

PERFIL ELETROFORÉTICO E DIFERENCIAÇÃO DE FRAÇÕES DE PROTEÍNAS SÉRICAS EM AGAROSE DE EMUS (*Dromarius novaehollandiae*) CRIADOS EM CATIVEIRO: RELATO DE CASO

Luciano de Oliveira Battisti¹
Larissa Quinto Pereira²
Elisandro Oliveira dos Santos³
Lucia de Almeida Lacerda⁴
Cybele Esteves Almeida⁵
Maristela Lovato⁶

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi identificar o perfil eletroforético das proteínas plasmáticas e diferenciar suas frações protéicas. Foram utilizadas amostras de plasma coletadas de um casal de emus clinicamente saudáveis, processadas pela técnica do biureto e eletroforese em gel de agarose. Foram encontrados valores de 5,30 g/dL e 4,10 g/dL de proteínas plasmáticas totais e 0,67 e 0,81 para a relação entre a albumina e as globulinas, para a fêmea e o macho, respectivamente. Na diferenciação das frações, encontrou-se a presença de pré-albumina, albumina, uma fração alfa-globulina, duas frações beta-globulina, e uma fração gama-globulina, para ambos os animais.

Palavras-chave: proteínas plasmáticas, ratitas, *Dromarius novaehollandiae*.

**ELECTROPHORETIC PROFILE AND PROTEIN FRACTIONS
DIFFERENTIATION IN AGAROSIS GEL OF EMUS (*Dromarius novaehollandiae*)
BRED IN CAPTIVITY: CASE REPORT**

ABSTRACT

The objective of this study was to identify the electrophoretic profile of plasma proteins and differentiate the protein fractions of emus. Samples of plasma collected from a couple, processed by the biuret technique and agarosis gel electrophoresis. Found values of 5.30 g/dL and 4.10 g/dL of total plasma proteins and 0.67 and 0.81 for the relationship between albumin and globulins, for the female and male respectively. At the differentiation of fractions, we found the presence of prealbumin, albumin, one alpha-globulin, two beta-globulin fractions and one gamma globulin fraction, for both animals.

Key words: plasmatic proteins, ratites, *Dromarius novaehollandiae*.

¹ Laboratório Central de Diagnóstico de Patologias Aviárias, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria

² Laboratório Central de Diagnóstico de Patologias Aviárias, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria. Laboratório de Ornitopatologia, UNESP-Botucatu
³ Zoológico Municipal de Canoas e Pampa Safari

⁴ Departamento de Patologia e Clínica Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

⁵ Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Centro de Ciências da Saúde Universidade Federal de Santa Maria

⁶ Laboratório Central de Diagnóstico de Patologias Aviárias, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria.

PERFIL ELECTROFORÉTICO Y DIFERENCIACIÓN DE LAS FRACCIONES DE PROTEÍNA EM GEL DE AGAROSA DE EMÚES (*Dromaius novaehollandiae*) EN CAUTIVERIO: RELATO DEL CASO

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue identificar el perfil electroforético de las proteínas del plasma y diferenciar sus fracciones proteicas. Fueron utilizadas las muestras de plasma colectadas de un par de emús clínicamente sanos, procesadas por la técnica de biuret y sometidos a electroforesis en gel de agarosa. Fueron encontrados valores de 5,30g/dL y 4,10g/dL para las proteínas totales en suero y 0,67 y 0,81 para la relación de albúmina y globulina para la hembra y el macho, respectivamente. En la diferenciación de las fracciones, se encontró la presencia de prealbúmina, albúmina, una fracción de alfa-globulina, dos fracciones de beta-globulina, y la fracción de gamma-globulina, para los dos animales.

Palabras claves: proteínas plasmáticas, râtidas, *Dromaius novaehollandiae*.

INTRODUÇÃO

Emus (*Dromaius novaehollandiae*) são aves silvestres da família das ratitas e são encontrados em quase todas as regiões semi-áridas da Austrália, excluindo os desertos. Eles estão muito reduzidos em número e algumas subespécies estão extintas (1). Entre as aves, somente os psitacídeos e as aves de rapina possuem padrões eletroforéticos definidos. Essas informações em ratitas são escassas e necessitam de estudos (2, 3).

Para determinação das proteínas totais podem ser utilizados métodos físicos ou químicos, o método do biureto continua sendo o método de escolha em amostras de plasma ou soro, devido a sua simplicidade, acurácia e precisão (4). O perfil eletroforético das proteínas plasmáticas isolado não fornece informações específicas, como o diagnóstico de uma determinada doença, mas os resultados da eletroforese quando devidamente interpretados, podem ser úteis como prognóstico e diagnóstico auxiliar na avaliação clínica (3).

Entre espécies e indivíduos existem variações nas frações protéicas encontradas, por isso é importante que padrões sejam elaborados (4). Devido à ausência de informações sobre valores de referência de proteínas plasmáticas e frações protéicas nessa espécie, este trabalho teve por objetivo relatar o perfil eletroforético em dois exemplares adultos de emus criados em cativeiro.

RELATO DE CASO

Um casal adulto de emus (*Dromaius novaehollandiae*) clinicamente saudável, foi contido fisicamente e foram coletadas amostras sanguíneas em seringas estéreis descartáveis, por punção da veia metatársica medial e acondicionadas em tubos com anticoagulante heparina. Esse material foi obtido de emus criados em cativeiro no estado do Rio Grande do Sul. O sangue total foi submetido à centrifugação por 3 minutos a 3900xg, para a separação do plasma. As amostras plasmáticas foram armazenadas a -20°C e encaminhadas para mensuração da concentração das proteínas plasmáticas totais utilizando-se o método de biureto. Para a diferenciação da albumina e das frações de globulinas foi aplicada a técnica da eletroforese.

A determinação da quantidade de proteínas totais pelo método de biureto foi realizada por meio do kit proteínas totais (Labtest Diagnóstica, Lagoa Santa, MG, Brasil). As amostras foram processadas de acordo com as instruções do fabricante. Utilizou-se 1,0mL de reagente

biureto e 0,02mL da amostra-plasma. Misturou-se e incubou-se a amostra e o reagente por 10min a 37°C e posteriormente foi realizado o ensaio colorimétrico. A eletroforese foi realizada pela técnica que emprega o gel de agarose como meio suporte. Este gel, após as aplicações de 10 μ L das amostras plasmáticas, foi embebido em uma solução tampão de tris veronal (pH 8,6). Posteriormente, aplicou-se uma corrente elétrica de 90V ao meio suporte, por 20min, depois de submerso ao tampão. Após a migração das proteínas pela rede do gel, o gel foi secado, corado, escaneado e analisado pelo software para densitometria (SDS-60).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Nas aves amostradas os valores encontrados estão descritos na Tabela 1. Os resultados encontrados nesse trabalho, para PPT, foram compatíveis com os descritos por Okotie-Eboh et al. (5), Costa, McDonald e Swan (6) e Teare (7). Não foram encontrados outros trabalhos que descrevessem padrões para as frações protéicas em emus, apenas valores bioquímicos (5-7).

Tabela 1. Valores da concentração de proteínas plasmáticas totais, pré-albumina, albumina, alfa-globulina, beta-globulina, gama-globulina e relação albumina/globulina em emus, fêmea (F) e macho (M).

Grupo	Unidades	PPT	A/G	Pré-alb.	Albumina	α	β 1	β 2	γ
Emu (F)	(g/dL)	5,30	0,67	0,24	2,13	0,91	0,28	0,92	0,82
	(%)				40,2	17,1	5,2	17,4	15,5
Emu (M)	(g/dL)	4,10	0,81	0,17	1,83	0,49	0,14	0,73	0,71
	(%)				44,7	11,9	3,4	17,8	17,3

A variação existente entre sexos pode ocorrer devido à interferência dos fatores hormonais como testosterona, estrógenos e cortisol (4), mas tende a ser leve ou pouco significativa (4, 5). Fatores como a idade, estado fisiológico, ambiente e alimentação tendem a exercer maior influência na concentração de proteínas (6).

As proteínas observadas foram agrupadas em seis frações (Figura 1a e 1b) pré-albumina, albumina, α , β 1, β 2, γ . A fração pré-albumina encontrada nos emus foi também descrita em emas, cegonhas, galinhas e aves de rapina (2, 3, 8-10). Essa fração, também isolada em avestruzes, pode estar ligada à função da tireóide de aves em crescimento (11).

Diferentemente de outros autores (2, 3, 8, 10) que descreveram, para aves, duas frações α e uma β -globulina, nesse trabalho foram encontradas uma fração de α -globulina e duas frações das β -globulinas, o mesmo foi descrito por Hasegawa et al. (9) em galinhas de postura. Valores bioquímicos em diferentes espécies de aves têm sido descritos (5, 6, 12-14), mas a determinação do perfil eletroforético e o fracionamento das globulinas ainda é escasso.

Devido a pouca literatura disponível e a pequena amostragem, sugere-se que novos perfis eletroforéticos de proteínas sejam realizados nessa espécie, ampliando o número de animais avaliados. Além disso, é importante a determinação da concentração das proteínas plasmáticas totais e das principais frações protéicas em animais saudáveis, além da determinação dos valores de referência. Essas informações podem auxiliar o clínico em diagnósticos e no acompanhamento do estado sanitário das aves mantidas em cativeiro.

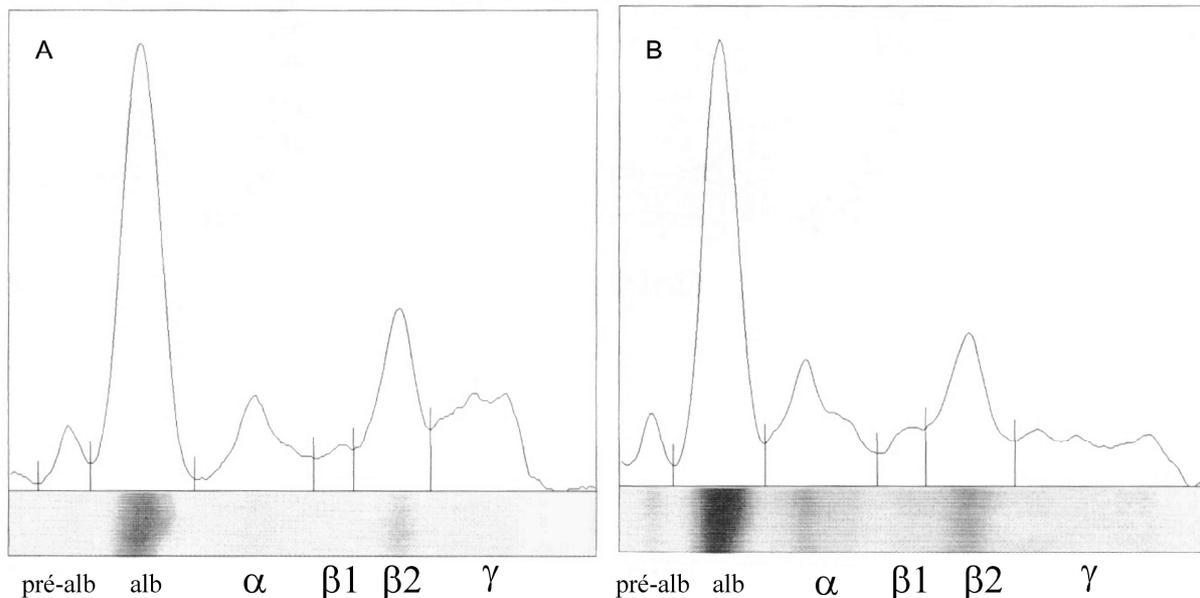


Figura 1. Perfil eletroforético e frações proteicas pré-albumina, albumina, α , β 1, β 2, γ nos emus (*Dromaius novaehollandiae*) macho (a) e fêmea (b).

REFERÊNCIAS

1. Drenowatz C, Sales J, Saraqueta DV, Weilbrenner A. History and geography. In: Drenowatz C, editor. The ratite encyclopedia. San Antonio: Ratite Record; 1995. p.3-30.
2. García-Montijano M, García A, Lemus JA, Montesinos A, Canales R, Luaces I, et al. Blood chemistry, protein electrophoresis, and hematologic values of captive spanish imperial eagles (*Aquila adalbert*). *J Zoo Wildl Med.* 2002;33:112-7.
3. Conrado AC, Lopes STA, Martins DB, Duarte MF, Mortari AC, Flôres ML, et al. Eletroforese das proteínas plasmáticas em emas (*Rhea americana*) de diferentes faixas etárias. *Cienc Rural.* 2007;37:1033-8.
4. Kaneko JJ. Serum proteins and the dysproteinemias. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML, editors. *Clinical biochemistry of domestic animals.* 5^a ed. San Diego: Academic Press; 1997. p.117-38.
5. Okotie-Eboh G, Bailey CA, Hicks KD, Kubena LF. Reference serum biochemical values for emus and ostriches. *Am J Vet Res.* 1992;53:1765-8.
6. Costa ND, McDonald DE, Swan RA. Age-related changes in plasma biochemical values of farmed emus (*Dromaius novaehollandiae*). *Aust Vet J.* 1993;70:341-4.
7. Teare A. *Physiological Data Reference Values [CD-ROM].* Apple Valley, MN: International Species Information System - ISIS; 2002.
8. Montesinos A, Sainz A, Pablos MV, Mazzucchelli F, Tesouro MA. Hematological and plasma biochemical reference intervals in young white storks. *J Wildl Dis.* 1997;33:405-12.

9. Hasegawa MY, Fonteque JH, Kohayagawa A, Boretti LP. Avaliação do perfil eletroforético das proteínas séricas em matrizes pesadas (*Gallus gallus Domesticus*) da linhagem Avian Farm. *Rev Bras Cienc Avic*. 2002;4:203-7.
10. Lanzarot MP, Barahona MV, Andrés MI, Fernández-García M, Rodríguez C. Hematologic, protein electrophoresis, biochemistry, and cholinesterase values of free-living black stork nestlings (*Ciconia nigra*). *J Wildl Dis*. 2005;41:379-86.
11. Chang L, Munro SL, Richardson SJ, Schreiber G. Evolution of thyroid hormone binding by transthyretins in birds and mammals. *Eur J Biochem*. 1999;259:534-42.
12. Verstappen FA, Lumeij JT, Bronneberg RG. Plasma chemistry reference values in ostriches. *J Wildl Dis*. 2002;38:154-9.
13. Bouda J, Rocha GF, Ramírez ES, Flores JLD, Peña JE. Valores bioquímicos selectos en plasma sanguineo de avestruces de diferentes edades y sexo. *Vet Mex*. 2004;35:45-54.
14. Miranda RL, Mundim AV, Costa AS, Guimarães RV, Silva FOC. Serum biochemistry of 4-day-old ostriches (*Struthio camelus*). *Pesqui Vet Bras*. 2008;28:423-6.

Recebido em: 02/06/2012

Aceito em: 13/11/2012