

**PROTEINOGRAMA SÉRICO DE PACAS (AGOUTI PACA, LINNAEUS, 1766)  
SADIAS CRIADAS EM CATIVEIRO, OBTIDAS PELA TÉCNICA DE  
ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA (SDS-PAGE)**

**SANTANA, A.M.<sup>1\*</sup>; REIS, A.C.G.<sup>2</sup>; SILVA, P.C.<sup>1</sup>; MACHADO, M.R.F.<sup>2</sup>;  
FAGLIARI, J.J.<sup>1</sup>**

### **RESUMO**

A paca, pertencente à Família Agoutidae, é o segundo maior roedor brasileiro. Estes roedores vêm sofrendo com a caça indiscriminada e conseqüente perda de seu habitat, sendo essencial a busca de conhecimentos que auxiliem o estabelecimento da criação racional desses animais, no intuito de auxiliar a preservação da espécie. Neste contexto, o objetivo do estudo foi propiciar informações sobre o proteinograma sérico de pacas saudáveis criadas em cativeiro, inclusive proteínas de fase aguda e de imunoglobulinas, de modo a facilitar o diagnóstico e prognóstico de enfermidades nessa espécie animal. Foram examinadas amostras de soro sanguíneo de três pacas adultas, mantidas em baias e alimentadas com ração de roedor, além de frutas, raízes e tubérculos, à vontade. A coleta de sangue foi realizada mediante punção cardíaca, após sedação, obtendo-se alíquotas de 1,5 mL de soro. A concentração sérica de proteína total foi obtida pelo método do biureto; o proteinograma foi realizado pela técnica de eletroforese que emprega como matriz gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE). Os dados foram expressos individualmente e na forma de média. A técnica SDS-PAGE permitiu o fracionamento de 22 proteínas, cujos pesos moleculares variaram de 27.000 a 250.000 dáltons (Da), sendo possível identificar, entre elas, as proteínas de fase aguda ceruloplasmina, transferrina, albumina, Alfa1-antitripsina e haptoglobina, bem como as imunoglobulinas IgA, IgG de cadeia pesada e IgG de cadeia leve. Assim, os resultados obtidos neste estudo podem ser úteis como referências para pacas saudáveis, na interpretação de alterações no proteinograma sérico desta espécie animal.

### **INTRODUÇÃO**

A paca é um roedor típico de regiões tropicais, sendo considerada, depois da capivara, o maior roedor brasileiro. Pertence à Ordem Rodentia, super família *Cavioidea*, mesma superfamília de outros roedores como cutia (*Dasyprocta sp.*), capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) e cobaia (*Cavia porcellus*), e Família Agoutidae. Possui corpo robusto e vigoroso (COLLET et al., 1981) medindo, quando adultos, aproximadamente 60 cm (MONDOLFI et al, 1972), apresentando

---

<sup>1</sup> Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV, UNESP, Campus de Jaboticabal; Via Prof. Paulo D. Castellane, s/n, 14884-900, Jaboticabal, SP; E.mail: fagliari@fcav.unesp.br

<sup>2</sup> Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, FCAV, UNESP, Campus de Jaboticabal;

peso corpóreo entre 5 e 10 kg (BENTTI, 1981). Distribuem-se geograficamente do sudeste do México ao sul do Brasil, vivem em áreas cobertas com vegetação alta, sempre próximas aos rios, e têm como base da alimentação diversas frutas e vegetais (MATAMOROS, 1982). Estes roedores vêm sofrendo com a caça indiscriminada, sendo essencial a busca de conhecimentos que auxiliem o estabelecimento da criação racional desses animais, situação esta que, atualmente, vem sendo vista como uma das formas de auxiliar a preservação de espécies.

As avaliações dos teores de proteína totais e de suas frações propiciam subsídios para adequada interpretação do estado de hidratação, bem como de inflamação, infecção, doença imunomediada e alteração na síntese protéica. O estudo da cinética das proteínas de fase aguda e das imunoglobulinas pode ser útil para o entendimento da fisiopatogenia dos mais variados processos inflamatórios/infecciosos, contribuindo para o diagnóstico precoce e controle das enfermidades, bem como para definir o prognóstico. Assim, o conhecimento de valores de normalidade torna-se essencial, servindo de base para interpretação de disfunções orgânicas.

O emprego da técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) é de grande valia, já que se trata de uma técnica relativamente simples e de baixo custo, possibilitando a visualização de concentrações séricas extremamente baixas e a identificação de várias proteínas (GORDON, 1995), inclusive proteínas de fase aguda da resposta inflamatória e imunoglobulinas. Esta técnica vem sendo aplicada com sucesso em medicina veterinária, como já relatado em estudos com pneumonia de bezerros induzida pela inoculação intrabronquial de *Manheimia (Pasteurella) haemolytica* (FAGLIARI, 2003) e no abdômen agudo em eqüinos (FAGLIARI & SILVA, 2002).

Sabendo-se da escassez de pesquisas relativas à fauna selvagem brasileira e que a avaliação do teor de proteína total e de suas frações representa uma ferramenta de grande utilidade no estabelecimento de diagnóstico, bem como permite conhecer melhor a fisiopatologia de várias disfunções orgânicas, o objetivo do estudo é disponibilizar valores do proteinograma sérico de pacas sadias criadas em cativeiro.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram examinadas três pacas (dois machos e uma fêmea) adultas pertencentes ao Criadouro de Espécimes da Fauna Silvestre Brasileira para fins Científicos do Departamento de Zootecnia da FCAVJ-UNESP, categoria 3001, registrado no IBAMA sob o número 1/35/92/0882-5. Os animais são mantidos em baias coletivas e recebem ração de roedor, além de frutas, raízes e tubérculos, à vontade. A coleta de sangue foi realizada mediante punção cardíaca, após tranquilização (4 mg de azaperone/kg de peso corpóreo IM) e sedação (20 mg de cloridrato de cetamina/kg + 1,5 mg de cloridrato de xilazina/kg IM), obtendo-se alíquotas de 1,5 mL de soro. Foram avaliadas as concentrações séricas de proteína total pelo método do biureto, utilizando-se kit comercial (Labtest Diagnóstica). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (Labquest, Labtest) semi-automático. Para o fracionamento eletroforético das proteínas em

SDS-PAGE, utilizou-se a técnica proposta por WEBER & OSBORN (1969). Os pesos moleculares e as concentrações das frações protéicas foram determinados mediante densitometria. Para a identificação das proteínas foram utilizados marcadores com pesos moleculares de 20 kilodáltons (kD), 24 kD, 29 kD, 45 kD, 55 kD, 66 kD, 97 kD, 116 kD e 200 kD. Para a avaliação densitométrica das bandas protéicas foram confeccionadas curvas de referência a partir da leitura do marcador padrão, bem como as proteínas purificadas ceruloplasmina, haptoglobina,  $\alpha_1$ -antitripsina, transferrina e IgG (Sigma). Os dados foram expressos individualmente e na forma de média.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados, valores individuais e média, das concentrações séricas de proteína total e das frações protéicas de três pacas sadias criadas em cativeiro, obtidas por eletroforese em gel de poliácridamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), são apresentados na Tabela 1.

O teor sérico médio de proteína total obtido foi de 6,07 g/dL, próximo ao descrito por outros pesquisadores que examinaram pacas (6,27 g/dL; FOWLER, 2001), cutias (7,43 g/dL; FOWLER, 2001) e cobaias (4,2-6,8 g/dL; CUBAS et al., 2007). As avaliações dos teores de proteínas totais e de suas frações propiciam subsídios para adequada interpretação do estado de hidratação, bem como de inflamação, infecção, doença imunomediada e alteração na síntese protéica.

A técnica SDS-PAGE permitiu o fracionamento de 22 proteínas, cujos pesos moleculares (PM) variaram de 27.000 a 250.000 dáltons (Da). Destas proteínas, foi possível identificar nominalmente oito frações protéicas: IgA (PM=175.000 Da), ceruloplasmina (121.000 Da), transferrina (92.000 Da), albumina (64.000 Da), IgG de cadeia pesada (56.000 Da), Alfa1-antitripsina (53.000 Da), haptoglobina (45.000 Da) e IgG de cadeia leve (33.000 Da). As 14 proteínas restantes foram identificadas pelos respectivos pesos moleculares (Tab. 1).

O fracionamento eletroforético representa um dos mais confiáveis métodos de identificação de proteínas sangüíneas, sendo uma técnica relativamente simples e de baixo custo que permite a detecção de concentrações protéicas extremamente baixas e a identificação de 20 a 30 tipos diferentes de proteínas, incluindo as imunoglobulinas e proteínas de fase aguda, necessitando de diminutas quantidades de amostra (GORDON, 1995). Relata-se que o proteinograma obtido mediante a técnica SDS-PAGE foi útil no diagnóstico de laminite em eqüinos (FAGLIARI et al., 1997), de pneumonia de bezerros induzida pela inoculação intrabronquial de *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* (FAGLIARI, 2002) e no diagnóstico e prognóstico do abdômen agudo em eqüinos (FAGLIARI & SILVA, 2002).

Os estágios iniciais de uma reação inflamatória, desencadeada por um processo infeccioso, como exemplo, incluem várias alterações denominadas respostas de fase aguda, sendo uma de suas características a ambigüidade comportamental de dois grupos de proteínas plasmáticas de origem hepática. As proteínas de fase aguda positivas, como a ceruloplasmina,  $\alpha_1$ -antitripsina e haptoglobina, elevam-se no soro sangüíneo em muitos processos inflamatórios e

infecciosos agudos. Neste trabalho, estas três proteínas foram identificadas, nas concentrações de 8,07, 279 e 15,3 mg/dL, respectivamente.

Diferente das proteínas de fase aguda positiva, as proteínas de fase aguda negativas, como a transferrina e a albumina costumam baixar suas concentrações séricas em processos inflamatórios e infecciosos agudos. Neste trabalho, estas proteínas foram encontradas nas concentrações de 484 e 3.730 mg/dL, respectivamente.

A IgA é uma imunoglobulina responsável por atuar no epitélio intestinal com o objetivo de reduzir a colonização bacteriana, sendo de grande importância nos processos infecciosos, principalmente em infecções causadas por bactérias, como, por exemplo, *Salmonella* sp. Esta proteína foi identificada neste trabalho com concentração sérica média de 190 mg/dL.

Uma boa proteção contra agentes infecciosos muitas vezes requer tanto imunidade mediada por células T quanto imunidade humoral. Assim, em várias infecções com repercussão sistêmica a resposta imune humoral é caracterizada por alto título de IgG, sendo esta imunoglobulina de fundamental importância na eliminação de microorganismos extracelulares por meio de opsonização e posterior fagocitose. Neste trabalho, foram identificadas IgG de cadeia pesada e IgG de cadeia leve, nas concentrações de 577 e 77,7 mg/dL, respectivamente.

Concluindo, em razão de os três animais serem mantidos no mesmo espaço físico e submetidos ao mesmo sistema de manejo, inclusive nutricional, é possível que os resultados ora apresentados representem referências úteis na interpretação do proteinograma sérico de pacas e, conseqüentemente, no diagnóstico e prognóstico de doenças inflamatórias, nutricionais e imunomediadas que acometem essa espécie animal.

**Tabela 1.** Valores individuais e média das concentrações séricas de proteína total (g/dL) e frações protéicas (mg/dL) de três pacas sadias criadas em cativeiro obtidas por eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE).

Frações protéicas	Peso molecular (Dáltons)	Animal 1 (M)	Animal 2 (M)	Animal 3 (F)	Média
<b>Proteína total</b>		<b>6,08</b>	<b>5,72</b>	<b>6,41</b>	<b>6,07</b>
NI*	250.000	2,49	ausente	0,96	1,72
NI	240.000	9,85	11,9	15,4	12,4
NI	212.000	1,28	3,66	9,17	4,7
IgA	175.000	174	169	226	190
NI	149.000	61,0	83,5	57,7	67,4
NI	142.000	90,9	40,4	12,0	47,8
NI	132.000	8,45	9,44	4,29	7,40
NI	127.000	15,2	20,3	12,9	16,1
Ceruloplasmina	121.000	9,55	8,64	6,02	8,07
NI	107.000	9,85	10,8	12,4	11,0
Transferrina	92.000	428	547	478	484
Albumina	64.000	3.647	3.631	3.911	3.730
IgG, cadeia pesada	56.000	712	356	664	577
Alfa1-antitripsina	53.000	334	263	238	279
NI	46.000	0,91	7,61	4,23	4,25
Haptoglobina	45.000	3,34	17,4	25,2	15,3
NI	43.000	28,7	12,6	12,4	17,9
NI	37.000	3,91	ausente	4,10	8,48
NI	35.000	9,48	45,0	49,7	34,7
IgG, cadeia leve	33.000	34,1	99,8	99,2	77,7
NI	31.000	9,36	ausente	8,27	8,81
NI	27.000	505	371	544	473

\*NI: proteína não identificada nominalmente.

## REFERÊNCIAS

- BENTTI, S.B. Roedores da América tropical. **Natura**, Caracas, n.70-1, p.40-4, 1981.
- COLLET, S.F. Population characteristics of agouti paca (rodentia) in Colombia. **Biological Series**, Michigan, v.5, n.7, p.601, 1981.
- CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de Animais Selvagem**. São Paulo: Roca, 2007, 1354p.
- FAGLIARI, J.J.; WEISS, D.J.; McCLENANHAN, D.; EVANSON, O.A. Serum protein concentration in calves with experimentally induced pneumonic pasteurellosis. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.55, n.2, p.581-586, 2003.
- FAGLIARI, J.J.; SILVA, S.L. Hemograma e proteinograma plasmático de equinos hípidos e de equinos acometidos por abdômem agudo, antes e após laparotomia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.54, n.6, p.559-567, 2002.
- 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**, Schaumburg, v.59, p.1234-1237, 1997.
- FOWLER, M.E.; **Biology, medicine and surgery of South American wild animals**. Ames: Iowa State University Press, 2001. 536p.
- GORDON, A.H. **Electrophoresis of proteins in polyacrylamide and starch gels**. New York: Elsevier, 1995. 213p.
- MATAMOROS, Y. Investigaciones preliminares sobre la reproducción, comportamiento, alimentación y manejo tapezcuinte (*Cuniculus paca*, Brisson) en cautiverio. En Salinas, P.J. (ed). Zoología Neotropical. In: **Congreso Latinoamericano de Zoología**, 1982. **Anais**, p. 961-992.
- MONDOLFI, E. La laca o paca. **Defensa de la naturaleza**, Caracas, v.2, n.5, p.4-16, 1972.
- WEBER, K.; OSBORN, M. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. **Journal of Biological Chemistry**. v. 214, p. 4406-4412, 1969.