

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

PERFIL RENAL E PROTEÍNAS SÉRICA DE
CACHORROS-DO-MATO (*Cerdocyon thous*) MANTIDOS
EM CATIVEIRO

ARIANA FONSECA RAMOS

Botucatu – SP

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**PERFIL RENAL E PROTEÍNAS SÉRICA DE
CACHORROS-DO-MATO (*Cerdocyon thous*) MANTIDOS
EM CATIVEIRO**

ARIANA FONSECA RAMOS

Dissertação apresentada junto ao Programa
de Pós-Graduação em Animais Selvagens
para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Profa. Alessandra Melchert

Nome do autor: **Ariana Fonseca Ramos**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Ramos, Arianá Fonseca.

Perfil renal e proteínas sérica de cachorros-do-mato
(*Cerdocyon thous*) mantidos em cativeiro / Arianá Fonseca
Ramos. - Botucatu, 2021

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia

Orientador: Alessandra Melchert

Capes: 50501003

1. Cães. 2. Rins - Ultrassonografia. 3. Eletroforese.
4. Ultrassonografia veterinária. 5. Testes de função renal.
6. Animais em cativeiro.

Palavras-chave: *Cerdocyon thous*; Eletroforese de proteínas
séricas; Função renal; Ultrassonografia renal.

TÍTULO: PERFIL RENAL E PROTEÍNAS SÉRICA DE CACHORROS-DO-MATO (Cerdocyon thous) MANTIDOS EM CATIVEIRO

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Alessandra Melchert

Orientadora

Departamento de Clínica Veterinária

FMVZ – UNESP – BOTUCATU

Prof^a. Dra. Priscylla Tatiana Chalfun Guimarães-Okamoto

Departamento de Clínica Veterinária

FMVZ – UNESP – BOTUCATU

Prof. Dr. Rogério Giuffrida

Departamento de pós-graduação em ciência animal

Universidade do Oeste Paulista - Presidente Prudente – SP.

Data da Defesa: 16 de abril de 2021

Agradecimentos

Talvez não existam palavras suficientes e significativas que me permitam agradecer a todos com justiça e com o devido merecimento. Hoje quero agradecer a vocês que estiveram ao meu lado nas horas difíceis, pelos sorrisos diários, sem mágoas, sem rancores, agradecer de peito aberto, de alma explosiva.

Obrigada Deus, por todos os momentos maravilhosos que tenho tido em minha vida. Por todos os momentos felizes e por que não os tristes? Muitas coisas aprendi com eles, muitos valores guardei e muitas vitórias conquistei. Hoje te agradeço por esse maior momento de alegria e minha grande conquista!

Aos meu pais Mauro e Zélia, pela educação formal e humana que vocês me ofereceram, pelo esforço para que eu conseguisse realizar meus sonhos profissionais, e por estarem sempre ao meu lado, eu nem tenho como agradecer. Para tentar retribuir, eu lhes ofereço esse título!

À minha orientadora, Alessandra Melchert, pelo apoio incondicional, pelas palavras sábias, pela paciência, pelo sorriso amigo, por ter me aceitado de corpo e alma. Obrigada por ter me mostrado o caminho quando eu não sabia mais por onde ir. É um privilégio ter ao meu lado uma pessoa tão maravilhosa como você!

Ao meu irmão e Priscila, pelo fato de vocês existirem e de eu poder contar com seu apoio, amizade e companhia, eu agradeço!

Ao professor Paulo R. R. Ramos, que além de professor se tornou um amigo muito querido. Sempre me socorrendo até nas horas de descanso. Obrigada pelas risadas, conversas, ensinamentos e por ser tão maravilhoso assim!

À professora Priscylla Tatiana Chalfun Guimarães-Okamoto por todo carinho que sempre teve comigo e ter se tornado uma pessoa inesquecível, parte das minhas melhores lembranças nesse tempo que estive na Unesp; e também pela ajuda junto ao Centro de Nefrologia, sedendo os kits de SDMA para as análises desse

projeto e abrindo o espaço para que eu pudesse aprender mais uma técnica laboratorial. Muitíssimo obrigada!!!

Silvano, amigo muito querido que a pós-graduação me deu. Agradeço por tudo que já fez por mim, por me ouvir, pelas risadas, e outras coisas que aprendi com você. Obrigada por existir e ser tão maravilhoso!

Alicia, uma amiga que nunca terei como agradecer por tudo que já fez por mim, pelo apoio que sempre me deu e nunca ter me deixado na mão!

Heloísa, por cuidar e se importar com os animais desse projeto. Pela paciência e cumplicidade sempre!

Bruna, um presente que uma das disciplinas do programa me deu. Sempre ao meu lado, me dando todo apoio que precisei e preciso. Me aguentando em todos os momentos de dificuldades, mas nunca me abandonou. Obrigada amiga!

Agradeço incondicionalmente às pessoas que fizeram esse projeto possível. Como sabemos, não se desenvolve pesquisa nenhuma sozinho. Barbara, Isis, Victor, Helô, Tainá e Alicia, vocês fizeram isso possível, e por esse motivo lhes agradeço do fundo do coração!

Ana Camila e Angela, amigas que me aguentaram nos momentos de estresse, e que me colocaram sempre pra cima, me dando força e ânimo para não desistir!

Ao CEMPAS, ao professor Carlinhos e professora Sheila por toda ajuda, compreensão e liberdade consciente quanto à realização desse projeto!

Ao Departamento de Imagem da FMVZ-UNESP Botucatu e professora Maria Jaqueline Mamprim, por ter acreditado na importância desse projeto, proporcionado a realização dos exames de raio-X, ultrassom dos animais e sedido sua orientada de mestrado (Isis) para realização das avaliações e laudos dos exames.

Ao Departamento de Biofísica e Farmacologia, Instituto de Biociências-UNESP Botucatu, por me aceitarem de braços abertos para a realização dos exames de eletroforese, e pelo carinho com o qual sempre me trataram. Obrigada por toda a atenção.

Aos professores das bancas de qualificação e defesa: Alessandra, Sheila, Paulo, Priscylla Tatiana e Rogério, por todas as correções,

À FMVZ-UNESP Botucatu, que me aceitaram e me deram a oportunidade de fazer parte. Serei eternamente grata a todos os professores, coordenadores, residentes, palestrantes e funcionários que fizeram parte da minha jornada por aqui.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), ao qual sou eternamente grata.

Sumário

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	ii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	vi
CAPÍTULO I.....	1
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	2
2. OBJETIVOS.....	4
2.1 OBJETIVOS GERAIS.....	4
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
 CAPÍTULO II.....	5
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	6
3.1 <i>Características do cachorro-do-mato (Cerdocyon thous)</i>	6
3.2 <i>Efeitos do ambiente na saúde de canídeos selvagens</i>	7
3.3 <i>Função renal em canídeos selvagens</i>	8
3.3.1 <i>Métodos de avaliação da função renal</i>	9
3.3.1.1 <i>Bioquímica sérica</i>	9
3.3.1.2 <i>Ultrassonografia Modo B e Doppler</i>	13
3.3.1.3 <i>Urinálise</i>	15
3.4 <i>Eletroforese de Proteínas Séricas</i>	16
REFERÊNCIAS.....	18
 CAPÍTULO III.....	25
4. TRABALHOS CIENTÍFICOS.....	26

4.1 ARTIGO 1	26
RESUMO	27
ABSTRACT	28
INTRODUÇÃO	29
MATERIAL E MÉTODOS	31
RESULTADOS	33
DISCUSSÃO	35
CONCLUSÕES	38
REFERÊNCIAS	39
4.2 ARTIGO 2	47
RESUMO	48
ABSTRACT	49
INTRODUÇÃO	49
MATERIAL E MÉTODOS	52
RESULTADOS	54
DISCUSSÃO	56
CONCLUSÕES	60
REFERÊNCIAS	60
ANEXOS	71
Atestado CEUA	72
Atestado SISBIO	73

Lista de figuras

CAPÍTULO II

FIGURA 1: Tabela da classificação e estadiamento da DRC pela IRIS de acordo com as concentrações de creatinina sérica, SDMA e a subclassificação como proteinúria e hipertensão (IRIS, 2019).....13

FIGURA 2: Representação esquemática da separação de proteínas plasmáticas por sistema Hi-Phore (Gelman Science). Fracionamento em doze bandas (CELM, 1999).....18

CAPÍTULO III

Artigo 1

FIGURA 1: Eletroforese nativa em Gel de poliacrilamida a 7% de concentração no gel de separação num sistema descontínuo de tampões alcalinos, de amostras de soro sanguíneo de cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous* – 1, 2, 3 e 4) e cachorros domésticos (*Canis lúpus familiaris* – 5, 6, 7 e 8).....45

Artigo 2

FIGURA 1: Representação ultrassonográfica da vasculatura renal obtida por Doppler e abaixo os espectros de onda da artéria interlobar, para cálculo do Índice de Resistividade. VPS: velocidade do pico sistólico; VDF: velocidade diastólica mínima.....70

Lista de tabelas

CAPÍTULO III

ARTIGO 1

TABELA 1: Médias e desvios-padrão dos parâmetros proteína total (g/dL), porcentagens (%) e quantidades (g%) das frações protéicas de albumina, albumina total, globulina total e relação albumina/globulina (A/G) obtidas pela separação eletroforética de amostras de proteínas séricas de canídeos selvagens (*Cerdocyon thous*; n=13) domésticos (*Canis lupus familiaris*; n=7).....46

TABELA 2: Médias e desvios-padrão das porcentagens (%) e quantidades (g%) das diferentes frações protéicas de globulinas obtidas pela separação eletroforética de amostras séricas de canídeos selvagens (n=13) e domésticos (n=7).....47

ARTIGO 2

TABELA 1: Médias e desvios padrão da idade, peso corporal, frequências cardíaca (FC) e respiratória (f), pressão arterial sistólica (PAS), tempo de preenchimento capilar (TPC) e temperatura (T) e glicemia de cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*), machos (n=08), comparados com valores de referência para cães.....66

TABELA 2: Valores de médias, desvios padrão (DP) dos dados bioquímicos renais e hepáticos, proteína total, albumina e globulina de cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*), machos (n=08), comparados com valores de referência para a espécie (MATTOSO et al., 2012).....67

TABELA 3: Valores individuais de SDMA obtidos em cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) (n=08).....68

TABELA 4: Valores de médias e desvios padrão (DP) dos dados US renais dos cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*), machos (n=08).....69

RAMOS, A. F. Perfil renal e proteínas sérica de cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) mantidos em cativeiro. Botucatu, 2021. 80p. Dissertação (Mestrado em Animais Selvagens) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar e correlacionar a função renal e as proteínas séricas de um grupo homogêneo de cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) mantidos há pelo menos um ano em cativeiro, com os cachorros domésticos (*Canis lupus familiaris*). Os animais foram anestesiados e submetidos a exame físico, biometria, coleta de materiais (sangue e urina) e exames de imagem (ultrassom e raio-x). Foram incluídos no estudo cães com hemograma completo, exame de urina, glicemia e exame físico normais. Para o estudo de perfil renal, foram estudados 8 cachorros-do-mato machos, hípidos e cativos. Foram avaliados os seguintes parâmetros renais: bioquímica sérica (uréia, creatinina, dimetilarginina simétrica-SDMA); e ultrassonografia renal modo B e Doppler (características dos rins, índice de resistividade renal e detectar possível *Dioctopyma renale*); perfil lipídico (triglicérides e colesterol total). Os valores de SDMA obtidos oscilaram entre 6 a 9 µg/dL. O IR foi obtido a nível da artéria interlobar, com valores médios de $0,52 \pm 0,10$ e $0,50 \pm 0,05$, para os rins esquerdo e direito, respectivamente. No estudo eletroforético, foram avaliados 13 cachorros-do-mato machos, hípidos e cativos, e 7 cães domésticos. Foi realizada eletroforese sérica em gel de poliacrilamida 7% NATIVE-PAGE para a avaliação das proteínas. Os perfis de proteínas séricas das duas espécies apresentaram diferenças na apresentação e quantificação das frações. Os cães domésticos apresentaram quantidades superiores de albumina sérica, albumina total e relação albumina/globulina, enquanto os cachorros-do-mato apresentaram quantidade superior de globulinas totais. Como conclusão, o marcador SDMA em *Cerdocyon thous* hípidos apresentou valores similares aos de cães domésticos, abaixo de 14 µg/dL. O IR renal foi passível de mensuração na espécie, ao nível da artéria interlobar, sendo obtido com maior facilidade no rim esquerdo e apresentando valores de acordo com a literatura para cães. Este é o primeiro relato que descreve os níveis de SDMA, IR no interior do parênquima

renal e as frações proteicas séricas fracionadas pela técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida 7% NATIVE-PAGE em cachorros-do-mato hígidos, podendo ser usados como base de comparação para a espécie.

Palavras-chave: função renal; ultrassonografia renal; eletroforese de proteínas séricas; *Cerdocyon thous*

RAMOS, A. F. Renal profile and serum protein of wild dogs (*Cerdocyon thous*) kept in captivity. Botucatu, 2021. 80p. Dissertação (Mestrado em Animais Selvagens) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

The mean of the study was to evaluate and correlate the renal function and the protein profile of a homogeneous group of Crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) kept in captivity for at least one year, with domestic dogs (*Canis lupus familiaris*). The animals were anesthetized and submitted to physical examination, biometric measures, gathering samples (blood and urine) and imaging tests (ultrasound and x-ray). Dogs with a complete blood count, urine test, blood glucose and normal physical examination were included in the study. For the renal outline study, 8 healthy males and captive Crab-eating fox were evaluated. The serum concentrations of SDMA and RI were evaluated. The obtained SDMA values ranged from 6 to 9 µg / dL. The RI was obtained at the interlobar artery with mean values of 0.52 ± 0.10 and 0.50 ± 0.05 , for the left and right kidneys, respectively. In the electrophoretic study, 13 males, healthy and captive bush dogs and 7 domestic dogs were evaluated. Serum electrophoresis was performed on 7% NATIVE-PAGE polyacrylamide gel for protein analyses. The serum protein of the two species showed differences in the presentation and quantification of fractions. Domestic dogs had higher amounts of serum albumin, total albumin and albumin / globulin ratio, while Crab-eating fox had higher amounts of total globulins. In conclusion, the SDMA values in healthy *Cerdocyon thous* were similar to those of domestic dogs, below 14 µg / dL. Renal RI was measurable in the species, at the interlobar artery, being more easily obtained in the left kidney and presenting values according to the literature for dogs. This is the first report describing the SDMA values, RI inside the renal parenchyma and the serum protein fractionated by the vertical 7% NATIVE-PAGE electrophoretic polyacrylamid gel technique in healthy wild dogs, which can be used as a basis of comparison for the species.

Key words: Renal function; renal ultrasound; serum protein electrophoresis; *Cerdocyon thous*

CAPÍTULO I

1 Introdução e Justificativa

Os canídeos silvestres apresentam particularidades bastante específicas da espécie, podendo estes fatores convergir como um ponto determinante na sobrevivência e perpetuação deste grupo animal (GOMES, 2007). Entre as seis espécies de canídeos conhecidas no Brasil, temos o *Cerdocyon thous*, também conhecido como cachorro-do-mato, lobinho, lobete e graxaim-do-mato (BEISIEGEL, 1999), com ampla distribuição na América do Sul (LEMOS, 2007), sendo esta espécie um exemplo de sucesso ecológico em adaptabilidade relacionada à alimentação e reprodução (MASSARA, 2009).

Os cachorros-do-mato apresentaram uma alta habilidade de se adaptar ao ambiente antropizado no quesito alimentar, podendo, dentro do ambiente urbano, reverter o aproveitamento energético antes constituído de plantas, raízes, frutas e proteína animal (insetos, pequenos animais e carcaças de animais) para os alimentos disponíveis em lixões dos centros urbanos (BEISIEGEL; LEMOS; AZEVEDO, 2013). Esse sucesso não é o mesmo quando relacionado a outros canídeos como *Speothos venaticus* (Cachorro-vinagre) e *Chrysocyon brachyurus* (Lobo-guará), os quais são bastante sensíveis à ambientes antropizados, possuindo muita especificidade alimentar e reprodutiva (BERTA, 1982).

Importantes fatores conservacionistas tratados na atualidade, como os impactos clínicos de mudança brusca de comportamento alimentar, ambiental e reprodutivo em cada espécie são pouco estudados e difundidos (SANTOS et al., 2003). O tipo de alimentação atualmente disponibilizado para animais domésticos e o próprio sistema de cruzamento endogâmico praticado nesta espécie (*Canis familiares*) já são conhecidos por se traduzirem em problemas metabólicos e nutricionais a curto e longo prazo, trazendo consigo importantes impactos na saúde animal (PEREIRA NETO et al., 2014).

Embora as populações pareçam estáveis, há ameaças à espécie, como retaliação/prevenção à predação de animais domésticos (frequentemente

vítima de envenenamento e tiros), confrontos com cachorros domésticos e doenças, como sarna sarcóptica, cinomose, raiva, parvovirus, *Leishmania* spp. e *Leptospira interrogans* (BEISIEGEL; LEMOS; AZEVEDO, 2013). Apesar desses conhecimentos, pouco ainda se sabe a respeito da fisiologia e parâmetros da espécie.

Segundo GOMES, 2007, em canídeos silvestres, a complexidade envolvida no diagnóstico de doenças metabólicas e sistêmicas ainda é um problema entre os profissionais que trabalham na área, onde o impacto da interferência antrópica na condição clínica destes animais é negligenciado e pouco discutido, estudado e difundido, sendo relatados ainda hoje, muito poucos casos de alterações nutricionais e metabólicas. Um exemplo disso são as alterações que geralmente são identificadas na necropsia de forma tardia, e não buscando um diagnóstico e tratamento prévio destas alterações.

Deste modo, o presente estudo pretende avaliar a função renal e a eletroforese sérica de cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) de cativeiro, buscando comparar esses perfis aos de cães domésticos, uma vez que parâmetros desta espécie são frequentemente usados na interpretação de exames dos canídeos selvagens. Os dados gerados poderão auxiliar na detecção de alterações renais e do eletroforetograma de *Cerdocyon thous*.

2 Objetivos

2.1 Objetivo Geral

Este estudo avalia o perfil eletroforético, a condição nutricional e a função renal de cachorros-do-mato mantidos em cativeiro.

2.2 Objetivos Específicos

O projeto ainda tem como objetivos específicos:

1. Determinar parâmetros renais como a dimetilarginina sérica (SDMA) e o Índice de Resistividade (IR) Renal para *Cerdocyon thous* hígidos, uma vez que estes ainda não foram descritos para cachorros-do-mato.
2. Comparar os parâmetros renais entre cachorros-do-mato com os valores estabelecidos na literatura para cães domésticos;
3. Determinar o padrão da eletroforese de proteínas séricas em gel de poliacrilamida a 7% em *Cerdocyon thous* hígidos, mantidos em cativeiro sob as mesmas condições ambientais e manejo;
4. Comparar os dados eletroforéticos de proteínas séricas entre cachorros-do-mato e domésticos, ambos determinados com a mesma técnica laboratorial.

CAPÍTULO II

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Características do cachorro-do-mato (*Cerdocyon Thous*)

Segundo NOWAK (1991), a ordem *Carnivora* possui 7 famílias, dentre elas a família *Canidae*, que está subdividida em 3 subfamílias com base em sua dentição: *Caninae*, com os gêneros *Canis* (*Alopex*, *Vulpes*, *Fennecus*, *Urocyon*, *Nyctereutes*, *Dusicyon*, *Cerdocyon*, *Atelocynus* e *Chrysocyon*), *Simocyoninae* (*Speothos*, *Cuon* e *Lycaon*) e *Otocyoninae* (*Otocyon*). A classificação do animal estudado é do gênero: *Cerdocyon* e espécie: *Cerdocyon thous* (NOVAIS, 2003).

O cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) é um canídeo de médio porte (5,0 – 7,0 kg) de ampla distribuição na América do Sul, ocorrendo do sul da Colômbia e Venezuela ao norte da Argentina, Paraguai e Uruguai (LE MOS, 2007). São também conhecidos como rapoza, lobinho, lobete e graxinin-do-mato e são encontrados em vários tipos de ambientes, podendo existir sazonalidade entre os hábitos alimentares (BEISIEGEL, 1999).

Os cachorros-do-mato são onívoros e oportunistas. Alimentam-se de frutos, insetos, crustáceos, pequenos mamíferos, aves, répteis, anfíbios e ovos de diversas espécies; atuam como dispersores de sementes de frutas, e alimentam-se de carcaças de animais domésticos, como bovinos, e de espécies silvestres, como tamanduá-bandeira e gato-mourisco. São monogâmicos, vivendo em casais ou grupos familiares estendidos (BEISIEGEL; LEMOS; AZEVEDO, 2013). Os machos e as fêmeas exploram ambientes em conjunto e, durante as atividades de forrageamento, os pais e os filhotes de até um ano de idade se dispersam em um raio de 100 metros na maior parte do tempo, se aproximando nos momentos de descanso (EM et al., 2013).

O manejo de animais de cativeiro é obtido com sucesso, as fêmeas chegam a ter duas ninhadas de três a seis filhotes por ano. A maturidade sexual ocorre aos nove meses, o período de gestação varia de 52 a 59 dias e a expectativa média de vida é acima de dez anos (NOVAIS, 2003). Já no início da

vida apresentam alguns padrões comportamentais preditivos da sua futura organização social, como: brincadeiras competitivas com objetos; os pais dividem as presas e as espalham pelo viveiro de forma a não causar competição entre filhotes; os filhotes não apresentam tanto medo quando confrontados sozinhos com presas (BEISIEGEL, 1999).

3.2 Efeitos do ambiente na saúde de canídeos selvagens

Quando os canídeos estão em ambientes antropizados e em cativeiro, podem desenvolver desordens metabólicas, que podem culminar em patologias articulares, renais e cardíacas. Aumento de peso em animais selvagens pode propiciar ao surgimento da síndrome metabólica, assim como a desnutrição também é um sério problema, afetando diretamente o sistema imune e estrutura corporal. A obesidade é uma desordem nutricional complexa e multifatorial, e exige manejo adequado. As causas incluem maior disponibilidade de alimento, baixo nível de atividades e fatores predisponentes genéticos (HIPÓLITO et al., 2018)

O aumento do peso corporal em animais selvagens pode resultar em alterações metabólicas, como hiperglicemia, alterações locomotoras e renais, entre outras (GOMES, 2007). A Síndrome Metabólica (SM), decorrente do ganho excessivo de peso, é caracterizada por dislipidemia (níveis elevados de colesterol e triglicérides), hipertensão arterial, resistência insulínica e hiperglicemia em jejum (VERKEST, 2014).

No ambiente antropizado, o *C. thous*, conseguiu se adaptar no quesito alimentar, podendo, dentro do ambiente urbano literalmente, reverter o aproveitamento energético antes constituídos de plantas, raízes, frutas e proteína animal (insetos, pequenos animais e carcaças de animais), para os alimentos disponíveis em lixões dos grandes centros urbanos, não ocorrendo o mesmo quando relacionado a outros canídeos como *Speothos venaticus* (cachorro vinagre) e *Chrysocyon brachyurus* (lobo guará), espécies muito com

muita especificidade alimentar e reprodutiva, bastante sensíveis a ambientes antropizados (SILVA, 2017).

A interferência humana nos hábitos dos animais silvestres envolve a questão alimentar, uma vez que o homem remove da natureza cada vez mais as fontes de alimentação dos animais silvestres para a produção agrícola de monoculturas, indústria e exploração de recursos naturais, e estes acabam por se adaptar aos alimentos disponíveis localmente. Porém, os impactos desta alteração ainda não foram mensurados, ou mesmo, como não se têm parâmetros de normalidade, as respostas aos acontecimentos futuros, são muito empíricas e imprevisíveis (FORSYTH et al., 2014).

3.3 Função renal em canídeos selvagens

Animais selvagens como *Cerdocyon thous* podem ser acometidos por diversas doenças infecciosas que culminam em alterações renais. Entre estas, podemos citar o parasitismo por *Dioctophyme renale*, um verme gigante que parasita os rins, para o qual canídeos selvagens e domésticos atuam como hospedeiros definitivos. O parasitismo renal causado por *D. renale* pode causar destruição total do parênquima renal, atrofia e fibrose dos túbulos renais, dilatação da pelve renal e obstrução uretral (RIBEIRO; VEROCAI; TAVARES, 2009).

Outra condição infecto-contagiosa que repercute na função renal é a leishmaniose. O cahorro-do-mato é considerado reservatório selvagem de muitas doenças zoonóticas, particularmente a leishmaniose visceral (LV). Estes animais apresentam vários sinais clínicos, incluindo perda de peso progressiva, diferentes alterações cutâneas, onicogribose, opacidade da córnea, linfadenomegalia, hepatoesplenomegalia, fraqueza, anemia, desidratação, diarreia e insuficiência renal, antes da morte. A insuficiência renal ocorre provavelmente a partir de uma lesão secundária causada por imunocomplexos depositados no glomérulo renal, responsável por glomerulonefrite (SILVA et al., 2014).

Ainda, a leptospirose pode acometer os cachorros-do-mato, sendo nesta espécie predominantes os sorovares *Hardjobovis* e *Grippotyphosa*. Animais acometidos pela infecção podem ser doentes portadores convalescentes e portadores assintomáticos. Nos animais que conseguem sobreviver à fase aguda da leptospirose, os microrganismos alcançam os rins e passam a ser excretados pela urina por períodos de tempo variados, caracterizando-os como portadores convalescentes (OLIVEIRA; ARSKY; CALDAS, 2013).

Outras doenças renais também são descritas em canídeos selvagens, como no relato de um cachorro-do-mato cativo de três meses de idade que apresentou agenesia renal unilateral (LINS, 2020). Também, duas raposas-vermelhas idosas em cativeiro foram eutanaziadas apresentando osteoartrite e disfunção renal com características similares às de canídeos domésticos idosos (LAWIER et al., 2017). Foi descrita a nefrolitíase por cálculos de cistina em pelve renal em um lobo guará (MUSSARD; COPPO, 1999). Um estudo que avaliou as causas mais comuns de mortalidade em cães selvagens africanos (*Lycaon pictus*) em cativeiro, ao longo de quase 40 anos, detectou que, dentre os animais com idade avançada, a doença renal crônica (DRC) foi a principal causa de mortalidade (LAMGLAIT et al., 2015).

3.3.1 Métodos de avaliação da função renal

3.3.1.1 Bioquímica sérica

A dosagem bioquímica de enzimas nos ajuda a descobrir a natureza de um processo patológico; representa um exame abrangente e, associada a outros exames laboratoriais e avaliação clínica, auxilia no diagnóstico final, formação de prognóstico e no acompanhamento da eficácia do tratamento escolhido (COLES, 1984).

Na medicina de animais silvestres, os exames laboratoriais já podem ser considerados como importante ferramenta no diagnóstico e

prevenção doenças, e até mesmo como biomarcadores de agressões ambientais, uma vez que o ambiente influencia na sanidade das espécies que interagem com o mesmo (GOMES, 2007; MATTOSO et al., 2012).

Apesar da creatinina sérica ser o biomarcador mais utilizado na avaliação renal, este produto do metabolismo muscular é um marcador limitado e insensível para a avaliação renal, pois apresenta 20% de excreção de origem tubular e mantém valores normais até que a TFG seja reduzida aproximadamente em 75% (VIEIRA, 2018).

A creatinina pode ainda ser influenciada por fatores de origem extra renal, possuindo uma íntima relação com a massa muscular, raça e idade de cães e gatos, portanto, animais idosos e caquéticos hígidos ou acometidos por demais comorbidades demonstram valores subestimados de creatinina. Ainda, aqueles que apresentarem maiores níveis de massa muscular também colaboram com um falso valor nos valores final da creatinina sérica como biomarcador de função renal (HALL et al., 2015).

A creatinina sérica não é um bom marcador na sinalização de lesão renal aguda nos quadros de sepse, devido a sua baixa produção decorrente dos distúrbios hepáticos, térmicos e pressóricos concomitantes, os quais levam a uma subestimação, culminando em diferença entre a função renal aparente e a real (DOI et al., 2009). Adicionalmente, a creatinina sérica pode apresentar falsos valores laboratoriais nas condições de amostras hemolisadas, lipêmicas, ictéricas e também pode demonstrar-se aumentada sob a influência da desidratação e de certas medicações (cefalosporinas, aminoglicosídeos, trimetropina e fenacemida), com efeito aditivo ao valor basal da creatinina sérica do paciente em tratamento (NANJI et al., 1987; PEAKE e WHITING, 2006).

A dimetilarginina simétrica (SDMA) é um biomarcador renal, que detecta precocemente lesões renais, revelando alterações que antecedem oscilações da tradicional detecção da creatinina sérica (RELFORD, ROBERTSON e CLEMENTS, 2016).

O biomarcador SDMA é um aminoácido metilado (arginin) de peso molecular similar à creatinina, formada por meio da degradação proteica de proteínas oriundas da alimentação (HOKAMP; NABITY, 2016). Quando

degradadas por enzimas catalisadoras, estas proteínas são convertidas em aminoácidos essenciais, incapazes de serem produzidos pelo corpo (SCHWEDHELM; BÖGER, 2011). A arginina é um aminoácido essencial durante a infância e que após a maturidade dos mamíferos pode ser sintetizada pelos rins e fígado (KEELE, 2008).

O SDMA é a segunda variante da dimetilação da arginina, a qual também participa na inibição da produção de óxido nítrico (FLECK et al., 2003). O SDMA é o biomarcador mais utilizado nas doenças renais por apresentar uma exclusiva eliminação pela urina, sendo também usada em estudos de doenças cardiovasculares (KIELSTEIN et al., 2011; SCHWEDHELM; BÖGER, 2011; NABITY et al., 2015).

HALL et al., 2014, relataram que além da SDMA estar correlacionada com a TFG, este biomarcador também apresentou valores crescentes e progressivos quando comparado à creatinina sérica em felinos em fase de perda muscular. Os valores de SDMA aumentaram durante o envelhecimento dos felinos, sendo o oposto da creatinina sérica, que diminuiu durante a mesma fase.

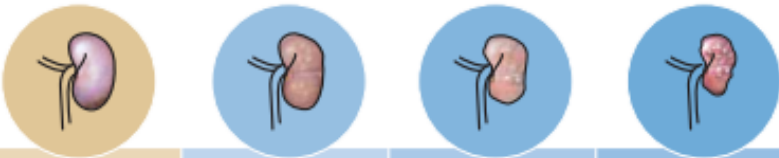
Também já foi comprovado que o SDMA não se altera em cães e gatos que apresentaram baixos índices de massa muscular (HALL et al., 2014; HALL et al., 2015; HALL et al., 2016a). Em contrapartida, devido a sua extrema dependência correlacionada à massa muscular, a creatinina sérica torna-se um biomarcador limitado e insensível para a monitoração da função renal em cães idosos e/ou com baixo escore corporal (NABITY et al., 2015).

HALL et al., 2016b, relataram um estudo prospectivo nutricional em cães nefropatas e geriátricos sem azotemia, com concentrações séricas elevadas de SDMA, que demonstrou que quando alimentados com ração terapêutica teste do estudo, estes apresentaram uma melhora da função renal, redução dos valores elevados de SDMA e normais de creatinina, enquanto o grupo alimentado com rações comerciais apresentou aumento das concentrações de SDMA (já aumentadas), não havendo interferência na concentração de creatinina sérica. Todavia, ainda não existem estudos veterinários que avaliem este marcador em pacientes em desnutrição clínica ou em efeito catabólico patológico.

RELFORD, ROBERTSON e CLEMENTS (2016) reforçaram que tal biomarcador pode ser utilizado em três diferentes formas: como marcador de diagnóstico precoce, como marcador endógeno de TFG e como marcador de monitoração da DRC. Por ser específico às nefropatias primárias e diferentemente da creatinina sérica, este marcador não se encontra aumentado nas doenças hepáticas, no hiperadrenocorticismismo e nas cardiopatias, a não ser que haja uma nefropatia concomitante (YERRAMILLI et al., 2016)

Além da concentração sérica de creatinina e do SDMA como critério de classificação para estadiamento da doença renal crônica (DRC) em cães, sua subclassificação baseia-se nos valores da razão proteína:creatinina urinária (RPC) e da pressão arterial sistólica (PAS) para o estabelecimento de diagnóstico, tratamento e prognóstico da enfermidade (IRIS, 2019).

Cães com DRC são classificados de acordo com a concentração sérica de creatinina em quatro estádios, de acordo com a Sociedade Internacional de Interesse Renal (Internacional Renal Interest Society - IRIS), e aceitos pela Sociedade Americana e Europeia de Nefrologia e Urologia Veterinária (Figura 2) (IRIS, 2019).



		Stage 1 No azotemia (Normal creatinine)	Stage 2 Mild azotemia (Normal or mildly elevated creatinine)	Stage 3 Moderate azotemia	Stage 4 Severe azotemia
Creatinine in mg/dL		Less than 1.4 (125 μ mol/L)	1.4–2.8 (125–250 μ mol/L)	2.9–5.0 (251–440 μ mol/L)	Greater than 5.0 (440 μ mol/L)
Stage based on stable creatinine	Canine				
	Feline	Less than 1.6 (140 μ mol/L)	1.6–2.8 (140–250 μ mol/L)	2.9–5.0 (251–440 μ mol/L)	Greater than 5.0 (440 μ mol/L)
SDMA* in μg/dL		Less than 18	18–35	36–54	Greater than 54
Stage based on stable SDMA	Canine				
	Feline	Less than 18	18–25	26–38	Greater than 38
UPC ratio		Nonproteinuric <0.2 Borderline proteinuric 0.2–0.5 Proteinuric >0.5			
Substage based on proteinuria	Canine				
	Feline	Nonproteinuric <0.2 Borderline proteinuric 0.2–0.4 Proteinuric >0.4			
Systolic blood pressure in mm Hg		Normotensive <140 Prehypertensive 140–159			
Substage based on blood pressure		Hypertensive 160–179 Severely hypertensive $\geq$ 180			

Figura 1 Tabela da classificação e estadiamento da DRC pela IRIS de acordo com as concentrações de creatinina sérica, SDMA e a subclassificação como proteinúria e hipertensão (IRIS, 2019).

3.3.1.2 Ultrassonografia Modo B e Doppler

Poucos são os estudos e dados publicados sobre as características ultrassonográficas dos diferentes órgãos de animais selvagens, dificultando a interpretação dos exames. Porém, as espécies selvagens podem ser submetidas a exames ultrassonográficos bem-sucedidos, considerando que a ecogenicidade dos órgãos é semelhante à das espécies domésticas (BARR; HOLT; GIBBS, 1990; SILVA, 2014).

A ultrassonografia permite ainda realizar a avaliação do Índice de Resistividade (IR) Renal, também conhecido como Índice de Pourcelot, que mede a resistência encontrada pelo fluxo sanguíneo durante a perfusão de um determinado órgão (SANTOS, 2012), calculando a relação entre o pico

de velocidade sistólica e a velocidade diastólica final. É um método não invasivo, que pode auxiliar no diagnóstico das doenças renais (TIPISCA et al., 2015), mas é de baixa sensibilidade segundo MORROW et al., 1996, no entanto, quando o índice está elevado, este pode ser considerado bastante específico para detectar lesões renais antes de alterações ultrassonográficas no parênquima (SANTOS, 2012).

SANTOS, 2012 e MORROW et al., 1996 sugerem que as principais condições que podem levar ao aumento do IR estão relacionadas à vasculite ou inflamações ativas dos túbulos intersticiais, hipotensão, necrose, ou ainda compressão mecânica por massas.

NOVELLAS et al. (2007) avaliaram o IR renal de 27 cadelas hípidas na região dos polos cranial, médio e caudal de cada rim, e não encontraram diferença estatística entre os rins direito e esquerdo ou entre as regiões avaliadas. Entretanto, o estudo de SANTANA et al. (2009), que comparou os resultados de IR com a ecobiometria dos rins, descreveu menores valores de IR no rim esquerdo, o que poderia indicar uma maior perfusão deste rim em relação ao direito. Os autores relacionaram essa maior perfusão aos maiores valores ecobiométricos e de volume do rim esquerdo quando comparado ao direito. No entanto, ressaltaram que a obtenção dos valores de IR para o rim direito foi significativamente mais difícil do que para o rim esquerdo, em vista da localização anatômica que dificulta a realização do exame, podendo ocasionar artefatos de técnica. (SANTANA et al., 2009)

Entretanto, de uma forma geral, a maioria dos estudos não observaram diferenças estatísticas significantes entre os índices de resistividade dos rins direito e esquerdo. Os estudos propõem valores de $0,62 \pm 0,05$ para o IR renal em cães hípidos e acima de 0,70 para rins com alterações de perfusão (MORROW et al., 1996; NOVELLAS et al., 2007; CHANG et al., 2010; SANTOS, 2012).

É importante considerar ainda que alterações como estresse, exercícios e digestão podem causar variações na frequência cardíaca e na pressão arterial, alterando a morfologia da onda e consequentemente os valores do IR (NOVELLAS et al., 2007).

Influência da idade sobre o IR foi demonstrada no estudo de CHANG et al., 2010, relatando que animais neonatos (até 4 meses) possuem valores de IR ($0,75 \pm 0,05$) maiores do que os mais velhos (4 meses a 7 anos) ($IR = 0,65 \pm 0,05$). Especulou-se que esta diferença de IR esteja relacionada ao fato dos neonatos possuírem o desenvolvimento renal imaturo, com baixo fluxo sanguíneo renal e consequentemente da taxa de filtração glomerular, os quais vão se estabilizando com a idade.

Nos processos patológicos de maneira geral, quando substâncias vasoconstritoras são liberadas após uma lesão renal, o fluxo diastólico é reduzido, resultando em uma velocidade final mais baixa, o que leva ao aumento no índice de resistividade (MORROW et al., 1996). Entretanto, os valores do IR devem ser associados a outros métodos para interpretação, como modalidades de diagnóstico por imagem, exames físico e laboratorial (SANTOS, 2012), visto que em alguns casos, o IR pode estar normal em pacientes com doença renal, principalmente nos casos de doenças glomerulares (MORROW et al., 1996). Neste tipo de alteração não ocorre aumento significativo do IR, o que pode indicar que as alterações deste índice estão principalmente relacionadas ao local da lesão, ao invés da severidade da mesma. Sedação, anestesia ou hipertensão podem alterar esses valores (NOVELLAS et al., 2007).

Num contexto geral, o fluxo diastólico arterial reduzido indica um aumento generalizado da resistência vascular, sugerindo que a avaliação Doppler e a mensuração do índice de resistividade são úteis no diagnóstico de cães e gatos azotêmicos com afecções que levam ao aumento da resistência vascular, tais como: necrose tubular aguda, pielonefrite, nefrite intersticial e hidronefrose (CARVALHO, 2009; SANTOS, 2012).

3.3.1.3 Urinálise

A análise da urina faz parte da avaliação da saúde do animal, e oferece informações valiosas sobre condições sistêmicas. A composição da urina depende basicamente de três fatores: quantidade e composição do plasma

que chega aos rins e funções renais como filtração, secreção e absorção (NELSON & COUTO, 2001). De acordo com ROSA, 2008, a realização do exame de urina associado aos dados da resenha e sinais clínicos é indispensável na identificação de diversas doenças. Entretanto, embora esse exame seja uma ferramenta acessível e barata para o diagnóstico e tratamento de diversas anormalidades do trato urinário, ainda é muito negligenciado na medicina veterinária (PARRAH et al., 2013).

3.4 Eletroforese de proteínas séricas

A técnica laboratorial conhecida como eletroforese atua fracionando proteínas existentes em vários tipos de fluidos, para tanto esse procedimento leva em conta as cargas elétricas e/ou o peso molecular das mesmas. Em medicina veterinária, essa técnica laboratorial possui utilização valiosa, auxiliando no diagnóstico e prognóstico de inúmeros males na área clínica; todavia a eletroforese tem atuação importante em muitas outras áreas (OLIVEIRA, 2015).

A Eletroforese de Proteínas Séricas (EPS) é um método laboratorial simples, que permite separar proteínas do plasma em frações, trazendo informações úteis para a investigação e diagnóstico de diversas doenças, mais utilizado para investigação de anormalidades protéicas presentes no sangue (MCPHERSON, 1999). O exame consiste em aplicar a amostra do soro em um meio sólido e submetê-la a um potencial elétrico. As proteínas percorrem distâncias diferentes, formando bandas denominadas: albumina, alfa-1-globulina, alfa-2-globulina, beta-globulina e gama-globulina, que são em seguida, quantificadas (PAULA E SILVA, 2008).

Todas as moléculas de proteínas são formadas por uma cadeia de aminoácidos, unidos entre si por ligações peptídicas. Esses, aminoácidos possuem uma estrutura em comum, contendo um grupo amino e um grupo carboxil e o chamado grupamento lateral. Este último é a estrutura que fornece identidade ao aminoácido. A combinação de diferentes aminoácidos, bem como

a quantidade de aminoácidos presentes em uma molécula de proteína, confere a ela peso e carga elétrica distinta (PAULA E SILVA, 2008).

A eletroforese é uma técnica de separação de proteínas utilizando-se de forças eletroforéticas e eletroendosmóticas presentes no sistema. As frações separadas são visibilizadas a partir de corante sensível a proteínas. Os resultados devem ser sempre expressos sob forma percentual e de concentração das diversas frações e em forma gráfica. A amostra de soro, rica em proteínas, é aplicada sobre um meio composto de acetato de celulose ou gel de agarose e, em seguida, sofre a ação de um potencial elétrico gerado por um polo positivo (anodo) e outro negativo (catodo), provocando a migração das proteínas em direção ao anodo e, de acordo com o peso molecular e carga elétrica, elas percorrem distâncias distintas, gerando diferentes bandas, representadas por albumina e as globulinas alfa, beta e gama. Em seguida, é realizada a revelação das frações protéicas corando-se as bandas, o que gera o aspecto visto na Figura 2 (BURTIS, 1998, MOURA, 1998, PAULA E SILVA, 2008).

Além disso, a EPS pode ser uma ferramenta importante para monitorar pacientes por longos períodos, quando existem alterações específicas nos níveis de determinadas proteínas, como no mieloma múltiplo, síndrome nefrótica e cirrose, por exemplo (MOURA, 1998 E PAULA E SILVA, 2008).

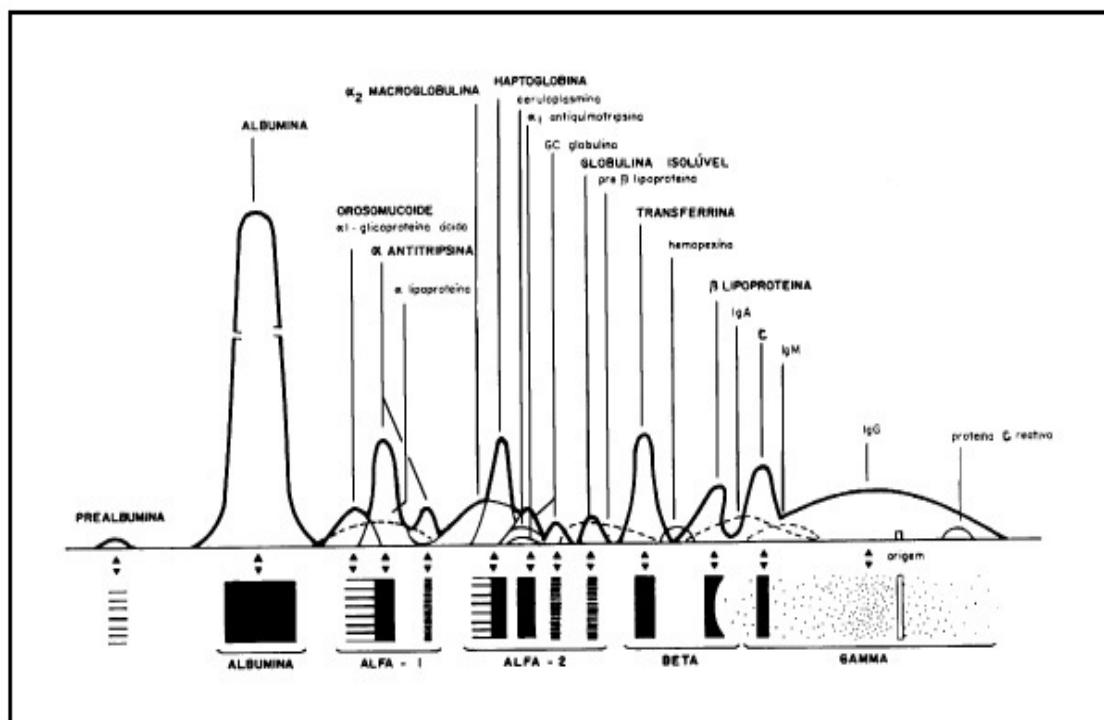


Figura 2: Representação esquemática da separação de proteínas plasmáticas por sistema Hi-Phore (Gelman Science). Fracionamento em doze bandas (CELM, 99).

REFERÊNCIAS

- BARR, F. J.; HOLT, P. E.; GIBBS, C. Ultrasonographic measurement of renal parameters. **Journal of Small Animal Practice** 31, n.4, p.180 – 184, 2008.
- BEISIEGEL, B. Contribuição ao estudo da história natural do cachorro do mato, *Cercodon thous*, e do cachorro vinagre, *Speothos venaticus*. 1999.
- BEISIEGEL, B. D. M.; LEMOS, F. G.; AZEVEDO, F. C. Avaliação do risco de extinção do cachorro-do-mato *Cercodon thous*. 2013.
- BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R. Fundamentos de química clínica. 4. ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**; 1998. p.96-102.
- CARVALHO, C. F. Ultrassonografia Doppler em Pequenos Animais. 1.ed. São Paulo: **Roca**, 2009. P.274.

CELM. Cia. Equipadora de Laboratórios Moderno. Eletroforese em Agarose Geral. Guia de eletroforese em agarose geral. 1999. <https://silo.tips/download/eletroforese-em-agarose-geral>. Acesso em 01 de abril de 2021.

CHANG, Y. J.; CHAN, I.; CHENG, F. P.; WANG, W. S.; LIU, P. C.; LIN, S. L. Relationship between age, plasma renin activity, and renal resistive index in dogs. **Veterinary Radiology & Ultrasound**. 2010. doi:10.1111/j.1740-8261.2010.01669.x.

COLES, E.H. Patologia clínica veterinária. 3.ed. São Paulo: **Manole Ltda.**, 1984.

DOI, K.; YUEN, P. S. T.; EISNER, C.; HU, X.; LEELAHAVANICHKUL, A.; SCHNERMANN, J.; STAR, R. A. Reduced production of creatinine limits its use as marker of kidney injury in sepsis. **Journal of the American Society of Nephrology**. v.20, n.6, p.1217-1221, 2009.

EM, P. D. E. P. et al. Mamíferos do Cerrado de Mato Grosso , com ênfase no uso do espaço por *Cercopithecus thous* (CARNIVORA, CANIDAE) e *Mazama gouazoubira* (ARTIODACTYLA , CERVIDAE). 2013.

FLECK, C.; SCHEITZER, F.; KARGE, E.; BUSCH, M.; STEIN, G. Serum concentrations of asymmetric (ADMA) and symmetric (SDMA) dimethylarginine in patients with chronic kidney diseases. **Clínica Chimica Acta**, v.336, p.1-12, 2003.

FORSYTH, D. M.; WOODFORD, L.; MOLONEY, P. D.; HAMPTON, J. O.; WOOLNOUGH, A. P.; TUCKER, M. How does a carnivore guild utilise a substantial but unpredictable anthropogenic food source? Scavenging on hunter-shot ungulate carcasses by wild dogs/dingoes, red foxes and feral cats in south-eastern Australia revealed by camera traps. **PLoS One**, v.9, n.6, 2014.

GOMES, M. S. Carnívora - canidae (lobo-guará, cachorro-do-mato, raposa-do-campo). In: Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL. Tratado de animais selvagens. São Paulo: **Roca**, p.492-504, 2007.

HALL, J. A.; YERRAMILLI, M.; OBARE, E.; YERRAMILLI, M.; JEWELL D. E. Comparison of serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine as kidney function biomarkers in healthy geriatric cats fed reduced

protein foods enriched with fish oil, L-carnitine, and medium-chain triglycerides. **The Veterinary Journal**, v.202, n.3, p.588–596, 2014.

HALL, J. A.; YERRAMILLI, M.; OBARE, E.; YERRAMILLI, M.; MELENDEZ, L. D.; JEWELL, D. E. Relationship between lean body mass and serum renal biomarkers in healthy dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.29, p.808-814, 2015.

Hall, J. A.; Yerramilli, M.; Obare, E.; Yerramilli, M.; Almes, K.; Jewell, D. E. Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in dogs with naturally occurring chronic kidney disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.30, p.794-802, 2016(a).

Hall, J. A.; Macleay, J.; Yerramilli, M.; Obare, E.; Yerramilli, M.; Schiefelbein, H.; Paetau-Robinson, I.; Jewell, D. E. Positive impact of nutritional interventions on serum symmetric dimethylarginine and creatinine concentrations in client-owned geriatric dogs. **Plos One**, v.11, n.4, p.1-16, 2016(b).

HOKAMP, J. A.; NABITY, M. B. Renal biomarkers in domestic species. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 45, p.28-56, 2016.

HIPPÓLITO, A. G.; TESTA, C. A. E.; FERRO, B. S.; OLIVEIRA, E. L. R.; OKAMOTO, P. T. C. G.; MELCHERT, A. Avaliação do escore de condição corporal de machos adultos de cachorros-do-mato (*Cercopithecus thomasi*) sob cuidados humanos. **Archives of Veterinary Science**, p. 1–4, 2018.

IRIS. Treatment recommendations for CKD in Dogs (2015). Disponível em: <http://www.iris-kidney.com/pdf/treatment-recommendation-dogs.pdf>. Acesso em 21 de Setembro de 2019.

IRIS. Staging of CKD (modified 2019). Disponível em: <http://iriskidney.com/guidelines/>. Acesso em 21 de Dezembro de 2019.

KEELE, J. A. Regulation of Arginine Metabolism Following Acute Myocardial Infarction in Mice. 2008. 98f. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) – Department of Molecular Biology, University of Wyoming, Laramie, 2008.

KIELSTEIN, J. T.; VELDINK, H.; MARTENS-LOBENHOFFER, J.; HALLER, H.; BURG, M.; LORENZEN, J. M.; LICHTINGHAGEN, R.; BODE-BÖGER, S. M.; KLIEM, V. SDMA is an early marker of change in GFR after living-related kidney

66 donation. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 26, n. 1, p. 324–328, 2011.

LAMGLAIT, B.; TRUNET, E.; LECLERC, A. Retrospective study of mortality of captive African wild dogs (*Lycaon pictus*) in a French zoo (1974-2013). **Journal of Zoo and Aquarium Research**, v.3, n.2, p.47-51, 2015.

LAWIER, D.; BECKER, J.; GOODMAN, P.; EVANS, R.; KOHN, L. Significant Diseases of Two Very Aged Red Foxes (*Vulpes vulpes*, Demarest 1820). **Journal of Veterinary Anatomy**, v.10, n.2, p.37-50, 2017.

LEMOS, F. G. Ecologia e comportamento da raposa do campo (*Pseudalopex vetulus*) e do cachorro-do-mato (*Cercopithecus thous*) em áreas de fazenda no bioma cerrado. Tese (Doutorado)- Universidade Federal de São Carlos. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, 2007.

LINS, B. B. Hérnia diafragmática e agenesia renal unilateral em cachorro-do-mato (*Cercopithecus thous*)—Relato de caso. Medicina Veterinária pela Universidade Federal da Paraíba. 2020.

MATTOSO, C. R., CATENACCI, L. S., BEIER, S. L., LOPES, R. S., & TAKAHIRA, R. K. Hematologic, serum biochemistry and urinary values for captive Crab-eating Fox (*Cercopithecus thous*) in São Paulo state, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.32, n.6, p.559-566, 2012. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2012000600015>.

MCPHERSON, R. A. Proteínas específicas. In: Henry JB. Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais. 18. ed. São Paulo: **Manole**; p.245-60, 1999.

MORROW, K. L.; SALMAN, M. D.; LAPPIN, M. R. et al. Comparison of the resistive index and clinical parameters in dogs with renal disease. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v.37, n.3, p.193-199, 1996.

MOURA, R. A; WADA, C. S.; PURCHIO, A.; ALMEIDA, T.V. Técnicas de laboratório. 3. ed. São Paulo: **Atheneu**; p.23-33, 1998.

MUSSART, N. B.; COPPO, J. A. Cystine nephrolithiasis in an endangered canid, *Chrysocyon brachyurus* (Carnivora: Canidae). **Revista de biologia tropical**, p.623-626, 1999.

NABITY, M. B.; LEES, G. E.; BOGGESS, M. M.; YERRAMILLI, M.; OBARE, E.; YERRAMILLI, M.; RAKITIN, A.; AGUIAR, J.; RELFORD, R. Symmetric dimethylarginine assay validation, stability, and evaluation as a marker for the early detection of chronic kidney disease in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.29, p.1036-1044, 2015.

NANJI, A. A.; POON, R.; HINBERG, I. Interference by cephalosporins with creatinine measurement by desk-top analyzers. **European journal of clinical pharmacology**, v. 33, n. 4, p. 427–9, 1987.

NELSON, R. W; COUTO, C. G. Medicina Interna de Pequenos Animais.2 ed.:Rio de Janeiro:Guanabara, **Koogan. S.A**, 2001.

NOVAIS, A. A. Prevalência dos antígenos eritrocitários caninos em cães domésticos (*Canis familiaris*) e investigação dos parâmetros hematológicos e da ocorrência de antígenos eritrocitários em lobos-guará (*Chrysocyon brachyurus*) e cachorros-do-mato (*Cercopithecus thos*) criados no Brasil. [Tese] UNESP-Jaboticabal. 2003.

NOVELLAS, R.; ESPADA, Y.; GOPEGUI, R. R. Doppler ultrasonographic estimation of renal and ocular resistive and pulsatility indices in normal dogs and cats. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v.48, n.1, p.69–73, 2007.

NOWAK, R. M. Order Carnivora. In: Walker's Mammals of the World. **Baltimore: The Johns Hopkins University Press**, v. 2, p. 1045-1083, 1991.

OLIVEIRA, E.; TRENTIN, T. C.; CAMARGO, F.; PINTO, Y. D. P.; MARTINS, D. B. Eletroforese: Conceitos e Aplicações. **Enciclopédia Biosfera**. 2015.

OLIVEIRA, S. V.; ARSKY, L. N. S.; CALDAS, E. P.; Reservatórios animais da leptospirose: Uma revisão bibliográfica. *Revista Saúde (Santa Maria)*, v.39, n.1, 2013.

PARRAH, J.D.; MOULVI, B.A. GAZI, M.A.; MAKHDOOMI, D.M.; ATHAR, H.; DIN, U.M.; DAR, S.; MIR, A.Q. Importance of urinalysis in veterinary practice: A review. **Veterinary World**, v.6, p.640–646, 2013.

PAULA E SILVA, R. O.; LOPES, A. F.; FARIA, R. M. D. Seric proteins electrophoresis: clinical interpretation and correlation. RMMG. **Revista Médica de Minas Gerais**. v.18, n.2, p.2238-3182, 2008.

PEAKE, M.; WHITING, M. Measurement of Serum Creatinine – Current Status and Future Goals. **Clinical Biochemist Reviews**, v. 27, n. 4, p. 173–184, 2006.

RELFORD, R.; ROBERTSON, J.; CLEMENTS, C. Symmetric Dimethylarginine: Improving the Diagnosis and Staging of Chronic Kidney Disease in Small Animals. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 46, n. 6, p. 941–960, 2016.

RIBEIRO, C. T.; VEROCAI, G. G; TAVARES, L. E. R. Dioctophyme renale (Nematoda, Dioctophymatidae) Infection in the Crab-eating Fox (Cerdocyon thous) from Brazil. **Journal of Wildlife Diseases**, v.45, n.1, p. 248–250, 2009.

ROSA, T. B.; CAMPOS, C. P.; ZANGIROLAMI FILHO, D.; DALLA PALMA, G.; MARTINS, I. S.; FERREIRA, M. M. G.; AVANTE, M. L. Urinálise na medicina veterinária. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária** - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Garça FAMED/FAEF e FAEF. Ano VI – n.11, 2008.

SANTANA, E. J. M.; BESERRA, P. S.; BRITO, A. B.; MIRANDA, S. A.; NIKOLAK, E.; DOMINGUES, S. F. S. Triplex Doppler da artéria renal e a relação entre a ecobiometria dos rins com a distância atlanto-coccígea e altura em Canis familiaris. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.10, p.809-815, 2009.

SANTOS, R. V. Avaliação da técnica de dopplerfluxometria e índice de resistividade das artérias renais em cadelas com piometra. [Dissertação] UNESP- Botucatu. 2012.

SCHWEDHELM, E.; BÖGER, R. H. The role of asymmetric and symmetric dimethylarginines in renal disease. **Nature Reviews Nephrology** , v.7, p.275–85, 2011.

SILVA, A. S. L., et al. 2014. Mode B ultrasonography and abdominal Doppler in crab-eating-foxes (Cerdocyon thous). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.34, p.23-28.

SILVA, D. C. S. E. Avaliação de escore corporal e cardíaca em cachorro-do-mato (Cerdocyon thous – Linnaeus, 1766). Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Botucatu. [Dissertação]. 2017.

SILVA, D. T.; STARKE-BUZETTI, W. A.; ALVES-MARTIN, F.; PAIXÃO, M. S.; TENÓRIO, M. S.; LOPES, M. L. M. Comparative evaluation of several methods for Canine Visceral Leishmaniasis diagnosis. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.23, n.2, p.179- 186, 2014.

TIPISCA, V. et al. Resistive index for kidney evaluation in normal and diseased cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 18, n. 6, p. 471–475, 2015.

VERKEST, K.R. Is the metabolic syndrome a useful clinica concept in dogs? A review of the evidence. **Veterinary Journal**, v.199, p.24-30, 2014.

VIEIRA, A. N. L. S.; Concentração Sérica de dimetilarginina simétrica (SDMA) em cães com doença renal crônica submetidos a hemodiálise intermitente. [Dissertação]. 2018.

YERRAMILLI, M.; FARACE, G.; QUINN, J.; YERRAMILLI, M. Kidney Disease and the Nexus of Chronic Kidney Disease and Acute Kidney Injury. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 46, n. 6, p. 1–33, 2016. doi: 10.1016/j.cvsm.2016.06.011.

CAPÍTULO III

4 TRABALHO CIENTÍFICO

4.1 Artigo 1

Normas disponíveis em:

<https://journals.tubitak.gov.tr/zoology/instructionsForAuthors.htm;jsessionid=A3760A6E8632903022DD33C07B1D9110>

**POLYACRYLAMIDE ELECTROPHORESIS AND DENSITOMETRY
PROTEINOGRAM OF SERUM PROTEINS FROM CRAB-EATING FOX
(*Cerdocyon thous*) AND DOMESTIC DOGS (*Canis lupus familiaris*)**

Autores: Ariana Fonseca RAMOS^a; Alicia Giolo HIPÓLITO^a; Barbara Sardela FERRO^a;
Isis Pinto da COSTA^a; Heloísa Coppini de LIMA^a; Tayná de Araujo BRITO^a; Victor
Ramon de França RIBEIRO^a; Silvano S GERALDES^a; Paulo Roberto Rodrigues
RAMOS^b; Priscylla T. C. Guimarães-OKAMOTO^a; Alessandra MELCHERT^a.

Ariana Fonseca RAMOS^a (arianaframos@yahoo.com.br)

Alicia Giolo HIPÓLITO^a (aliciamedvet@gmail.com)

Barbara Sardela FERRO^a (barbara.sard.ferro@gmail.com)

Isis Pinto da COSTA^a (Isis.uff@gmail.com)

Heloísa Coppini de LIMA^a (heloisacoppini@hotmail.com)

Priscylla Tatiana Chalfum Guimarães OKAMOTO^a (tatiana.okamoto@unesp.br)

Paulo Roberto Rodrigues RAMOS^b (paulo.amos@unesp.br)

Silvano Salgueiro GERALDES^a (silvanoport@hotmail.com)

1 Tayná de Araujo BRITO^a (tayna.araujo15152gmail.com)

2 Victor Ramon de França RIBEIRO^a (mv.vivtorribrito@gmail.com)

3 Alessandra MELCHERT^a (alessandra.melchert@unesp.br)

4

5 ^aFaculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia–Campus de Botucatu Rua Prof. Doutor

6 Walter Mauricio Correa, s/n – Unesp Botucatu/SP – CEP 18618-681

7 ^bDepartamento de Biofísica e Farmacologia. Instituto de Biociências – Unesp–Botucatu

8 Rua Prof. Doutor Walter Mauricio Correa, s/n – Unesp Botucatu/SP – CEP 18618-681

9

10 **Corresponding Author::** Alessandra Melchert^a orcid.org/0000-0002-8680-2121

11 (alessandra.melchert@unesp.br) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia–

12 Campus de Botucatu Rua Prof. Doutor Walter Mauricio Correa, s/n – Unesp Botucatu/SP

13 – CEP 18618-681

14

15 **RESUMO**

16 O cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) apresenta susceptibilidade à uma série de

17 moléstias infecciosas, inflamatórias e neoplásicas. A eletroforese das proteínas séricas

18 pode auxiliar no diagnóstico dessas doenças, identificando as proteínas séricas através da

19 separação das mesmas, entretanto não há registro de padrão da eletroforese sérica para a

20 espécie. Deste modo, o estudo objetivou avaliar o eletroforetograma de proteínas séricas

21 em cachorros-do-mato (*C. thous*) hígdos, comparando-o ao de cães domésticos (*Canis*

22 *lúpus familiaris*), por meio do fracionamento das proteínas séricas pela técnica de

23 eletroforese unidimensional vertical em gel de poliacrilamida a 7% NATIVE-PAGE.

24 Foram avaliados treze cachorros-do-mato, machos, adultos, hígdos e mantidos em

cativeiro, e sete cães domésticos, machos, adultos, hígidos. Os perfis de proteínas séricas das duas espécies apresentaram diferenças em relação às frações encontradas e nas quantificações dessas frações. Os cães domésticos apresentaram quantidades superiores de albumina sérica, albumina total e relação albumina/globulina, enquanto os cachorros-do-mato apresentaram quantidade superior de globulinas totais. Este é o primeiro relato que descreve as frações proteicas séricas fracionadas pela técnica de eletroforese unidimensional vertical em gel de poliacrilamida 7% NATIVE-PAGE em cachorros-do-mato hígidos, em comparação a cães domésticos, podendo esses dados serem usados como de base para a espécie.

PALAVRAS CHAVE: Bioquímico, sérico, diagnóstico, padronização.

ABSTRACT

The Crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) is susceptible to a series of infectious, inflammatory and neoplastic diseases. The electrophoresis of serum proteins can help in the diagnosis of these diseases by identifying the serum protein and separating it; however, there is no record of standard values of serum electrophoresis for the species. Thus, the study aimed to evaluate the electrophoretogram of serum proteins in healthy crab-eating fox comparing to domestic dogs (*Canis lupus familiaris*) by fractionating these proteins using the one-dimensional electrophoretic gel technique 7% NATIVE-PAGE polyacrylamide. Thirteen healthy male crab-eating fox kept in captivity, and 7 domestic dogs were evaluated. The serum protein of the two species showed differences in the presentation and quantification of fractions. Domestic dogs had higher amounts of serum albumin, total albumin and albumin / globulin ratio, while crab-eating fox had higher amounts of total globulins. This is the first report describing the serum protein

fractions separated by the 7% NATIVE-PAGE electrophoresis gel technique in healthy wild dogs compared to domestic dogs, which can be used as reference values for the species.

KEY WORDS: Biochemistry, serum, diagnosis, standardization

INTRODUÇÃO

O cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) pertence à Família *Canidae*, Ordem Carnívora (subordem *Caniformia*, superfamília *Canoidea*) (Barroso, 2016). São canídeos de médio porte, onívoros, generalistas e oportunistas, com dieta composta por pequenos mamíferos, frutas, répteis, aves e insetos (Heleno et al., 2011). São classificados como “least concern” pela International Union for the Conservation of Nature (IUCN, 2015), porém sofrem redução populacional com atropelamentos em rodovias, baixa variabilidade genética, e contágio por doenças características da espécie ou transmitidas por animais domésticos (Barroso, 2016).

O cachorro doméstico (*Canis lupus familiaris*) é a única espécie da família *Canidae* completamente domesticada, ou seja, foram modificados vários traços fisiológicos e comportamentais através das gerações. Um dos ancestrais do cão é o lobo cinzento (*Canis lupus*), porém é pouco provável que a gama de fenótipos nas raças caninas tenha sido herdada através de um único grupo local. Sua distribuição é mundial e o seu crescimento rápido gera aumento na susceptibilidade a moléstias infecciosas, e podem transmitir mais de 100 doenças, como a raiva, leishmaniose e cinomose (Lopes, 2012; Rangel, et al., 2013).

A presença de animais selvagens em Centros e Hospitais Veterinários está cada vez mais comum, porém a deficiência de informações sobre parâmetros das espécies dificulta o atendimento (Barroso, 2016). Na rotina clínica é comum a comparação de animais silvestres com as espécies domésticas mais próximas (Lorenção et al., 2016). Devido à escassez de dados laboratoriais para *Cerdocyon thous*, valores de referência para cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) são usados, como no estudo de um caso de insulínoma maligno em cachorros-do-mato (Malta et al., 2008). Também, comparações sobre a anatomia macroscópica de canídeos selvagens têm sido feitas com base na literatura canina (Lorenção et al., 2016).

Apesar de permitir traçar um paralelo entre os animais domésticos e selvagens e a compreensão dos aspectos evolutivos das famílias, em muitos casos essa comparação entre espécies selvagens e domésticas não é correta (Lorenção et al., 2016). Os cachorros-do-mato e os domésticos pertencem à mesma subfamília *Canidae*, entretanto, estão posicionados em diferentes linhagens da árvore filogenética: o cão doméstico no tipo lobo e cachorro-do-mato nos ancestrais sul-americanos (Lantyer-Araujo et al., 2019).

A eletroforese é técnica laboratorial que atua fracionando proteínas existentes em vários tipos de fluidos (Oliveira et al., 2015). Quanto às proteínas séricas, pode auxiliar no diagnóstico de amplo espectro de doenças, como as infecciosas, inflamatórias, distúrbios renais ou gastrointestinais, estados de imunodeficiência, bem como proteinemias causadas por neoplasias (Tothova et al., 2016). A eletroforese de proteínas séricas separa as proteínas por tamanho e carga elétrica, amplamente fracionadas como albumina e globulinas alfa, beta e gama, sendo essas frações conhecidas por conter várias proteínas que atuam na fase aguda da inflamação e nas

respostas imunes adquiridas (Yoon et al., 2020). Entretanto, a avaliação de proteínas séricas ainda é ferramenta diagnóstica pouco utilizada na medicina veterinária (Tothova et al., 2016).

Diversos estudos avaliam a eletroforese sérica em cães, suas aplicações clínicas e padrões em determinadas doenças (Escribano et al., 2017; Yoon et al., 2020), mas não foram encontrados estudos que avaliem a eletroforese das proteínas séricas em cachorros-do mato. Assim, o presente estudo objetivou avaliar o eletroforetograma de proteínas séricas em cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) hígidos, comparando-o ao de cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) para auxiliar no estudo mais aprofundado das proteínas incluindo as proteínas de inflamação.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), protocolo 0052/2019, e pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), número 68707-1.

Foram avaliados 13 cachorros do mato (*Cerdocyon thous*), machos, adultos, hígidos, peso médio de 6,25 Kg, cativos, advindos de atropelamentos nas rodovias e alguns nascidos no próprio recinto, alimentados com ração para cães domésticos e frutas (maçã, banana, mamão) todos os dias, proteína (ovo, coração, pescoço de frango, fígado ou carne de porco) 3 vezes por semana e animal abatido (rato) 1 vez por semana, com enriquecimento ambiental oferecendo frutas, sementes e rato morto dentro de caixas de papelão para instigar o instinto de caça dos animais; e sete cães domésticos (*Canis lupus familiares*) domiciliados, machos, adultos, hígidos, peso médio de 8,9 Kg, alimentados com ração comercial, provenientes do atendimento de um Hospital Veterinário

Universitário, em consultas para *check up*. Os proprietários dos cães domésticos estavam cientes das coletas e procedimento, assinando termo de consentimento. Os critérios de inclusão no estudo foram a normalidade do exame físico, hemograma completo, glicemia em jejum (12 horas), urinálise e perfil bioquímico (creatinina e uréia). Os critérios de exclusão foram cães com doenças crônicas ou evidências clínicas de doença sistêmica, e alterações nos exames citados.

Para a manipulação e coleta de material dos cachorros-do-mato foi realizada a contenção química, com a associação de cetamina (20,0 mg/Kg) e midazolam (2,0 mg/Kg), em administração por via intramuscular, após jejum alimentar de 12 horas e hídrico de 2 horas. Para a manipulação dos cães domésticos foi realizada apenas a contenção física sob jejum alimentar de 12 horas e hídrico de 2 horas.

A coleta de sangue foi realizada por venopunção jugular em ambas as espécies. As amostras foram acondicionadas em tubos sem anticoagulante, centrifugadas a 2.000 rpm por 5 minutos, para obtenção do soro e congeladas a -20°C até o processamento. Após obtenção do soro, as concentrações de proteínas totais foram determinadas pelo método do biureto.

As corridas foram realizadas com técnica de eletroforese unidimensional em gel de poliacrilamida a 7% NATIVE-PAGE (Laemmli, 1970). O gel de separação foi composto de 2,5ml de Bis-Acrilamida, 2,5ml de solução tampão Tris-HCL pH 8,8, 5,2ml de água Milli-Q, 50µL de Persulfato de Amônio e 10µL de TEMED. O gel de empilhamento foi composto de 665µL de Bis-Acrilamida, 1250µL de solução tampão Tris-HCL pH 6,8, 3,1ml de água Milli-Q, 25µL de Persulfato de Amônio e 10µL de TEMED.

As amostras de soro (10 μ L) foram diluídas em 30 μ L de tampão fosfato (PBS) e 20 μ L de gel mix (10% água, 10mM de ácido etileno diamino tetracético, 20mM fosfato-tris de pH 9,5, 5% glicerol e 0,001% azul de bromofenol como corante). A corrente elétrica utilizada, foi programada em 400 mA, 40V/H. Após o fracionamento, o gel foi corado em solução de azul de Coomassie brilhante 0,2% por 24 horas. Posteriormente, os géis foram colocados em solução descorante (metanol, ácido acético, água, 1/1/8, volume/volume) por 24 horas até o aparecimento das frações proteicas; por fim, foi realizada a leitura em programa Imagemaster VDS Software. As bandas proteicas encontradas foram identificadas de acordo com sua mobilidade eletroforética (Rf), conforme padrões da literatura disponível. A quantificação em porcentagem das proteínas reveladas foi feita através da densitometria. A quantificação foi realizada com base na quantidade total de proteínas e sua porcentagem de expressão na amostra.

Para análise dos dados, foi utilizado o teste t de Student não pareado para comparação do perfil eletroforético para comparação entre canídeos domésticos e cachorros-do-mato. A normalidade dos dados foi testada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Foi considerado o nível de significância de 5%.

RESULTADOS

A quantificação das proteínas totais diferiu entre os dois grupos de canídeos ($p=0,049$), sendo superior nos cães domésticos (Tabela 1). Na avaliação do fracionamento eletroforético, pode-se observar que foram separadas 10 frações em cães domésticos e 15 frações em cachorros-do-mato (Tabela 1 e 2).

Nos cachorros-do-mato as frações observadas foram: IgG (fração gama), IgA, beta-lipoproteína, hemopexina e transferrina (fração beta), pré-beta lipoproteína,

1 globulina solúvel, GC globulina, ceruloplasmina, haptoglobina e alfa-2-macroglobulina
2 (frações alfa-2), alfa-antitripsina e orosomucóide (frações alfa-1), albumina sérica e pós-
3 albumina (Figura 1). Nos canídeos domésticos, observaram-se as seguintes frações: IgM
4 (fração gama), Trasferrina (fração beta), alfa-1 antiquimiotripsina, haptoglobina e alfa-
5 2-macroglobulina (frações alfa-2), alfa-antitripsina e oropsomucóide (fração alfa-1), pós-
6 albumina, albumina sérica e pré-albumina (Figura 1).

7 As frações IgM, alfa-1 antiquimiotripsina e pré-albumina foram observadas
8 apenas nos cães domésticos, enquanto apenas os selvagens apresentaram as frações IgG,
9 IgA, beta-lipoproteína, hemopexina, pré-beta lipoproteína, globulina solúvel, GC
10 globulina e ceruloplasmina (Figura 1). Os dados da determinação proteica total, do
11 fracionamento eletroforético das proteínas séricas observadas e a relação
12 albumina/globulina total (relação A/G) para as amostras dos cachorros-do-mato e cães
13 domésticos encontram-se descritos nas Tabelas 1 e 2.

14 Enquanto os cães domésticos apresentaram frações de pré-albumina, albumina e
15 pós-albumina, os cachorros do mato apresentaram apenas a albumina e a pós-albumina.
16 Na comparação entre os grupos, os cães domésticos revelaram quantidades superiores de
17 albumina sérica, albumina total e relação albumina/globulina, e os cachorros-do-mato
18 apresentaram quantidade superior de globulinas totais (porcentagem e g%) (Tabela 1).
19 Em relação as globulinas (gamma, beta, alfa-1 e alfa-2), os cachorros-do-mato
20 apresentaram quantidades superiores aos domésticos para as frações de orosomucóide
21 (porcentagem e g%) e alfa-2-macroglobulina (porcentagem e g%). Os cães domésticos
22 apresentaram quantificações superiores (porcentagem e g%) para as frações de
23 haptoglobina e transferrina (Tabela 2).

DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou o fracionamento eletroforético das proteínas séricas em *Cerdocyon thous* e *Canis lupus familiaris*, revelando algumas diferenças no perfil das espécies estudadas. A eletroforese vem sendo utilizada como ferramenta diagnóstica há décadas no homem e espécies como cães e gatos, entretanto, em espécies selvagens a interpretação de alterações no perfil das proteínas plasmáticas tem sido descontínua e irregular (Melillo, 2013).

Na determinação da proteína total, o valor obtido nos cachorros-do-mato, de 5.89 ± 0.54 , foi inferior ao obtido nos cães domésticos, e também ao reportado na literatura, de 6.32 ± 1.2 (Mattoso et al., 2012) e de 7.50 ± 0.56 (Novais et al., 2005), para animais da espécie.

A relação A/G entre os grupos diferiu estatisticamente, mostrando valores inferiores nos cachorros-do-mato. A relação A/G pode ter sua modulação influenciada pelo aumento ou diminuição da albumina ou globulina, porém quando se constata diminuição da relação A/G, esta é relacionada à diminuição da albumina (Kaneko, 2008). No presente estudo, os valores inferiores da relação A/G foram decorrentes das concentrações de albumina total estatisticamente inferiores e de globulinas totais superiores nos cachorros-do-mato (Tabela 1).

A eletroforese é o principal método de fracionamento das proteínas séricas e, em Medicina Veterinária, as técnicas mais comumente utilizadas empregam separação em gel de agarose ou em acetato de celulose, sendo essas limitadas, pois permitem a separação de apenas cinco a sete grupos de proteínas (Santana et al., 2008). Por outro lado, a eletroforese em gel de poliacrilamida permite a identificação de mais de 20 proteínas, utilizando volume de amostra extremamente pequeno, a custo relativamente baixo

(Satake; Faglieri, 2006). De fato, com a técnica empregada no presente estudo, foi possível identificar 10 frações em cães domésticos e 15 frações em cachorros-do-mato.

Após uma agressão tecidual ocorre a resposta de fase aguda, uma reação inflamatória que inclui mudanças na concentração de proteínas plasmáticas denominadas proteínas de fase aguda (PFA), podendo ocorrer aumento ou redução da concentração das mesmas (Ceron et al., 2005). Algumas PFAs são evolutivamente muito bem conservadas, e mesmo espécies distintas filogeneticamente produzem PFAs semelhantes em resposta à inflamação, e com base nesse alto grau de conservação filogenética é hipotetizado que as proteínas conhecidas de espécies convencionalmente estudadas também poderiam servir como indicadores de infecção e inflamação em espécies selvagens (Bertelsen et al. 2009).

No presente estudo, o padrão típico de separação na eletroforese em *Cerdocyon thous* demonstrou a separação em cinco frações básicas, que incluíram a albumina, alfa-1, alfa-2, beta e gamma globulinas, assim como em *Canis lupus familiaris* (Keay; Doxey, 1982; Fayos et al., 2005). Entretanto, algumas diferenças foram observadas em frações específicas. Os cães domésticos não apresentaram algumas proteínas, como Ceruloplasmina, GC-globulina, Globulina solúvel, Pré-beta lipoproteína, Hemopexina, Beta-lipoproteína, IgA e IgG, os cachorros-do-mato não apresentaram quantidades detectáveis de Pré-Albumina, Alfa-1 antitripsina e IgM. Deve-se considerar que variações no perfil de proteínas séricas podem decorrer de alterações fisiológicas, como idade, alterações hormonais, estresse (Tothova et al., 2016), ambiente e dieta (Keay, 1982), o que poderia explicar as diferenças em algumas frações proteicas detectadas ou não nos cães domésticos e cachorros-do-mato do presente estudo. Em cães, a literatura sugere grande variabilidade na eletroforese de proteínas séricas (Abade et al., 2000), fato confirmado no presente estudo.

Dentre as frações encontradas apenas em cachorros-do-mato, a ceruloplasmina é uma proteína de fase aguda positiva da fração alfa-2-globulina (Kaneko, 2008), geralmente diminuída em pacientes desnutridos, com nefrose e intoxicação por cobre; enquanto seu aumento ocorre em processos inflamatórios, infecciosos, virais ou parasitários (Jain, 1993). A GC-globulina é uma proteína de ligação à vitamina D (Tothova et al., 2016). As pré-beta-lipoproteínas representam no plasma as lipoproteínas de densidade muito baixas (VLDL). No homem, o aumento destas pode estar associado a condições como diabetes, pancreatite, alcoolismo, doença de armazenamento de glicogênio, hipotireoidismo, síndrome nefrótica, gestação (Bartley, 1980). Quanto às Beta-lipoproteínas, a diminuição é rara, enquanto o aumento ocorre por excesso de colesterol sérico, alguns casos de diabetes mellitus, hipotireoidismo ou icterícia obstrutiva (Lima, 1985). A IgA é o principal responsável pelos processos de defesa localizados no nível da mucosa (Melillo, 2013). Em animais domésticos, é importante como anticorpo secretório dentro do trato intestinal e dos pulmões, capaz de neutralizar vírus e prevenir aderências de patógenos bacterianos aos tecidos alvo (Gershwin, 2008).

A determinação das concentrações das PFAs é método útil para a detecção precoce de doenças subclínicas em animais hígidos, e mudanças nas concentrações séricas dessas proteínas indicam a necessidade de uma avaliação detalhada do animal, além de ser uma forma de monitorar o manejo e o tratamento do paciente (Schmidt et al., 2013).

As concentrações de PAFs em cães adultos saudáveis foram descritos por diversos autores (Martínez-Subiela et al., 2002; Ceron et al., 2005). Entretanto, tais resultados devem ser interpretados com cautela, pois podem ser influenciados pelo método de análise, de modo que cada laboratório estabeleça e use os seus próprios valores (Ceron et al., 2005). O estudo de Yarim et al. (2007), difere do presente estudo, uma vez que nos

cães saudáveis, os valores de Albumina, Beta e Gama, foram menores em nosso estudo. Esta diferença pode ter ocorrido pelo fato de a metodologia do estudo referido ter sido realizada em gel poliacrilamida 10%, onde os poros são menores, havendo compactação das proteínas; e o presente estudo em gel poliacrilamida 7% (Figura 1), que contém poros maiores, facilitando a migração das mesmas. Tal fato ressalta e confirma a importância da padronização das técnicas para interpretação dos resultados.

Dentre as limitações do presente estudo podemos citar a avaliação apenas de animais em cativeiro, não sendo abordados os animais de vida livre. Abre-se uma lacuna para futuros estudos comparando animais de vida livre e cativeiro. Também, neste estudo optou-se por avaliar apenas animais machos para evitar interferências hormonais, de composição corporal, etc., carecendo assim de avaliação em fêmeas, para comparação.

Valores de referência do perfil de proteínas de fase aguda para animais selvagens são raros, especialmente na América do Sul, de modo que para verificar alterações nas concentrações de PFA em animais doentes, é necessário determinar parâmetros de referência em animais saudáveis (Schmidt et al., 2013). A análise das proporções dessas proteínas após o fracionamento oferece informações importantes sobre a fisiologia do organismo, possibilitando a correlação diante do desenvolvimento de doenças (Vavricka et al., 2009). Conforme descrito, tais parâmetros não foram encontrados para a espécie *Cercopithecus thomasi*, de modo que os valores encontrados no presente estudo podem ser usados como base de referência para a espécie.

CONCLUSÕES

O perfil de proteínas séricas de cachorros-do-mato e cães domésticos apresentaram diferenças na apresentação das frações e quantificações, ressaltando a

importância da obtenção de um padrão de eletroforese de proteína sérica para *Cerdocyon thous* hígidos e do estudo das frações nas inflamações. Considerando que os animais estudados estavam em boas condições nutricionais, todos do mesmo local geográfico, em manejo sanitário ideal, os dados obtidos podem ser usados como base de comparação para animais desta espécie, em análises que utilizem técnica de processamento similar.

DECLARAÇÃO DE INTERESSE DE CONFLITOS

Não temos conflitos de interesses para declarar.

REFERÊNCIAS

- Abate O, Zanatta R, Malisano T, Dotta U (2000). Canine Serum Protein Patterns Using High-Resolution Electrophoresis (HRE). *The Veterinary Journal* 159: 154–160. doi: 10.1053/tvjl.1999.0407
- Barroso RMV (2016). Determinação das principais proteínas de fase aguda e do índice prognóstico inflamatório nutricional (IPIN) em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous* - Linnaeus, 1766). Tese, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Brasil doi.org/10.14393/ufu.te.2016.74 (in Portuguese with an abstract in English).
- Bartley JC (1980). Lipid metabolism and its disorders. In *Clinical biochemistry of domestic animals*. Academic Press. pp. 53-96
- Bertelsen MF, Kjelgaard-Hansen M, Grondahl CH, Peter MH, Jacobsen S (2009). Identification of Acute Phase Proteins and Assays Applicable in Nondomesticated Mammals. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 40 (1): 199-203. doi.org/10.1638/2007-0125.1

- 1 Cerón JJ, Eckersall PD, Martínez-Subiela S (2005). Acute phase proteins in dogs and
- 2 cats: current knowledge and future perspectives. *Veterinary Clinical Pathology* 34:2.
- 3 doi:10.1111/j.1939-165x.2005.tb00019.x
- 4 Escribano D, Cihan H, Martínez-Subiela S, Levent P, Kocaturk M et al. (2017). Changes
- 5 in serum proteins in dogs with *Ehrlichia canis* infection. *Microbial Pathogenesis* 113: 34-
- 6 39. doi:10.1016/j.micpath.2017.10.024
- 7 Fayos M, Couto CG, Iazbik MC (2005). Wellman, M. L. Serum protein electrophoresis
- 8 in retired racing Greyhounds. *Veterinary Clinical Pathology* 34 (4): 397-400.
- 9 doi.org/10.1111/j.1939-165x.2005.tb00068.x
- 10 Gershwin LJ (2008). Clinical Veterinary Immunology. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss
- 11 ML (editors). *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6th ed. Burlington: Academic
- 12 Press. pp. 157-172
- 13 Heleno AR, Santos LM, Miglino MA, Peres JA, Guerra RR (2011). Biometria, histologia
- 14 e morfometria do sistema digestório do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) de vida
- 15 livre. *Biotemas* 24 (4): 111-119. doi: 10.5007/2175-7925.2011v24n4p111. (in Portuguese
- 16 with an abstract in English).
- 17 Jain NC (1993). *Essentials of Veterinary Hematology*. Philadelphia: Lea & Febinger. pp.
- 18 19-22.
- 19 Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML (2008). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*.
- 20 6th ed. Academic Press, San Diego. USA. pp. 916.
- 21 Keay G (1982). Serum protein values from clinically normal cats and dogs determined
- 22 by agarose gel electrophoresis. *Research in Veterinary Science* 33: 343–6.
- 23 doi.org/10.1016/S0034-5288(18)32313-0

- 1 Keay G & Doxey DL (1982). A comparasion of serum protein electrophoretic patterns of
2 young and adult animals. Veterinary Research Communications 5: 271-276. doi:
3 10.1007/BF02214993.
- 4 Laemmli UK (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of
5 bacteriophage T4. Nature 227: 680–685 (1970). doi.org/10.1038/227680a0
- 6 Lantyer-Araujo NL, Silva DN, Estrela-Lima A, Muramoto C, Libório FDA et al. (2019).
7 Anatomical, histological and computed tomography comparisons of the eye and adnexa
8 of crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) to domestic dogs. PloS One 14 (10).
9 doi.org/10.1371/journal.pone.0224245
- 10 Lima SL (1985). Maximizing feeding efficiency and minimizing time exposed to
11 predators: a trade-off in the black-capped chickadee. Oecologia 66 (1): 60-67.
12 doi.org/10.1007/BF00378552
- 13 Lopes KRF, Silva AR (2012). Considerações sobre a importância do cão doméstico
14 (*Canis lupus familiaris*) dentro da sociedade humana. Acta Veterinária Brasília 6 (3):
15 177-185. doi.org/10.21708/avb.2012.6.3.2941
- 16 Lorenção CJ, Zimpel AV, Novakoski E, da Silva AA, Martinez-Pereira MA (2016).
17 Comparison of the Lumbosacral Plexus Nerves Formation in Pampas Fox (*Pseudalopex*
18 *gymnocercus*) and Crab-Eating Fox (*Cerdocyon thous*) in Relationship to Plexus Model
19 in Dogs. The Anatomy Record 299 (3): 361-9. doi: 10.1002/ar.23304.
- 20 Lucherini M (2015). *Cerdocyon thous*. The IUCN Red List of Threatened Species 2015:
21 e.T4248A81266293 [online]. Website <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-4>
22 [accessed 20 october 2020].

- 1 Malta MCC, Luppi MM, Oliveira RG, Langohr IM, Ecco R et al. (2008). Malignant
2 insulinoma in a crab-eating fox (*Cerdocyon thous*). Brazilian Journal of Veterinary
3 Pathology 1 (1): 25 -27
- 4 Martínez-Subiela S, Tecles F, Eckersall PD (2002). Serum concentrations of acute phase
5 proteins in dogs with leishmaniosis. Veterinary Record 150: 241–244.
6 doi:10.1136/vr.150.8.241
- 7 Mattoso CR, Catenacci LS, Beier SL, Lopes RS, Takahira RK (2012). Hematologic,
8 serum biochemistry and urinary values for captive Crab-eating Fox (*Cerdocyon thous*) in
9 São Paulo state, Brazil. Pesquisa Veterinária Brasileira 32 (6): 559-566.
10 doi.org/10.1590/S0100-736X2012000600015
- 11 Melillo A (2013). Applications of serum protein electrophoresis in exotic pet medicine.
12 Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice, Texas 16 (1): 211–225. doi:
13 10.1016/j.cvex.2012.11.002
- 14 Novais AA, Fagliari JJ, Santana AE (2005). Valores sangüíneos de referência e
15 investigação sobre a presença de antígenos eritrocitários caninos (DEA - dog erythrocyte
16 antigen) em Lobos-guarás (*Chrysocyon brachyurus*) e Cachorros-do-mato (*Cerdocyon*
17 *thous*). Veterinária Notícias 11 (1): 59-67. (in Portuguese with na abstract in English).
- 18 Oliveira E, Trentin TC, Camargo F, Pinto YDP (2015). Martins DB. Eletroforese:
19 Conceitos e Aplicações. Enciclopédia Biosfera, 149. doi: <http://dx.doi.org/10.18677>
- 20 Rangel CH, Neiva CHMB (2013). Predação de Vertebrados por Cães *Canis lupus*
21 *familiaris* (*Mammalia*: Carnívora) no Jardim Botânico do Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
22 Biodiversidade Brasileira 3 (2): 261– 269. doi.org/10.37002/biobrasil.v%25vi%25i.345.
23 (in Portuguese with na abstract in English).

- 1 Santana AM, Fagliari JJ, Camargo CMS, Santana AE, Duarte JMB et al. (2008).
- 2 Proteinograma sérico de veados-catingueiro (*Mazama gouazoubira*) criados em cativeiro
- 3 obtido por eletroforese em gel de agarose e de poliacrilamida (SDS PAGE). Arquivo
- 4 Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 60 (6): 1560-1563.
- 5 doi.org/10.1590/S0102-09352008000600039 (in Portuguese with an abstract in English).
- 6 Satake F, Fagliari JJ (2006). Serum proteinogram in free-living and captive giant anteaters
- 7 (*Myrmecophaga tridactyla*). *Ars Veterinaria* 22 (2): 112-116. doi.org/10.15361/2175-
- 8 0106.2006v22n2p112-116
- 9 Schmidt EMS, Lange RR, Fruhvald E, Santos IVFC, Fagliari JJ (2013). Acute phase
- 10 protein profile in agoutis (*Dasyprocta azarae*; Lichtenstein, 1823) in captivity,
- 11 determined by sodium dodecyl sulfate polyacrilamylde gel electrophoresis. Comparative
- 12 Clinical Pathology 22:879-883. Doi:10.1007/s00580-012-1492-8.
- 13 doi.org/10.1007/s00580-012-1492-8
- 14 Tothova C, Nagy O, Kovac G (2016). Serum proteins and their diagnostic utility in
- 15 veterinary medicine: a review. *Veterinarni Medicina* 61 (9): 475-496. doi:
- 16 10.17221/19/2016.
- 17 Vavricka SR, Burri E, Beglinger C, Degen L, Manz M (2009). Serum protein
- 18 electrophoresis: an underused but very useful test. *Digestion* 79: 203-210. doi:
- 19 10.1159/000212077
- 20 Yarim GF, Nisbet C, Oncel T, Cenesiz S, Ciftci G (2007). Serum protein alterations in
- 21 dogs naturally infected with *Toxoplasma gondii*. *Parasitology Research* 101 (5): 1197-
- 22 1202. doi:10.1007/s00436-007-0601-0.
- 23 Yoon JS, Kim S, Kang JH, Park J, Yu D (2020). Alterations in serum protein
- 24 electrophoresis profiles during the acute phase response in dogs with acute

pancreatitis. Canadian Journal of Veterinary Research, 84 (1): 74-78. PMID:
PMC6923814

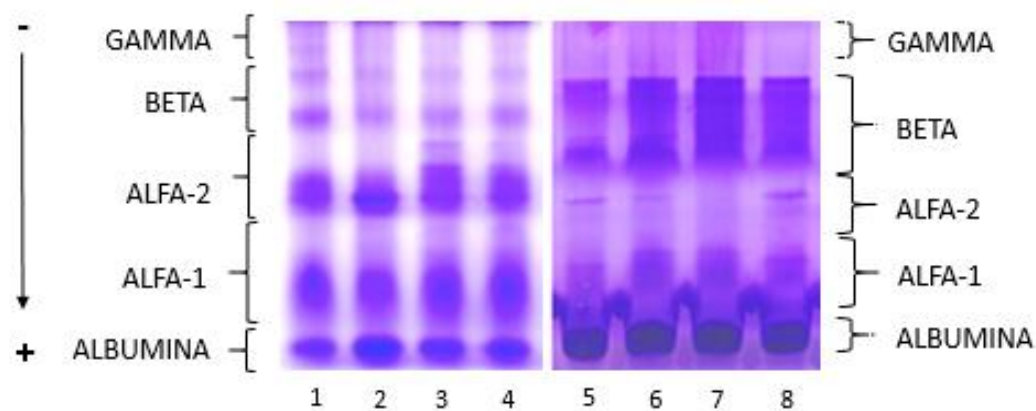


Figura 1- Eletroforese nativa em Gel de poliacrilamida a 7% de concentração no gel de separação num sistema descontínuo de tampões alcalinos, de amostras de soro sanguíneo de cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous* – 1, 2, 3 e 4) e cachorros domésticos (*Canis lupus familiaris* – 5, 6, 7 e 8).

Tabela 1- Médias e desvios-padrão dos parâmetros proteína total (g/dL), porcentagens (%) e quantidades (g%) das frações protéicas de albumina, albumina total, globulina total e relação albumina/globulina (A/G) obtidas pela separação eletroforética de amostras de proteínas séricas de canídeos selvagens (*Cerdocyon thous*; n=13) domésticos (*Canis lupus familiaris*; n=7).

		%			g%	
		N	Média±DP	P	Média±DP	P
PT (g/dL)	<i>Cerdocyon</i>		5.9±0.5	0.049	-	-
	<i>Canis</i>		6.4±0.3		-	
Pré-Albumina	<i>Cerdocyon</i>	0	-	-	40.6±12.6	-
	<i>Canis</i>	7	8.4±1.6		71.9±19.9	
Albumina	<i>Cerdocyon</i>	13	6.9±2.3	0.001	3.3±5.5	0.001
	<i>Canis</i>	7	11.3±3.1		7.7±4.6	
Pós-albumina	<i>Cerdocyon</i>	5	0.6±0.9	0.13	48.8±10.0	0.11
	<i>Canis</i>	6	1.2±0.7		132.4±24.9	
Albumina total	<i>Cerdocyon</i>		7.5±1.9	< 0.001	142.7±40.1	< 0.001
	<i>Canis</i>		20.9±3.8		113.3±14.7	
Globulina Total	<i>Cerdocyon</i>		24.7±5.9	0.01	0.3±0.1	0.08
	<i>Canis</i>		17.6±1.9		1.2±0.3	
Relação A/G	<i>Cerdocyon</i>		0.3±0.1	< 0.001	-	< 0.001
	<i>Canis</i>		1.2±0.3		53.8±10.5	

n: número de animais que expressaram a fração na eletroforese; P: *p value*.

Tabela 2- Médias e desvios-padrão das porcentagens (%) e quantidades (g%) das diferentes frações protéicas de globulinas obtidas pela separação eletroforética de amostras séricas de canídeos selvagens (n=13) e domésticos (n=7).

		%			g%	
		N	Média±DP	P	Média±DP	P
Orosomucóide	<i>Cerdocyon</i>	13	10.01±3.49	< 0.001	57.02±26.13	< 0.001
	<i>Canis</i>	2	0.14±0.25		0.88±1.55	
Alfa-antitripsina	<i>Cerdocyon</i>	8	1.77±2.61	0.52	10.12±14.84	0.61
	<i>Canis</i>	7	1.09±0.99		7.04±6.28	
Alfa-2-macroglobulina	<i>Cerdocyon</i>	13	4.87±3.66	0.04	28.89±21.86	0.05
	<i>Canis</i>	7	1.72±1.26		11.05±7.93	
Haptoglobina	<i>Cerdocyon</i>	5	0.67±1.10	< 0.001	3.81±6.23	< 0.001
	<i>Canis</i>	7	4.43±1.06		28.11±6.72	
Ceruloplasmina	<i>Cerdocyon</i>	9	0.30±0.37	-	1.85±2.44	-
	<i>Canis</i>	0	-		-	
Alfa-1-antiquimiotripsina	<i>Cerdocyon</i>	0	-	-	-	-
	<i>Canis</i>	7	1.14±0.23		7.24±1.28	
GC-globulina	<i>Cerdocyon</i>	5	0.93±1.23	-	5.45±7.26	-
	<i>Canis</i>	0	-		-	
Globulina solúvel	<i>Cerdocyon</i>	9	2.03±1.55	-	12.13±9.67	-
	<i>Canis</i>	0	-		-	
Pré-beta-lipoproteína	<i>Cerdocyon</i>	11	0.53±0.72	-	2.36±4.86	-
	<i>Canis</i>	0	-		-	
Transferrina	<i>Cerdocyon</i>	1	0.01±0.03	< 0.001	0.07±0.21	< 0.001
	<i>Canis</i>	7	6.00±1.20		38.40±9.27	
Hemopexina	<i>Cerdocyon</i>	13	2.73±2.40	-	16.16±14.07	-
	<i>Canis</i>	0	-		-	
Beta-lipoproteína	<i>Cerdocyon</i>	8	0.15±0.22	-	0.93±1.44	-
	<i>Canis</i>	0	-		-	
IgA	<i>Cerdocyon</i>	1	0.00±0.01	-	0.02±0.09	-
	<i>Canis</i>	0	-		-	
IgM	<i>Cerdocyon</i>	0	-	-	-	-

	<i>Canis</i>	7	3.07±1.43	_____	19.44±9.29	
IgG	<i>Cerdocyon</i>	5	0.68±1.00	-	3.93±5.69	-
	<i>Canis</i>	0	-	-	-	

1 n: número de animais que expressaram a fração na eletroforese; P: *p value*.

2.2 Artigo 2

Normas disponíveis em:
<https://onlinelibrary.wiley.com/page/journal/14390264/homepage/forauthors.html>

Índice de resistividade renal e concentrações séricas de Dimetilargina simétrica em cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) mantidos em cativeiro

Kidney resistivity index and serum concentration of simétric Dimetilarginine in Crab-eating fox kept in captivity

Autores: Ariana Fonseca Ramos^a; Alicia Giolo Hipólito^a; Barbara Sardela Ferro^a; Isis Pinto da Costa^a; Heloísa Coppini de Lima^a; Tayná de Araujo Brito^a; Silvano Salgueiro Geraldês^a; Maria Jaqueline Mamprim^a; Paulo Roberto Rodrigues Ramos^b; Priscylla T. C. Guimarães-Okamoto^a; Alessandra Melchert^a.

Ariana Fonseca Ramos^a (arianaframos@yahoo.com.br)

Alicia Giolo Hipólito^a (aliciamedvet@gmail.com)

Barbara Sardela Ferro^a (barbara.sard.ferro@gmail.com)

Isis Pinto da Costa^a (isis.uff@gmail.com)

Heloísa Coppini de Lima^a (heloisacoppini@hotmail.com)

Maria Jaqueline Mamprim^a (Jaqueline.mamprim@unesp.br)

Priscylla Tatiana Chalfum Guimarães Okamoto^a (tatiana.okamoto@unesp.br)

Paulo Roberto Rodrigues Ramos^b (paulo.ramos@unesp.br)

Silvano Salgueiro Geraldês^a (silvanoport@hotmail.com)

Tayná de Araujo Brito^a (tayna.araujo15152gmail.com)

Alessandra Melchert^a (alessandra.melchert@unesp.br)

^aFaculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia–Campus de Botucatu Rua Prof. Doutor Walter Mauricio Correa, s/n – Unesp Botucatu/SP – CEP 18618-681

^bDepartamento de Biofísica e Farmacologia. Instituto de Biociências – Unesp– Botucatu Rua Prof. Doutor Walter Mauricio Correa, s/n – Unesp Botucatu/SP – CEP 18618-681

Corresponding Author: Ariana Fonseca Ramos^a
(arianaframos@yahoo.com.br) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia–
Campus de Botucatu Rua Prof. Doutor Walter Mauricio Correa, s/n – Unesp
Botucatu/SP – CEP 18618-681

Resumo

Os canídeos selvagens como o *Cerdocyon thous* podem ser acometidos por diversas doenças renais. Na rotina clínica de atendimento a esses animais é comum usar espécies domésticas próximas, como os cães domésticos, para interpretar dados laboratoriais e de imagem. Perante a necessidade de estabelecer valores de referência para a espécie, o presente estudo objetivou avaliar o índice de resistividade (IR) renal e a concentração sérica de SDMA em cachorros-do-mato cativos hígidos, por meio de avaliações laboratoriais e de imagem, confrontando os achados com os parâmetros estabelecidos para cães domésticos. Foram estudados 8 cachorros-do-mato machos, adultos, peso médio 6,25 kg, hígidos, alimentados com ração para cães domésticos e frutas (maçã, banana, mamão) todos os dias, proteína (ovo, coração, pescoço de frango, fígado ou carne de porco) 3 vezes por semana e animal abatido (rato) 1 vez por semana, mantidos com enriquecimento ambiental em cativeiro, em recinto com área aberta e parte reservada coberta. Os animais foram anestesiados com a associação de cetamina e midazolan para as coletas e avaliações. Os valores de SDMA obtidos oscilaram entre 6 a 9 µg/dL. O IR foi obtido a nível da artéria interlobar, com valores médios de $0,52 \pm 0,10$ e $0,50 \pm 0,05$, para os rins esquerdo e direito, respectivamente. Como conclusão, o marcador SDMA em *Cerdocyon thous* hígidos apresentou valores similares aos de cães domésticos, abaixo de 14 µg/dL. O IR renal foi passível de mensuração na espécie, ao nível da artéria interlobar, sendo obtido com maior facilidade no rim esquerdo e apresentando valores similares aos descritos em literatura para cães. Os dados obtidos contribuem para a avaliação da função renal em cachorros-do-mato, auxiliando assim no diagnóstico precoce de afecções renais.

PALAVRAS CHAVE: função renal; SDMA; ultrassonografia Doppler; biomarcadores renais.

Abstract

Several kidney diseases can affect wild canids including Crab-eating fox. In the clinical routine for these animals, it is common to use domestic dogs as a base to interpret laboratory and image data. In view of the need to establish reference values for the species, the present study aimed to evaluate the renal resistivity index (RI) and the serum concentration of SDMA in healthy captive *crab-eating fox*, through laboratory and image evaluations comparing the findings with the established parameters for domestic dogs. Eight male, adultos, peso médio 6,25 kg, hígdos, alimentados com ração para cães domésticos e frutas (Maçã, banana, mamão) todos os dias, proteína (Ovo, coração, pescoço de frango, fígado ou carne de porco) 3 vezes por semana e animal abatido (Rato) 1 vez por semana, mantidos com enriquecimento ambiental em cativeiro, em recinto com área aberta e parte reservada coberta. healthy and captive crab-eating fox were studied. The animals were anesthetized with the combination of ketamine and midazolan for gathering matherial and evaluations. The obtained SDMA values ranged from 6 to 9 $\mu\text{g} / \text{dL}$. The RI was obtained from the interlobar artery, with mean values of 0.52 ± 0.10 and 0.50 ± 0.05 , for the left and right kidneys, respectively. In conclusion, the SDMA values in healthy *Crab-eating fox* showed similar values to those of domestic dogs, below 14 $\mu\text{g} / \text{dL}$. Renal RI was possible to measure in the species, in the interlobar artery, being more easily obtained in the left kidney and showing values according to the valores similares aos descritos em literature for dogs. The data obtained contribute to the evaluation of renal function in wild dogs, assisting to an early diagnosis of renal disorders.

KEY WORDS: Renal funcction; SDMA; Doppler ultrassonography; Kidney biomarkers.

INTRODUÇÃO

Os canídeos silvestres apresentam particularidades bastante específicas da espécie, podendo estes fatores convergir como um ponto determinante na sobrevivência e perpetuação deste grupo animal (GOMES, 2007). Entre as seis espécies de canídeos conhecidas no Brasil, temos o *Cerdocyon thous*, também conhecido como cachorro-do-mato, lobinho, lobete e graxaim-do-mato (BEISIEGEL et al., 2013), com ampla distribuição na América do Sul (LEMOS,

2007), sendo esta espécie um exemplo de sucesso ecológico em adaptabilidade relacionada à alimentação e reprodução (MASSARA, 2009).

A espécie foi classificada no Brasil como de baixo risco de extinção pela International Union for Conservation of Nature (IUCN) (COURTENAY; MAFFEI, 2008), e também pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), devido a sua ampla distribuição geográfica, grande tolerância a distúrbios antrópicos e estabilidade populacional (BEISIEGEL et al., 2013). Entretanto, sofrem redução populacional principalmente em decorrência de atropelamentos (BARROSO, 2016) e contágio por doenças infecciosas, que frequentemente resultam da aproximação com animais domésticos (LANTYER-ARAUJO et al., 2019).

Os *Cerdocyon thous* podem ser acometidos por diversas doenças infecciosas que culminam em alterações renais, como a *leishmaniose Visceral* (LV), sendo essa espécie considerada um reservatório selvagem da leishmaniose; essa doença infecto-contagiosa, a partir da deposição de imunocomplexos no glomérulo renal, pode causar glomerulonefrite (JUSI et al., 2011). Também podem ser acometidos por leptospirose, com predominância dos sorovares *Hardjobovis* e *Grippotyphosa* na espécie; nos animais que sobrevivem à fase aguda da doença, os microrganismos alcançam os rins e passam a ser excretados pela urina por períodos de tempo variados, caracterizando-os como portadores convalescentes (OLIVEIRA; ARSKY; CALDAS, 2013). Outras doenças renais são descritas, como Agenesia Renal Unilateral em um cachorro-do-mato cativo de três meses de idade (LINS, 2020).

O parasitismo por *Diocotophyme renale*, um verme gigante que parasita os rins, para o qual canídeos selvagens e domésticos atuam como hospedeiros definitivos, também pode acometer os cachorros-do-mato, o que pode culminar em destruição total do parênquima renal, atrofia e fibrose dos túbulos renais, dilatação da pelve renal e obstrução uretral (RIBEIRO; VEROCAI; TAVARES, 2009). Outros canídeos selvagens, como o lobo guará (*Chrysocyon brachyurus*) também podem ser acometidos pelo parasita (DUARTE et al., 2013).

Doenças renais acometendo outras espécies de canídeos selvagens também foram descritas, como em duas raposas-vermelhas idosas em cativeiro eutanasiadas, apresentando osteoartrite e disfunção renal com características similares às de canídeos domésticos idosos (LAWLER et al., 2017), além de

nefrolitíase por cálculos de cistina em pelve renal em um lobo guará (MUSSARD; COPPO, 1999). Um estudo que avaliou as causas mais comuns de mortalidade em cães selvagens africanos (*Lycaon pictus*) em cativeiro, ao longo de quase 40 anos, detectou que, dentre os animais com idade avançada, a doença renal crônica (DRC) foi a principal causa de mortalidade (LAMGLAIT et al., 2015).

Em cães domésticos (*Canis lupus familiaris*), a DRC é considerada a doença renal mais comum (POLZIN, 2017). Embora a DRC seja uma doença progressiva, o diagnóstico precoce e o manejo podem modificar a taxa de progressão e melhorar o tempo e a qualidade de vida do paciente (GRAUER, 2005; BARTGES, 2012). O diagnóstico da insuficiência renal geralmente é baseado na combinação de histórico compatível, exame físico, dados laboratoriais e exames de imagem (CHEW; DIBARTOLA, 2011).

Na rotina clínica de atendimento a animais selvagens é comum realizar um paralelo de comparação com as espécies domésticas mais próximas (LORENZÃO et al., 2016). Há uma certa escassez de parâmetros fisiológicos e anatômicos para *Cerdocyon thous*, sendo comum o uso de diretrizes e valores de referência para cães domésticos, tanto em estudos experimentais, como nos atendimentos clínicos da espécie (LORENZÃO et al., 2016; MALTA et al., 2008).

A determinação da ureia e creatinina são os marcadores mais utilizados como indicadores de dano renal (VEENA et al., 2020), sendo a creatinina sérica um dos principais indicadores (DAHLEM et al., 2017), mas esta é marcador insensível de disfunção renal (DAHLEM et al., 2017). A ureia e creatinina séricas, mesmo em conjunto com a quantificação da produção de urina, não são eficientes em identificar danos renais em estádios iniciais da insuficiência renal aguda (IRA) (SOUZA, 2017; VIEIRA, 2018). A Dimetilarginina simétrica (SDMA) é um importante biomarcador recentemente descoberto para detecção precoce de disfunção renal, que tem sido usada para diagnóstico da DRC em cães e gatos (DAHLEM et al., 2017).

O uso de testes laboratoriais associados ao exame ultrassonográfico modo B e Doppler são fundamentais para a detecção precoce da doença renal (TORROJA, 2007). A ultrassonografia é o exame de imagem de escolha para avaliação renal, pois fornece informações sobre a posição, tamanho, forma, arquitetura interna e hemodinâmica dos rins. O uso do Doppler complementa o exame modo B, permitindo a avaliação da perfusão renal a partir do cálculo dos

índices hemodinâmicos (BRAGATO et al., 2017). A avaliação do índice de resistividade (IR) intrarrenal pode auxiliar na confirmação da doença renal em cães e gatos (NOVELLAS et al., 2010).

Uma vez que os canídeos selvagens como o *Cerdocyon thous* podem ser acometidos por diversas doenças renais, e perante a necessidade de estabelecer valores de referência para a espécie, o presente estudo objetivou avaliar o índice de resistividade renal e a concentração sérica de SDMA em um grupo homogêneo de cachorros-do-mato cativos hígidos, por meio de avaliações laboratoriais e de imagem, confrontando os achados com os parâmetros estabelecidos para cães domésticos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados 08 cachorros do mato, machos, 1 a 5 anos de idade, peso médio 6,25 kg, clinicamente saudáveis, provenientes do Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens (CEMPAS), alimentados com ração para cães domésticos e frutas (maçã, banana, mamão) todos os dias, proteína (ovo, coração, pescoço de frango, fígado ou carne de porco) 3 vezes por semana e animal abatido (rato) 1 vez por semana, mantidos com enriquecimento ambiental em cativeiro, em recinto com área aberta e parte reservada coberta. O processamento das amostras laboratoriais foi realizado no Laboratório de Patologia Clínica, e os exames de imagem no Setor de Diagnóstico por imagem, pertencentes ao Hospital Veterinário da FMVZ, UNESP/Botucatu-SP. O presente estudo teve autorização do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), número: 68707-1, e autorização do Comitê de Ética pelo Protocolo CEUA 0052/2019.

Os critérios de inclusão no estudo foram o sexo (somente machos), a idade (animais adultos, entre 1 e 5 anos de idade), a normalidade do exame físico, hemograma completo, glicemia em jejum (12 horas), urinálise, perfil bioquímico renal (creatinina e uréia) e hepático (Alamina aminotransferase – ALT, aspartato aminotransferase – AST), proteínas totais, albumina e globulina séricas. Os critérios de exclusão foram cães com idade abaixo de 1 ano e acima de 5 anos, fêmeas, presença de doenças crônicas ou evidências clínicas de doença sistêmica, e alterações nos exames citados.

Os animais passaram por um período de jejum alimentar de 12 horas e hídrico de 2 horas. Foram contidos fisicamente em seus próprios recintos, com a ajuda de puçás e colocados em caixas de transporte de madeira apropriadas para a espécie. Para manipulação dos animais foi realizada contenção química com a associação de cetamina (20 mg/Kg) e midazolam (2,0 mg/Kg), por via intramuscular (GOMES, 2007).

Foi preenchida uma ficha de identificação para cada animal, contendo: data da avaliação; sexo; peso corporal; presença de ectoparasitas; dados do exame físico (frequência cardíaca; frequência respiratória; temperatura corporal; estado de hidratação; palpação abdominal; ausculta cardio-respiratória; coloração das membranas mucosas; e tempo de preenchimento capilar).

A Pressão Arterial foi avaliada logo após a contenção química e constantemente durante o período de sedação, até serem finalizadas as análises e o animal começar a apresentar sinais de recuperação anestésica e ser colocado na caixa de transporte para retorno ao recinto.

Foram colhidos 5ml de sangue por venopunção jugular, utilizando seringas descartáveis e agulha 30mm x 0,7mm. As amostras foram acondicionadas em 2 tubos: 3 mL em tudo com EDTA e 2 mL em tubo com gel precipitador e sem anticoagulante. As amostras com EDTA foram encaminhadas ao Laboratório imediatamente após a coleta para processamento. As amostras sem anticoagulante foram centrifugadas para obtenção do soro e congeladas a -20°C até o processamento. A urina foi coletada por cistosentese guiada por ultrassonografia, e encaminhada imediatamente para análise. O hemograma, urinálise e os exames bioquímicos séricos, usados na triagem dos animais foram realizados de acordo com as técnicas padronizadas pelo laboratório Clínico da FMVZ, Unesp, Botucatu, SP.

A análise do SDMA foi realizada por espectrometria de massa com cromatografia líquida (analisador Idexx Brasil®). Foi usado uma curva padrão para quantificação de SDMA, utilizando calibrações validadas para cães.

A avaliação radiográfica foi realizada com Equipamento de Raio X Digital Direto (DR-F, GE Health care Unit, USA). O exame radiográfico abdominal foi realizado em duas incidências: lateral (direita e esquerda) e ventrodorsal. Para a projeção lateral os animais foram posicionados com os membros em paralelo;

e para a projeção ventrodorsal os animais foram posicionados com membros torácicos e pélvicos estendidos. Foram avaliados os rins (tamanho e posição).

Para a ultrassonografia (US), o equipamento utilizado foi o modelo Logic3 (GE Healthcare) e transdutores multifrequenciais linear, modelo 10LB (faixa de frequência: 6- 10MHz) e convexo, modelo 3.5C (faixa de frequência: 2-5MHz), modelos SL1543 e AC2541, respectivamente para avaliação dos rins e bexiga. Após aplicação de gel acústico sobre a pele, a varredura para leitura ocorreu em modo B convencional. O rim foi analisado em plano de exames sagital e transversal. Foram avaliados: ecogenicidade, ecotextura, vascularização, dimensões, formato/arquitetura e contornos dos rins. Foram calculados o índice de resistividade (IR) renal por Doppler colorido, com probe micro convexa de 5 a 8 MHz. Os IRs foram obtidos na artéria interlobar. Foram selecionados espectros de onda de cada artéria interlobar, de ambos os rins, após serem obtidas três ondas consecutivas de qualidade, sem interferência de artefatos. O pico de velocidade sistólica e a velocidade diastólica final foram identificados em cada onda do espectro, resultando em três valores de IR para cada artéria renal, calculados pelo aparelho (Figura 1). Também foi realizada a busca do verme *Diectophyma renale*, que pode ser encontrado no rim, fígado ou livre na cavidade abdominal.

Os dados quantificados foram expressos como médias $\pm$ desvios padrão. Foi realizada a análise descritiva dos dados qualitativos, como exames ultrassonográfico e radiográfico.

RESULTADOS

Foram avaliados 8 cachorros-do-mato, hípidos, todos machos. A idade dos cães foi de 1 a 5 anos. Na avaliação do exame físico todos apresentaram parâmetros dentro da normalidade para a espécie, assim como os dados laboratoriais, que incluíram hemograma completo, urinálise, bioquímica renal (uréia e creatinina séricas) e hepática (Alamina aminotransferase – ALT e Aspartato aminotransferase - AST), proteína total, albumina e globulina séricas.

As mensurações do peso corporal, idade média, parâmetros do exame físico (frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (f), pressão arterial sistólica (PAS), tempo de preenchimento capilar (TPC) e temperatura corporal) e a glicemia estão expressos na Tabela 1. Todos os animais estavam há pelo

menos 12 horas de jejum para avaliação da glicemia. Foi verificado durante o exame que os todos os cães apresentavam mucosas róseas e úmidas, TPC normal (< 2 segundos), e estado de hidratação adequado. Não apresentaram linfonodos reativos (submandibular, pré-escapular, poplíteo). Palpação abdominal sem aumentos de volume ou abdominalgia. Ausculta cardíaca com bulhas cardíacas normorrítmicas e normofônicas e campos pulmonares limpos.

A avaliação do hemograma revelou normalidade em todos os cães, não sendo observada qualquer alteração no eritrograma, leucograma e contagem de plaquetas, estando os valores de acordo com o padronizado para a espécie. A urinálise foi realizada em 6 dos 8 animais, devido a possível esvaziamento da bexiga durante a captura dos animais e/ou manipulação. No exame físico, todas as urinas apresentaram coloração amarelada, aspecto turvo e odor “sui generis”. A densidade média foi de $1,04 \pm 0,005$ e o pH $6,33 \pm 0,94$. O exame químico das urinas estava normal. Não foram observados sedimentos ativos (ausência de células e cilindros). Hemácias, leucócitos e bactérias apresentaram rara ocorrência (400x) e um cão com cristais de fosfato triplo.

Na avaliação da bioquímica sérica, os valores de uréia variaram entre 27 e 48 mg/dL; a creatinina entre 0,65 e 0,93 mg/dL; a Alamina aminotransferase (ALT) entre 28 e 71 mg/dL; a Aspartato aminotransferase (AST) entre 31 e 70 mg/dL; Proteína sérica (PT) entre 5,5 a 6,5 mg/dL; Albumina variou entre 2,3 a 3,7 mg/dL; e Globulina entre 2,3 a 3,5 mg/dL. A média e desvio padrão (DP) dos parâmetros bioquímicos séricos estão descritos na Tabela 2.

A determinação de SDMA para cachorros-do-mato (*C.thous*) revelou valores médios de $6,88 \pm 1,05$ $\mu\text{g/dL}$, variando entre 6 e 9 $\mu\text{g/dL}$ (Tabela 3), sendo que os valores entre 0 e 14 $\mu\text{g/dL}$ são valores considerados normais para cães domésticos (IRIS, 2019).

Na ultrassonografia (US) renal, o rim direito estava posicionado na fossa renal do lobo caudado do fígado e o rim esquerdo medialmente ao baço. Os dados obtidos para rim esquerdo e rim direito variaram entre 4,06 e 5,71cm; a cortical do rim esquerdo e direito variaram entre 0,41 e 1,11cm e a medida da camada medular do rim esquerdo e direito variou entre 0,41 e 0,88 sendo que em 2 animais de 8 avaliados, não foi possível a mensuração da cortical e da medular do rim direito; o índice de resistividade (IR) da artéria interlobar do rim esquerdo e direito dos animais variaram entre 0,43 e 0,72cm sendo que em 3 de

8 animais não foi possível a mensuração do IR do rim direito. Os valores médios dos parâmetros US dos animais estudados estão descritos na Tabela 4.

Os raios-x (RX) abdominais não apresentaram alteração de silhuetas renais em nenhum dos animais. A média e DP do comprimento do eixo maior no RX do rim esquerdo foi de $5,59 \pm 0,43$.

DISCUSSÃO

O presente estudo avaliou os parâmetros renais concentração sérica de dimetilarginina simétrica (SDMA) e índice de resistividade (IR) renal em cachorros-do-mato, machos, hípidos, mantidos em cativeiro. Em comparação aos parâmetros para a espécie ou valores de referência para cães domésticos, nenhum dos animais do estudo apresentou sinais de disfunção renal, documentada pela normalidade das concentrações de uréia e creatinina séricas, urinálise e imagens ultrassonográficas dos rins, bem como não apresentaram alterações do estado geral de saúde, comprovadamente pela normalidade do histórico, exame físico, hemograma e bioquímica sérica.

As concentrações séricas de SDMA obtidas no estudo estão de acordo com os valores obtidos para cães (IRIS, 2019). Pelo conhecimento dos autores, não foram encontrados estudos que avaliem as concentrações de SDMA em *Cerdocyon thous*, de modo que os dados apresentados podem auxiliar no diagnóstico precoce de patologias renais na espécie.

Tradicionalmente, a bioquímica sérica é o principal meio usado para diagnosticar e monitorar a disfunção renal, e a ureia e creatinina são os marcadores mais utilizados como indicadores de dano renal (VEENA et al., 2020). A doença renal é diagnosticada principalmente com base na elevação da concentração de creatinina sérica (DAHLEM et al., 2017). Entretanto, esta pode ser afetada pela idade, sexo, massa muscular e estado de hidratação e, para que ocorra elevação acima do intervalo superior da normalidade, é necessário que ocorra perda de cerca de 75% da função renal (BRAUN et al., 2003). Deste modo, a creatinina é geralmente considerada um marcador insensível e tardio (DAHLEM et al., 2017).

Neste cenário, a SDMA é um potencial marcador endógeno da TFG, que aumenta meses a anos antes da creatinina em gatos com DRC (NABITY et al., 2015). SDMA é um importante biomarcador recentemente descoberto para

detecção precoce de disfunção renal no homem, não influenciado pela massa muscular, eliminado principalmente por excreção renal, sendo, portanto, um marcador endógeno da taxa de filtração glomerular (TFG) e que tem sido usado com sucesso para diagnosticar DRC em cães e gatos (DAHLEM et al., 2017).

As concentrações de SDMA sérica para cães domésticos adultos saudáveis foram estabelecidos como $\leq 14\mu\text{g/dL}$, ou seja, de 0 a $14\mu\text{g/dL}$ como valor de referência para a espécie (RELFORD, 2016; IRIS, 2019). No presente estudo, os valores obtidos oscilaram entre 6 e $9\mu\text{g/dL}$, com valor médio de 6,88, revelando que estes valores estão de acordo com o intervalo de referência para cães domésticos. Valores acima de $14\mu\text{g/dL}$ indicam disfunção renal, e o SDMA em conjunto com a concentração sérica de creatinina, permite a classificação da DRC em quatro estádios, de acordo com a Sociedade Internacional de Interesse Renal (Internacional Renal Interest Society - IRIS), e aceitos pela Sociedade Americana e Europeia de Nefrologia e Urologia Veterinária, auxiliando assim nas medidas terapêuticas a serem adotadas e na previsão do prognóstico (IRIS, 2019).

Para NABITY et al., 2015 e HALL et al., 2016a, a SDMA avaliada em cães com DRC progressiva também está intimamente correlacionada com a TFG. A TFG do grupo de cães nefropatas apresentavam resultados similares entre si por meio do clearance de iohexol, enquanto a SDMA apresentou valores maiores neste mesmo grupo, considerando-se um marcador mais confiável e de diagnóstico precoce na avaliação da TFG. Também já foi comprovado que o SDMA não se altera em cães e gatos que apresentaram baixos índices de massa muscular (HALL et al., 2014b; HALL et al., 2015; HALL et al., 2016a), comprovando que os animais desse estudo não apresentaram alteração no SDMA mesmo estando um pouco abaixo do escore ideal, sendo o uso desse marcador mais indicado para avaliar a função renal, uma vez que a creatinina sérica é um biomarcador limitado e insensível para a monitoração da função renal em cães com baixo escore corporal e/ou idosos, devido a sua extrema dependência correlacionada à massa muscular (NABITY et al., 2015).

Além dos dados laboratoriais que auxiliam na identificação precoce da disfunção renal, o uso da ultrassonografia modo Doppler avalia a anatomia e a hemodinâmica do fluxo sanguíneo renal (SANTOS et al., 2013). Em animais selvagens existem poucos estudos que determinem as características

ultrassonográficas dos diferentes órgãos (AUGUSTO, 2001). Consequentemente, relatos da avaliação ultrassonográfica dos rins em cachorros-do-mato são escassos (SILVA et al., 2014; DOURADO, 2018). Entretanto, pode-se considerar que as espécies selvagens apresentam ecogenicidade de órgãos relativamente semelhante às espécies domésticas (AUGUSTO; HILDEBRANDT, 2014). De acordo com DOURADO, 2018, houve maior semelhança na avaliação ultrassonográfica entre *Cerdocyon thous* e o cão doméstico em seu estudo, do que o observado em uma comparação com o lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) (GUIMARÃES et al., 2013).

No presente estudo, o tamanho do comprimento renal ao US foi de $4,76 \pm 0,44$ e $4,68 \pm 0,34$ para os rins esquerdo e direito, muito similares aos obtidos em cachorros-do-mato no estudo de SILVA et al., 2014, com médias de $4,61 \pm 0,45$ e $4,56 \pm 0,38$ para os rins esquerdo e direito, respectivamente. Entretanto, valores inferiores foram relatados para a espécie, como $4,09 \pm 0,31$ e $4,16 \pm 0,27$ para os rins esquerdo e direito (DOURADO, 2018).

Os valores do IR obtidos no presente estudo foram inferiores aos obtidos por SILVA et al., 2014, em *Cerdocyon thous*, de $0,64 \pm 0,10$ e $0,65 \pm 0,16$, para os rins direito e esquerdo, respectivamente. Entretanto, esses autores avaliaram o IR na artéria renal e não no interior do parênquima, enquanto nosso estudo determinou o IR a nível da artéria interlobar. Em cães domésticos, o IR acima de 0,70 é considerado aumentado e pode indicar alterações na resistência vascular renal (MORROW et al., 1996), embora CHANG et al., 2010, tenha proposto o valor de 0,73 para esta variável. Em cadelas com piometra foi estabelecido o valor limítrofe de 0,70 para o IR de todas as artérias renais avaliadas, incluindo a artéria renal principal e interlobares cranial, média e caudal (SANTOS, 2012).

OSTROWSKA et al., 2016, avaliaram o IR na artéria interlobar em cães domésticos em estado de vigília, obtendo o valor de $0,64 \pm 0,10$. No presente estudo, o valor médio do IR da artéria interlobar, foi de 0,50 para o rim direito e 0,52 para o rim esquerdo, estando de acordo com os limites estabelecidos por esses autores. Entretanto, os cães do presente estudo foram anestesiados com a associação cetamina e midazolan. Foi possível mensurar o valor do IR em todos os rins esquerdos, com valores que oscilaram entre 0,43 e 0,55, entretanto, nos rins direitos, em 3 dos 8 animais não foi possível mensurar o IR, que variou entre 0,45 e 0,6.

Para avaliar o IR é necessário que não haja movimentação do animal, sendo, ocasionalmente, necessária a sedação para a obtenção da imagem, principalmente em animais inquietos, de difícil contenção ou agressivos, uma vez que a movimentação das artérias resulta da movimentação voluntária do animal durante a avaliação com Doppler (NEUWALD et al., 2019). De modo geral, em animais domésticos a contenção química não é usada para a avaliação ultrassonográfica (PESSOA et al., 2018). Entretanto, como os cachorros-do-mato são animais selvagens, optou-se pela sedação com a associação de cetamina e midazolan, visando evitar o estresse dos animais e a movimentação durante o exame. Para animais selvagens, a contenção química é necessária para adequada avaliação ultrassonográfica, além minimizar o estresse e garantir a segurança da equipe (DOURADO, 2018).

Alguns sedativos e anestésicos podem afetar o IR (NOVELLAS et al., 2007). Assim, um protocolo de anestesia deve ser padronizado para acompanhamento e diversas associações químicas devem ser avaliadas para elucidar os efeitos sobre o IR (SILVA et al., 2016). A cetamina produz aumento na frequência cardíaca, débito cardíaco e pressão arterial como efeitos colaterais (AKKERDAAS et al., 2001; NEUWALD et al., 2019), enquanto o midazolam pode reduzir diminuição do fluxo sanguíneo com aumento da resistência vascular (NOVELLAS et al., 2007). A combinação desses fármacos poderia produzir aumento do IR, o que provavelmente não ocorreu no presente estudo, uma vez que os valores da PAS não foram alterados em nenhum dos cachorros-do-mato, e os valores médios do IR ficaram abaixo dos valores máximos relatados na literatura para cães domésticos. Novos estudos que avaliem diferentes protocolos anestésicos na determinação do IR podem contribuir para a padronização do IR sob sedação/anestesia na espécie.

Dentre as limitações desse estudo destaca-se a ausência de animais de vida livre, o que abre uma lacuna para estudos futuros, comparando os dados aos de animais mantidos em cativeiro. Também, neste estudo optou-se por avaliar apenas animais machos para não haver interferências hormonais, podendo ser interessante avaliar fêmeas para comparação.

CONCLUSÕES

O marcador SDMA em *Cerdocyon thous* hígidos apresentou valores similares aos de cães domésticos, abaixo de 14 µg/dL. O IR renal foi passível de mensuração na espécie, ao nível da artéria interlobar, sendo obtido com maior facilidade no rim esquerdo e apresentando valores de acordo com a literatura para cães. Os dados obtidos contribuem para a avaliação da função renal em cachorros-do-mato, auxiliando assim no diagnóstico precoce de afecções renais.

DECLARAÇÃO DE INTERESSE DE CONFLITOS

Não temos conflitos de interesses para declarar.

REFERÊNCIAS

- Akkerdaas, L. C.; Mioch, P.; Sap, R.; Hellenbrekers, L. J. 2001 Cardiopulmonary effects of three different anaesthesia protocols in cats. *Veterinary Quarterly*, v. 23, n. 4, p. 182-186. DOI: 10.1080/01652176.2001.9695109.
- Augusto, A. Q. 2001. Ultrasonography in South American Wild Animals. In: FOWLER, M.E., CUBAS, Z.S. (dir.), *Biology, Medicine, and Surgery of South American Wild Animals*. 1a ed. Iowa State Press, USA, p. 464-474.
- Augusto, A. Q.; Hildebrandt, T. B. Ultrassonografia. In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; Catão-Dias, J.L. 2014. *Tratado de animais selvagens - Medicina Veterinária*. São Paulo: Roca, p. 1706-1720.
- Barroso, R. M. V. 2016. Determinação das principais proteínas de fase aguda e do índice prognóstico inflamatório nutricional (ipin) em cachorro-do-mato (*cerdocyon thous* - linnaeus, 1766). Tese (Doutorado). Universidade Federal de Uberlândia.
- Bartges, J. W. 2012 Chronic Kidney Disease in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 42:669-692.
- Beisiegel, B. M., Lemos, F. G., Azevedo, F. C., Queirolo, D., Jorge, R. S. P. 2013. Avaliação do risco de extinção do cachorro-do-mato *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) no Brasil. *Biodiversidade Brasileira*. 3(1):138–145.
- Bragato, N., Borges, N. C., & Fioravanti, M. C. S. 2017. B-mode and Doppler ultrasound of chronic kidney disease in dogs and cats. *Veterinary research communications*, 41(4), 307-315.

- Braun, J. P.; Levebvre, H. P.; Watson, A. D. J. 2003. Creatinine in dog: a review. *Vet Clin Path.* 32: 162-179.
- Chang, Y. J., Chan, I. P., Cheng, F. P., Wang, W. S., Liu, P. C., & Lin, S. L. 2010. Relationship between age, plasma renin activity, and renal resistive index in dogs. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 51(3), 335-337.
- Chew, D. J., Dibartola, S. P., Schenck, P. A. Canine and Feline Nephrology and Urology. Edn 2, Saunders publication, USA, 2011.
- Courtenay, O., Maffei, L. *Cerdocyon thous*. In: IUCN 2010. IUCN Red List of Threatened Species. 2008. Version 2010. Available from: <https://www.iucnredlist.org>.
- Dahlem, D. P., Neiger, R., Schweighauser, A., Francey, T., Yerramilli, M., Obare, E., & Steinbach, S. M. L. 2017. Plasma symmetric dimethylarginine concentration in dogs with acute kidney injury and chronic kidney disease. *Journal of veterinary internal medicine*, 31(3), 799-804.
- Dourado, J. M. 2018. Avaliação ultrassonográfica em cachorros-do-mato (*cerdocyon thous*, linnaeus, 1766). Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Uberlândia.
- Duarte, J., Costa, A. M. B., Katagiri, S., Martins, J. A., Oliveira, M. E., & Ribeiro, C. M. 2013. Parasitism by *Diocotophyme renale* (Goeze, 1782) in maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*), Brazil. *Veterinária e Zootecnia*, 20(1), 52-56.
- Feitosa, F. L. F. 2014 *Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico*. 3.ed. São Paulo: Roca, 640p
- Gomes, M. S. 2007. Carnívora - canidae (lobo-guará, cachorro-do-mato, raposa-do-campo). In: Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL. *Tratado de animais selvagens*. São Paulo: Roca, p.492-504.
- Grauer, G.F. 2005. Early detection of renal damage and disease in dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice*. 35:581-596.
- Guimarães, L. D.; Hage, M. C. F. N. S.; Paula, T. A. R.; Borges, A. P. B.; Júnior, M. C.; Oliveira, A. R.; Carneiro, F. T.; Silva, V. H. D. 2013. Abdominal and pelvic ultrasound study of the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*). *Pesq. Vet. Bras*. 33(2):265-272.

- Hall, J. A.; Yerramilli, M.; Obare, E.; Yerramilli, M.; Melendez, L. D.; Jewell, D. E. 2015. Relationship between lean body mass and serum renal biomarkers in healthy dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.29, p.808-814.
- Hall, J. A.; Yerramilli, M.; Obare, E.; Yerramilli, M.; Almes, K.; Jewell, D. E. 2016(a). Serum concentrations of symmetric dimethylarginine and creatinine in dogs with naturally occurring chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.30, p.794-802.
- Hall, J. A.; Macleay, J.; Yerramilli, M.; Obare, E.; Yerramilli, M.; Schiefelbein, H.; Paetau-Robinson, I.; Jewell, D. E. 2016(b). Positive impact of nutritional interventions on serum symmetric dimethylarginine and creatinine concentrations in client-owned geriatric dogs. *Journal Plos One*, v.11, ed. 4, p.1-16.
- IRIS. Staging of CKD. Disponível em: <http://iris-kidney.com/guidelines/>. Acesso em 14 de Outubro de 2019.
- Jusi, M. M. G., Starke-Buzetti, W. A., Oliveira, T. M. F. D. S., Tenório, M. D. S., Sousa, L. D. O. D., & Machado, R. Z. 2011. Molecular and serological detection of *Leishmania* spp. in captive wild animals from Ilha Solteira, SP, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 20(3), 219-222.
- Lamglait, B., Trunet, E., & Leclerc, A. 2015. Retrospective study of mortality of captive African wild dogs (*Lycaon pictus*) in a French zoo (1974-2013). *Journal of Zoo and Aquarium Research*, 3(2), 47-51.
- Lantyer-Araujo, N. L., Silva, D. N., Estrela-Lima, A., Muramoto, C., Libório, F. D. A., Silva, É. A. D., & Oriá, A. P., 2019. Anatomical, histological and computed tomography comparisons of the eye and adnexa of crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) to domestic dogs. *PloS one*, 14(10).
- Lawier, D., Becker, J., Goodman, P., Evans, R., & Kohn, L. 2017. Significant Diseases of Two Very Aged Red Foxes (*Vulpes vulpes*, Demarest 1820). *Journal of Veterinary Anatomy*, 10(2), 37-50.
- Lemos, F. G. 2007. Ecologia e comportamento da raposa do campo (*Pseudalopex vetulus*) e do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) em áreas de fazenda no bioma cerrado. Tese (Doutorado)- Universidade Federal de São Carlos. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais.
- Lins, B. B. 2020. Hérnia diafragmática e agenesia renal unilateral em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*)—Relato de caso. *Medicina Veterinária pela Universidade Federal da Paraíba*.

- Lorenzão, C. J., Zimpel, A. V., Novakoski, E., da Silva, A. A., & Martinez-Pereira, M. A. 2016. Comparison of the Lumbosacral Plexus Nerves Formation in Pampas Fox (*Pseudalopex gymnocercus*) and Crab-Eating Fox (*Cerdocyon thous*) in Relationship to Plexus Model in Dogs. *The Anatomical Record*, 299(3), 361-369.
- Malta, M. C. C., Luppi, M.M., Oliveira, R.G., Langohr, I.M., Ecco, R., Santos R.L., 2008. Malignant insulinoma in a crab-eating fox (*Cerdocyon thous*). *Braz J Vet Pathol*. 1(1): 25 -27.
- Mattoso, C. R. S.; Catenacci, L. S.; Beier, S. L.; Raimundo S., Lopes, R. S.; Takahira, R. K. 2012. Hematologic, serum biochemistry and urinary values for captive Crab-eating Fox (*Cerdocyon thous*) in São Paulo state, Brazil. *Pesq. Vet. Bras*. v. 32, n. 6, p. 559-566.
- Morrow, K. L.; Salman, M. D.; Lappin, M. R. et al. 1996. Comparison of the resistive index and clinical parameters in dogs with renal disease. *Vet. Rad. Ultrasound.*, v.37, n.3, p.193-199.
- Mussart, N. B., & Coppo, J. A. 1999. Cystine nephrolithiasis in an endangered canid, *Chrysocyon brachyurus* (Camivora: Canidae). *Revista de biologia tropical*, 623-626.
- Nabity, M. B.; Lees, G. E.; Bogges, M. M.; Yerramilli, M.; Obare, E.; Yerramilli, M.; Rakitin, A.; Aguiar, J.; Relford, R. 2015. Symmetric dimethylarginine assay validation, stability, and evaluation as a marker for the early detection of chronic kidney disease in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.29, p.1036-1044.
- Neuwald, E. B., Matheus, J. P., de Mello, F. B., & de Mello, J. R. B. 2019. Sedation effect of midazolam, ketamine, and butorphanol on spectral Doppler ultrasound values in femoral and large abdominal arteries in cats Efeito da sedação do midazolam, quetamina e butorfanol nos valores do ultrassom com Doppler espectral na artéria femoral e grandes. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, 40(6 suplemento 3), 3493-3500.
- Novellas, R.; Espada, Y.; Gopegui, R. R. 2007. Doppler ultrasonographic estimation of renal and ocular resistive and pulsatility indices in normal dogs and cats. *Vet. Rad. Ultrasound.*, v.48, n.1, p.69–73.
- Novellas, R., De Gopegui, R. R., & Espada, Y. 2010. Assessment of renal vascular resistance and blood pressure in dogs and cats with renal disease. *Veterinary Record*, 166(20), 618-623.

- Oliveira, S. V., Arsky, L. N. S., Caldas, E. P. 2013. Reservatórios animais da leptospirose: Uma revisão bibliográfica. *Revista Saúde (Santa Maria)*, Vol.39, n.1.
- Ostrowska J, Kielbowicz Z, Zaleska-Dorobisz U, Atamaniuk W, Pietsch-Fulbiszewska A, Kinda W. 2016. Resistive index (RI) obtained in renal interlobar arteries of normal dogs and cats by means of Doppler ultrasonography. *Pak Vet J*, 36(1): 45-48.
- Pessoa, G. T., Sousa, F. C., Rodrigues, R. P., Moura, L. S., Sanches, M. P., Ambrósio, C. E., Silva, A. B. S. & Alves, F. R. 2018. Abdominal B-mode and Doppler ultrasonography of chemically restrained agouti (*Dasyprocta prymnolopha* Wagler, 1831). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 38(4), 785-793.
- Polzin, D. J. 2017. Chronic Kidney Disease. In: Ettinger SJ, Feldman EC, Côté, E. eds. *Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and cat*, 8th ed. 7:4693-4734.
- Relford, R.; Robertson, J.; Clements, C. 2016. Symmetric Dimethylarginine Improving the Diagnosis and Staging of Chronic Kidney Disease in Small Animals. *Vet Clin Small Anim.* 46:941–96. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2016.06.010>.
- Ribeiro, C. T., Verocai, G. G., & Tavares, L. E. R. 2009. Dioctophyme renale (Nematoda, Dioctophymatidae) infection in the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) from Brazil. *Journal of wildlife diseases*, 45(1), 248-250.
- Santos, R.V. 2012. Avaliação da técnica de dopplerfluxometria e índice de resistividade das artérias renais em cadelas com piometra. [Dissertação] Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, campus Botucatu, SP.
- Santos, R. V., Merlini, N. B., Souza, L. P., Machado, V., Pantoja, J. C. D. F., & Prestes, N. C. 2013. Ultrassonografia Doppler na avaliação renal de cadelas diagnosticadas com piometra antes e após tratamento com ovariossalpingohisterectomia. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(5), 635-642.
- SILVA, A. S. L., et al. 2014. Mode B ultrasonography and abdominal Doppler in crab-eating-foxes (*Cerdocyon thous*). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 34, p. 23-28.
- Silva, C., L., Machado, V. M. D. V., Teixeira, C. R., dos Santos, R. V., Dias Neto, R. D. N., Melchert, A., & Rahal, S. C. 2016. Renal evaluation with B-mode and

Doppler ultrasound in captive tufted capuchins (*Sapajus apella*). *Journal of medical primatology*, 45(1), 28-33.

Tilley, L.P.; Smith, F. W. K. Jr. 2003. Consulta veterinária em cinco minutos espécies canina e felina. 2.ed. São Paulo: Manole. 1423p.

Torroja, R. N. 2007. *Vascular resistance determination with Doppler ultrasound in canine and feline disease* (Doctoral dissertation, Universitat Autònoma de Barcelona).

Veena, M. P., Nagarajan, K., Vairamuthu, S., Subapriya, S., Dhanalaksmi, H., Kalmath, G. P., H., Shwetha, S. S. & Megaha, K. 2020. Evaluation of Serum Biochemical Profile of Kidney Disorders in Canine. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*, 9(3), 700-705.

Vieira, A. N. L. S.; 2018. Concentração Sérica de dimetilarginina simétrica (SDMA) em cães com doença renal crônica submetidos a hemodiálise intermitente. [Dissertação]. FMVZ-UNESP-Botucatu-SP.

Tabela 1. Médias e desvios padrão da idade, peso corporal, frequência cardíaca (FC) e respiratória (*f*), pressão arterial sistólica (PAS), tempo de preenchimento capilar (TPC) e temperatura (T) e glicemia de cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*), machos (n=08), comparados com valores de referência para cães.

Parâmetro	<i>Cerdocyon thous</i>	Valores de Referência cães*
Idade (meses)	29,5 ± 15,3	-
Peso corporal (Kg)	6,3 ± 1,0	-
FC (bpm)	140 ± 38,1	60-160
<i>F</i> (mpm)	25,3 ± 12,4	18-36
TPC (seg)	1,9 ± 0,5	1-2 seg
PAS (mmHg)	99,6 ± 10,8	90-140
T (°C)	37,7 ± 1,6	37,5-39,2
GLICEMIA (mg/dL)	99,1 ± 24,3	60-125**

*FEITOSA, 2014; **TILLEY & SMITH, 2003.

Tabela 2: Valores de médias, desvios padrão (DP) dos dados bioquímicos renais e hepáticos, proteína total, albumina e globulina de cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*), machos (n=08), comparados com valores de referência para a espécie (MATTOSO et al., 2012).

Parâmetro	Espécie	Média $\pm$ DP	Mattoso et al, 2012*
Uréia (mg/dL)	<i>C.thous</i>	38,38 $\pm$ 8,67	45,29 $\pm$ 16,97
Creatinina (mg/dL)	<i>C.thous</i>	0,71 $\pm$ 0,18	1,05 $\pm$ 0,25
ALT (IU/L) ^a	<i>C.thous</i>	48,63 $\pm$ 12,51	37,63 $\pm$ 45,27
AST (IU/L) ^b	<i>C.thous</i>	46,75 $\pm$ 14,99	51,45 $\pm$ 61,85
PT Sérica (g/dL) ^c	<i>C.thous</i>	5,93 $\pm$ 0,32	6,32 $\pm$ 1,22
Albumina (g/dL)	<i>C.thous</i>	3,04 $\pm$ 0,44	3,00 $\pm$ 0,89
Globulina (g/dL)	<i>C.thous</i>	2,89 $\pm$ 0,36	3,32 $\pm$ 1,06

* Valores de referência para *Cerdocyon thous*.

Tabela 3. Valores individuais de SDMA obtidos em cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) (n=08).

Animais	Espécie	Valores µg/dL
Animal 1	<i>C.thous</i>	6
Animal 2	<i>C.thous</i>	8
Animal 3	<i>C.thous</i>	7
Animal 4	<i>C.thous</i>	7
Animal 5	<i>C.thous</i>	6
Animal 6	<i>C.thous</i>	6
Animal 7	<i>C.thous</i>	9
Animal 8	<i>C.thous</i>	6

Tabela 4. Valores de médias e desvios padrão (DP) dos dados US renais dos cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*), machos (n=08).

Parâmetro	Espécie	Média ± DP
Rim Esquerdo comprimento (cm)	<i>C.thous</i>	4,76±0,44
Rim Direito comprimento (cm)	<i>C.thous</i>	4,68±0,34
Cortical Rim Esquerdo (cm)	<i>C.thous</i>	0,66±0,19
Cortical Rim Direito (cm)	<i>C.thous</i>	0,70±0,22
Medular Rim Esquerdo (cm)	<i>C.thous</i>	0,57±0,14
Medular Rim Direito (cm)	<i>C.thous</i>	0,57±0,13
I.R. Esquerdo (cm)*	<i>C.thous</i>	0,52±0,10
I.R. Direito (cm)*	<i>C.thous</i>	0,50±0,05

*I.R. Índice de resistividade



Figura 1: Representação ultrassonográfica da vasculatura renal obtida por Doppler e abaixo os espectros de onda da artéria interlobar, para cálculo do Índice de Resistividade. VPS: velocidade do pico sistólico; VDF: velocidade diastólica mínima.

ANEXOS

Anexo I

ATESTADO

Atesto que o Projeto "AVALIAÇÃO NUTRICIONAL, METABÓLICA E DO PERFIL RENAL DE CACHORROS-DO-MATO (*Cerdocyon thous*) DE VIDA LIVRE E CATIVEIRO " Protocolo CEUA 0052/2019 , a ser conduzido por Ariana Ramos, responsável/orientador Alessandra Melchert, para fins de pesquisa científica/ensino - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.

Finalidade	PESQUISA CIENTÍFICA
Vigência do projeto	01/05/2019 a 01/11/2020
Nome Comum / Espécie / Linhagem	CANINA / CERDOCYON THOUS / Carnívoro canídeo
Raça	
Nº de animais machos	30
Nº de animais fêmeas	0
Nº de animais sexo indefinido	30
Peso médio de animais machos	0
Peso médio de animais fêmeas	0
Peso médio de animais sexo indefinido	0
Idade	1 ano(s) e 0 mes(es) e 0 dia(s).
Procedência	Cempas-FMVZ/Botucatu e

Projeto de Pesquisa aprovado em reunião da CEUA em 15/04/2019



JOSÉ NICOLAU PRÓSPERO PUOLI FILHO
Presidente da CEUA da FMVZ, UNESP - Campus de Botucatu

Anexo II



Ministério do Meio Ambiente - MMA

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 68707-1	Data da Emissão: 29/04/2019 11:44:36	Data da Revalidação*: 29/04/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Ariana Fonseca Ramos	CPF: 301.272.908-93
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO	CNPJ: 48.031.918/0020-97

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Execução/Captura dos animais, coleta de material biológico, exames de imagem, exames laboratoriais.	05/2019	11/2020

Observações e ressalvas

1	A autorização não exime o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regulamentação fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ou do órgão indígena oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indigenável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional de Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
2	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infraestrutura da unidade.
3	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
4	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou exportativos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
5	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidas por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, o ensino ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
6	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos e empregar reforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condições in situ.
7	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regulamentação fundiária encontra-se em curso.
8	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/biotopos .

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0887070120180428

Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 088707-1	Data da Emissão: 29/04/2019 11:44:38	Data da Revalidação*: 29/04/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Ariana Fonseca Ramoa	CPF: 301.272.908-93
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO	CNPJ: 48.031.918/0000-97

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"	Botucatu-SP	Cerrado	Não	Dentro de UC Estadual
2	Instituto pró-carnívoros de Atibaia-SP	Atibaia-SP	Cerrado	Não	Dentro de UC Municipal

Atividades X Taxões

#	Atividade	Taxão	Qtd.
1	Marcação de animais silvestres in situ	Cercopithecus thomasi	-
2	Manutenção temporária (até 24 meses) de vertebrados silvestres em cativeiro	Cercopithecus thomasi	-
3	Captura de animais silvestres in situ	Cercopithecus thomasi	-
4	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Cercopithecus thomasi	-
5	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Cercopithecus thomasi	-
6	Coleta/transporte de espécimes de fauna silvestre in situ	Cercopithecus thomasi	15

Materiais e Métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Amostras biológicas (Carnívoros)	Sangue, Urina
2	Método de captura/coleta (Carnívoros)	Armadilha tipo gaiola com atreço por locais (LBox Trap/Tomahawk/ShermanL)
3	Método de marcação (Carnívoros)	Microchip, Descoloração de pelos

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO	Laboratório

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0887070120180429

Página 2/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 68707-1	Data de Emissão: 29/04/2019 11:44:36	Data da Revitalização: 29/04/2020
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisgeo no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Ariana Fonseca Ramos	CPF: 301.272.908-93
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JÚLIO DE MESQUITA FILHO	CNPJ: 48.031.918/0003-97

Registro de coleta Imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à Instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CGBIO).

[illegible]

* Identificar o significado do nível taxonômico negativo.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº4/ 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do SísioAC/MSO na Internet (www.tcmto.gov.br/sisio).

Código de autenticação: 0687070120190429

Página 3/3