fueron significativas en ningún lote.

CONCLUSIONES

Durante su desarrollo (desde el segundo al sexto mes de vida), los terneros media sangre cebú revelaron declinaciones de sus actividades plasmáticas de ALP (altamente significativas) y AST (poco significativas). Otras enzimas no acusaron significación estadística para el *efecto tiempo* (GGT, LDH), en tanto que CPK mostró un incremento significativo a lo largo del ensayo. Ninguna actividad enzimática discriminó entre terneros lactantes y destetados (*efecto tratamiento* no significativo) ni mostró diferencias significativas entre sexos.

BIBLIOGRAFIA

1. Boon, G.D.; Rebar, A.H. y Stickle, J. 1981. Veterinary Values. 1st. edn., AG-Resources, New York.
2. Coles, E.H. 1986. Veterinary Clinical Pathology, 4th. edn., Saunders Co., Philadelphia.
3. Coppo, J.A. y Pérez, O.A. 1983. El enzimograma fisiológico del bovino. Gaceta Vet.45:385, 1126-1148.
4. Coppo, J.A.; Coppo, N.B. y Slanac, A.L. 1996. Hematofisiología de vacas cruzada cebú durante los períodos de lactancia y destete. Actas Ciencia & Técnica UNNE 2: 102-106.
5. Coppo, J.A.; Coppo, N.B.; Slanac, A.L.; Capellari, A. y Revidatti, M.A. 1997. Variaciones del medio interno en vacas de invernada suplementadas con hez de malta. Therios 26: 135, 147-151.
6. Dürr, U.M. y Kraft, W. 1980. Laboratory Testing in Veterinary Medicine. Public. B. Mannheim, Munich.
7. Fagliari, J.J.; Oliveira, E.C.; Pegorer, M.F.; Ferrante, L.C. y Campos Filho, E. 1996. Relacao entre nível sérico de gamaglobulinas e as atividades de gamaglutamiltransferase, fosfatase alcalina e aspartatoaminotransferase de bezerras recém-nascidos. Anales XXIV Congr. Brasil. Med. Vet., Goiania, Brasil, p. 75.
8. Gómez Piquer, J. 1992. Manual Práctico de Análisis Clínicos en Veterinaria, 1º edn, Mira S.A., Zaragoza.
9. Kaneko, J.J. 1989. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 4th. edn., Academic Press, San Diego.
10. Kolb, E. 1987. Fisiología Veterinaria, 3º edn., Acribia, Zaragoza.
11. Medway, W.; Prior, J.E. y Wilkinson, J.S. 1980. Patología Clínica Veterinaria. 1º edn., Uteha, México.