PROTEINOGRAMAS SÉRICOS DE TAMANDUÁS-BANDEIRAS (*Myrmecophaga tridactyla*) DE VIDA-LIVRE E DE MANTIDOS EM CATIVEIRO

(SERUM PROTEINOGRAM IN FREE-LIVING AND CAPTIVE GIANT ANTEATERS
(*Myrmecophaga tridactyla*))

(PROTEINOGRAMAS SÉRICOS DE OSOS HORMIGUEROS (*Myrmecophaga tridactyla*) DE VIDA
LIBRE Y DE ESPECIMENES MANTENIDOS EN CAUTIVERIO)

F. SATAKE¹, J. J. FAGLIARI²

RESUMO

Foram obtidos os proteinogramas séricos de 38 tamanduás-bandeiras (*Myrmecophaga tridactyla*) adultos de vida-livre (17 machos e 21 fêmeas), grupo 1; e de 33 tamanduás-bandeiras mantidos em cativeiro (13 machos e 20 fêmeas), grupo 2, utilizando-se a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE). Não houve diferença significativa em função do sexo. Nos proteinogramas dos tamanduás de vida-livre (Grupo 1) foram constatadas 47 proteínas, cujos pesos moleculares (PM) variaram de 12.000 a 123.000 dáltons (D). Nos proteinogramas dos tamanduás criados em cativeiro havia 42 proteínas, com a mesma variação de pesos moleculares; não foram constatadas as proteínas de PM 53.700, 50.000, 34.000, 27.700 e 13.000 D. Notou-se que os tamanduás de vida-livre apresentavam valores significativamente superiores das proteínas com PM 98.000, 94.000, 61.500, 54.000, 32.000, 15.000 e 12.000 D e teores inferiores das proteínas de PM 96.000, 86.000, 65.000 e 44.000 dáltons, em relação aos tamanduás mantidos em cativeiro. O valor de albumina descrito na literatura para animais domésticos (2,0 a 4,0 g/dL) é superior ao obtido em tamanduás, 1,48±0,08 g/dL (Grupo 2) a 1,53±0,09 g/dL (Grupo 1). Diferentemente, os teores séricos de globulinas de tamanduás, 5,37±0,89 g/dL (Grupo 1) a 5,50±0,61 g/dL (Grupo 2) superaram os descritos na literatura para animais domésticos. Os resultados indicam diferenças nos proteinogramas séricos de tamanduás-bandeira, possivelmente em função do ambiente e do manejo nutricional, em vida-livre e em cativeiro, os quais podem ser considerados como valores de referência para animais criados em tais condições.

PALAVRAS-CHAVE: Tamanduá-bandeira. *Myrmecophaga tridactyla*. Proteinograma sérico.

SUMMARY

Thirty-eight adult free-living giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*), 17 males and 21 females, and 33 captive giant anteaters, 13 males and 20 females, were analyzed for serum proteinogram obtained by sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE). No statistical difference related to gender was observed. The free-living giant anteaters serum proteinograms had 47 proteins with molecular weight (MW) ranging from 12,000 to 123,000 D. The captive giant anteaters serum proteinograms had 42 proteins, with same MW range; it had no proteins with MW 53,700, 50,000, 34,000, 27,700, and 13,000 D. The free-living *M. tridactyla* had values significantly higher for the proteins with MW 98,000, 94,000, 61,500, 54,000, 32,000, 15,000, and 12,000 D, as compared to captive *M. tridactyla*. Serum albumin

¹ Aluna do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV) - UNESP - Campus de Jaboticabal - SP.

² Professor Adjunto do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV - UNESP - Campus de Jaboticabal - SP. Via de Acesso Prof. Paulo D. Castellane, km 5, 14884-900 - Jaboticabal-SP; fagliari@fcav.unesp.br

concentrations reported in domestic animals, 2.0 g/dL to 4.0 g/dL, is higher than that of *M. tridactyla*, 1.48±0.08 g/dL (Group 2) to 1.53±0.09 g/dL (Group 1). In contrast, *M. tridactyla* serum globulin levels were higher than those reported in literature for domestic animals. The results indicate that differences in the *M. tridactyla* serum proteinogram probably are related to environmental and nutritional conditions, and can be used as reference values in these situations.

KEY-WORDS: Giant anteater. *Myrmecophaga tridactyla*. Serum proteinogram.

RESUMEN

Fueron obtenidos proteinogramas séricos de 38 osos hormigueros (*Myrmecophaga tridactyla*) adultos de vida libre (17 machos y 21 hembras), grupo 1; y de 33 especímenes mantenidos en cautiverio (13 machos y 20 hembras), grupo 2, utilizando la técnica de electroforesis en gel de poliacrilamida conteniendo dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE). No hubo diferencia significativa en función del sexo. En los proteinogramas de los animales de vida libre (Grupo 1) fueron constatadas 47 proteínas, cuyos pesos moleculares (PM) variaron de 12.000 a 123.000 daltons (D). En los proteinogramas de los animales criados en cautiverio había 42 proteínas, con la misma variación de pesos moleculares. No fueron constatadas las proteínas de PM 53.700, 50.000, 34.000, 27.700 y 13.000 D. Se notó que los animales de vida libre presentaban valores significativamente superiores de proteínas con PM 98.000, 94.000, 61.500, 54.000, 32.000, 15.000 y 12.000 D y niveles inferiores de las proteínas de PM 96.000, 86.000, 65.000 y 44.000 daltons, en relación a los mantenidos en cautiverio. El valor de albúmina descrito en la literatura para animales domésticos (2,0 a 4,0 g/dl) es superior al obtenido en osos hormigueros, 1,48±0,08 g/dl (Grupo 2) a 1,53±0,09 g/dl (Grupo 1). Por lo contrario, las concentraciones séricas de globulinas de los osos hormigueros, 5,37±0,89 g/dl (grupo 1) a 5,50±0,61 g/dl (Grupo 2) superaron los descritos en la literatura para los animales domésticos. Los resultados indican diferencia en los proteinogramas séricos de osos hormigueros, posiblemente en función del ambiente y del manejo nutricional, en vida libre y en cautiverio, los cuales pueden ser considerados como valores de referencia para animales criados en tales condiciones.

PALABRAS-CLAVE: Oso hormiguero. *Myrmecophaga tridactyla*. Proteinograma sérico.

INTRODUÇÃO

Os tamanduás-bandeira são mamíferos pertencentes à ordem Xenarthra, família Myrmecophagidae (BERESCA e CASSARO, 2001), sendo assim designados por possuírem uma articulação adicional entre as vértebras lombares. Essa espécie é considerada ameaçada de extinção. Os animais adultos pesam entre 20 e 60 kg e atingem 1,0 metro de comprimento corporal e 1,0 metro de cauda (DIVERS, 1986). Os estudos sobre tamanduás-bandeiras enfocam, principalmente, aspectos relacionados ao comportamento (SHAW et al., 1987), parasitologia (FERREIRA, 1989), anatomia (MIGLINO, 1992), reprodução (PATZL, 1998) e nutrição (NAPLES, 1999). A escassez de trabalhos sobre o perfil bioquímico sérico, inclusive do proteinograma, muitas vezes dificulta o diagnóstico de enfermidades que acometem esses animais.

Os tamanduás-bandeiras alimentam-se basicamente de formigas e cupins. O baixo valor nutricional dessa dieta e o pequeno tamanho da presa predis põem a deficiências nutricionais (REDFORD e DOREA, 1984). Para se adaptar a esse baixo valor nutricional, esses animais desenvolveram sistemas metabólicos cujas taxas representam apenas 33 a 60%

daquelas esperadas para seu peso (MacDONALD, 1985). O soro sanguíneo contém diversos tipos de proteínas, as quais estão sujeitas a variações fisiológicas e patológicas, de modo que suas dosagens podem auxiliar no diagnóstico e no prognóstico das enfermidades animais (KANEKO et al., 1997). A eletroforese é o principal método de fracionamento das proteínas séricas. As técnicas mais comumente utilizadas em Medicina Veterinária empregam como matriz fitas de acetato de celulose e gel de agarose. Tais técnicas, porém, são limitadas porque permitem a separação de apenas cinco a sete grupos de proteínas. Por outro lado, a eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecilssulfato de sódio (SDS-PAGE) permite a identificação de mais de 20 proteínas, utilizando volume de amostra extremamente pequeno, a custo relativamente baixo (GORDON, 1975). Não há citação na literatura consultada de estudo sobre o proteinograma em tamanduás. A técnica SDS-PAGE foi empregada no fracionamento eletroforético do soro sanguíneo de alguns animais domésticos, inclusive eqüinos (FAGLIARI et al., 1998), suínos (MENEZES, 2001), cães (TOLEDO, 2001) e bezerros (FAGLIARI et al., 2003), mostrando-se útil como procedimento de auxílio ao diagnóstico das doenças animais.

O objetivo do presente estudo foi determinar o

Tabela 1 - Teores séricos de proteína total (g/dL) e das frações protéicas (mg/dL) e seus respectivos pesos moleculares (PM), de tamanduás-bandeiras de vida-livre (Grupo 1) e de tamanduás-bandeiras mantidos em cativeiro (Grupo 2), obtidas em eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecilssulfato de sódio (SDS-PAGE).

Proteínas	PM (D)	Grupo 1	Grupo 2
	<i>Proteína total</i>	<i>6,87±0,14^a</i>	<i>6,98±0,12^a</i>
1	123.000	57,02±21,29 ^a	68,40±40,48 ^a
2	121.000	24,73±12,36 ^a	26,52±16,05 ^a
3	120.000	22,67±14,42 ^a	20,94±13,96 ^a
4	119.000	11,80±5,43 ^a	10,61±4,32 ^a
5	115.000	25,41±8,66 ^a	36,99±12,56 ^a
6	106.000	599,97±141,50 ^a	628,20±109,58 ^a
7	105.000	35,03±24,04 ^a	36,99±20,94 ^a
8	103.000	56,33±20,61 ^a	46,06±20,63 ^a
9	98.000	92,74±41,90 ^a	13,96±8,86 ^b
10	97.000	35,00±28,16 ^a	46,76±24,43 ^a
11	96.000	55,64±39,84 ^a	94,92±60,72 ^b
12	94.000	17,17±4,99 ^a	10,41±5,31 ^b
13	92.000	29,54±20,61 ^a	32,10±25,82 ^a
14	90.000	63,89±19,23 ^a	76,78±26,52 ^a
15	88.000	20,61±13,74 ^a	19,54±15,35 ^a
16	86.000	44,65±24,04 ^a	66,31±27,92 ^b
17	85.000	32,29±17,86 ^a	35,59±23,73 ^a
18	79.000	542,73±114,04 ^a	586,32±67,00 ^a
19	68.000	1.525,14±343,50 ^a	1.396,00±355,98 ^a
20	65.000	600,32±237,70 ^a	837,60±286,18 ^b
21	63.000	10,31±8,82 ^a	10,74±7,32 ^a
22	62.500	10,64±9,32 ^a	12,07±8,67 ^a
23	61.500	23,42±10,80 ^a	13,96±7,06 ^b
24	60.000	42,59±22,67 ^a	32,10±16,05 ^a
25	59.000	10,30±9,61 ^a	11,16±10,47 ^a
26	54.000	770,81±69,68 ^a	698,03±85,15 ^b
27	53.700	21,98±20,61	ausente
28	50.000	11,21±6,94	ausente
29	49.000	15,11±10,30 ^a	14,65±7,42 ^a
30	44.000	22,67±20,66 ^a	209,40±47,46 ^b
31	42.000	92,74±37,78 ^a	90,74±34,90 ^a
32	39.000	17,17±13,74 ^a	13,26±12,10 ^a
33	37.000	37,09±27,48 ^a	39,78±31,41 ^a
34	36.000	96,18±50,83 ^a	83,76±55,84 ^a
35	34.000	13,09±10,21	ausente
36	32.000	61,83±21,60 ^a	48,86±10,43 ^b
37	30.000	32,29±18,55 ^a	41,85±24,36 ^a
38	28.000	55,64±36,41 ^a	55,84±39,78 ^a
39	27.700	12,36±10,34	ausente
40	25.000	15,80±11,67 ^a	16,05±13,96 ^a
41	23.000	20,61±12,39 ^a	18,84±9,67 ^a
42	20.000	41,22±24,73 ^a	38,39±19,54 ^a
43	19.500	89,31±30,91 ^a	99,81±32,80 ^a
44	17.500	254,19±67,36 ^a	265,24±53,74 ^a
45	15.000	1.009,89±112,97 ^a	900,42±87,05 ^b
46	13.000	171,75±82,44	ausente
47	12.000	267,93±25,57 ^a	230,34±22,82 ^b

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si (P<0,05) pelo teste Tukey.

proteinograma sérico de tamanduás-bandeiras de vida-livre e criados em cativeiro, mediante o fracionamento eletroforético em gel de poliacrilamida, de modo a obter valores que auxiliem no diagnóstico e no prognóstico de enfermidades que acometem essa espécie animal. Adicionalmente, calcularam-se os teores séricos de proteína total, albumina e globulinas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram examinados 38 tamanduás-bandeiras adultos de vida-livre (17 machos e 21 fêmeas) e 33 tamanduás-bandeiras mantidos em cativeiro (13 machos e 20 fêmeas), soronegativos para brucelose e leptospirose. A dieta fornecida aos animais de cativeiro continha ração para cães adultos, leite, ovos, carne, vitaminas e minerais. Os tamanduás foram capturados com auxílio de puçás e contidos fisicamente, pesados e anestesiados com 10 mg/kg de cloridrato de cetamina, por via intramuscular (IM), e 1,0 mg/kg de cloridrato de xilazina, IM. Ao mesmo tempo foi administrado 0,04 mg/kg de sulfato de atropina, IM, para evitar salivação excessiva. No momento da colheita das amostras de sangue, mediante punção da veia cefálica, realizava-se o exame físico dos animais.

Os teores séricos de proteína total (método do biureto) e de albumina (método do verde de bromocresol) foram obtidos utilizando-se conjunto comercial de reagentes³. A concentração sérica de globulina foi calculada subtraindo-se o valor obtido para albumina, do conteúdo de proteína total. Para o fracionamento das proteínas séricas utilizou-se a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE), proposta por Weber e Osborn (1969). A leitura das frações protéicas foi realizada em videodensitômetro⁴. Os pesos moleculares das proteínas foram definidos comparando sua mobilidade eletroforética com a de marcador⁵ de 205.000, 116.000, 97.000, 66.000, 45.000, 30.000 e 21.100 D.

Para as análises estatísticas, utilizou-se o *Statistical Analysis System*. Quando havia diferença significativa entre os grupos, aplicava-se o teste Tukey para a comparação das médias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos proteinogramas séricos dos animais do grupo 1 (vida-livre), obtidos em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), foram constatadas 47 proteínas (Tabela 1), quantidade muito superior às 19 frações protéicas constatadas em equinos (FAGLIARI et al., 1998), às 16 proteínas verificadas em porcas (MENEZES, 2001), às 15 proteínas identificadas em bovinos (FAGLIARI et al., 2003) e às 13 proteínas do soro

Tabela 2 - Média e desvio-padrão dos teores séricos de proteína total, albumina e globulinas de tamanduás-bandeiras de vida-livre (Grupo 1) e de tamanduás-bandeiras mantidos em cativeiro (Grupo 2).

Parâmetro	Grupo 1	Grupo 2
Proteína total (g/dL)	6,87±0,14 ^a	6,98±0,12 ^a
Albumina (g/dL)	1,53±0,09 ^a	1,48±0,08 ^a
Globulinas (g/dL)	5,37±0,89 ^a	5,50±0,61 ^a

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si (P<0,05) pelo teste Tukey.

sangüíneo de cães (TOLEDO, 2001), utilizando-se a mesma técnica SDS-PAGE. Os pesos moleculares (PM) dessas 47 proteínas variaram de 12.000 a 123.000 D. Notou-se que nos traçados eletroforéticos de tamanduás do grupo 2, criados em cativeiro, não haviam as proteínas de PM 53.700, 50.000, 34.000, 27.700 e 13.000 D. Ademais, nos animais do grupo 1 verificaram-se teores séricos significativamente superiores das proteínas de PM 98.000, 94.000, 61.500 e 54.000, 32.000, 15.000 e 12.000 D, e valores inferiores das proteínas de PM 96.000, 86.000, 65.000 e 44.000 D, em relação aos tamanduás do grupo 2. É provável que tais diferenças se devam aos fatores ambientais e ao tipo de dieta disponível nos ambientes de vida-livre e de cativeiro. As concentrações séricas de proteína total não diferiram significativamente, quando comparados os valores obtidos em tamanduás-bandeiras de vida-livre, 6,87±0,14 g/dL, com aqueles de tamanduás criados em cativeiro, 6,98±0,12 g/dL (Tabela 2). Não houve diferença significativa quando se compararam os valores obtidos em machos e em fêmeas. A concentração de albumina descrita na literatura para animais domésticos, de acordo com Kaneko et al. (1997) entre 2,0 g/dL e 4,0 g/dL, é superior ao constatado em tamanduás-bandeiras, tanto de livre-livre (1,53±0,09 g/dL), quanto em mantidos em cativeiro (1,48±0,08 g/dL), fazendo crer que tais valores são característicos dessa espécie animal. Por outro lado, os teores séricos de globulina superaram aqueles relatados na literatura como normais para os mamíferos domésticos, variando de 5,37±0,89 g/dL (Grupo 1) a 5,50±g/dL (Grupo 2).

CONCLUSÃO

A diversidade de proteínas presentes no proteinograma sérico de tamanduás-bandeiras de vida-livre e de mantidos em cativeiro, constatadas no traçado eletroforético obtido em SDS-PAGE, é muito mais extensa que aquela relatada na literatura para animais domésticos. Ademais, a albuminemia de tamanduás é notadamente inferior à das espécies domésticas. Os resultados desse

estudo indicam diferenças na densitometria das proteínas séricas, possivelmente em função do modo de criação, de vida-livre e em cativeiro, os quais podem ser considerados como valores de referência para *Myrmecophaga tridactyla* vivendo em condições.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem o apoio financeiro concedido pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo-FAPESP.

ARTIGO RECEBIDO: Dezembro/2004

APROVADO: Março/2005

REFERÊNCIAS

- BERESCA, A. M., CASSARO, K. Biology and captive management of armadillos and anteaters. In: FOWLER, M. E., CUBAS, Z. S. **Biology, Medicine, and Surgery of South American wild Animals**. Ames: Iowa State University, 2001. p.238-245.
- DIVERS, B. J. Edentata. In: FOWLER, M. E. **Zoo & Wild Animal Medicine**. 2nded. Philadelphia: W. B. Saunders, 1986. p.621-630.
- FAGLIARI, J. J., McCLENAHAN, D., EVANSON, O. A., WEISS, D. J. Changes in plasma protein concentrations in ponies with experimentally induced alimentary laminitis. **American Journal of Veterinary Research**, v.59, n.10, p.1234-1237, 1998.
- FAGLIARI, J. J., WEISS, D. J., McCLENAHAN, D., EVANSON, O. A. Serum protein concentrations in calves with experimentally induced pneumonic pasteurellosis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.55, n.4, p.383-387, 2003.
- FERREIRA, L. F. Acanthocefalan eggs in animal coprolites from archaeological sites from Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.84, n.2, p.201-203, 1989.
- GORDON, A. H. **Electrophoresis of protein in polyacrylamide and starch gels**. New York: Elsevier, 1975. 213 p.
- KANEKO, J. J., HARVEY, J. W., BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5th ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932p.
- MacDONALD, D. **The encyclopedia of mammals**. New York: Facts, 1985. p.770-785.
- MENEZES, C. C. P. **Estudo clínico e laboratorial de porcas com proteinúria**. 2001. 72 p. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2001.
- MIGLINO, M. A. The excretory system of the liver in wild animals: VI. Biliary ducts of the great anteater (*Myrmecophaga tridactyla*). **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, v.29, p.353-357, 1992.
- NAPLES, V. L. Morphology, evolution and function of feeding in the giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*). **Journal of Zoology**, v.249, p.19-41, 1999.
- PATZL, M. Monitoring ovarian cycle and pregnancy in the giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*) by faecal progesterone and oestrogen analysis. **Animal Reproduction Science**, v.53, p.209-219, 1998.
- REDFORD, K. H., DOREA, J. G. The nutritional value of invertebrates with emphases on ants and termites as food for mammals. **Journal of Zoology**, v.203, p.385-395, 1984.
- SHAW, J. H., MACHADO-NETO, J., CARTER, T. S. Behavior of free-living giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*). **Biotropica**, v.19, n.3, p.255-259, 1987.
- TOLEDO, E. G. H. **Perfil eletroforético de proteínas séricas e urinárias de cães normais e portadores de insuficiência renal crônica**. 2001. 52 p. Dissertação (Mestrado em Clínica Médica Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2001.
- WEBER, K., OSBORN, M. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. **Journal of Biology and Chemistry**, v.244, p.4406-4412, 1969.