

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

ESPECIALIZACIÓN EN DIAGNÓSTICO VETERINARIO DE LABORATORIO

TRABAJO FINAL INTEGRADOR

Título: Proteinograma de sueros felinos, una herramienta complementaria de casos clínicos

Autor: Lorena Fontana

Directora: Graciela Miceli

Codirectora: Estela Bonzo

2016

Dedicatoria

A mi hija Pilar, fuente de inspiración, motivación y arranque de cada una de las cosas que emprendo.

Índice:

Agradecimientos	4
Resumen	5
Introducción	6
Análisis de las proteínas séricas mediante técnicas de laboratorio	7
Fracciones de un proteinograma electroforético normal	10
Patrones electroforéticos alterados	14
Objetivos	16
Hipótesis	16
Desarrollo	17
Selección de animales y muestras experimentales	17
Procesamiento de las muestras	17
Análisis de datos obtenidos	18
Bioseguridad	18
Resultados	19
Generales	19
Variaciones en los valores séricos de proteínas	21
Variaciones en las fracciones proteicas observadas	23
Discusión y conclusiones	25
Bibliografía	26
Anexos	28
1: valores individuales séricos de proteínas y porcentaje de cada fracción proteica de los animales usados en este estudio que presentaron algún tipo de afección	28
2: Valores de referencia	29

Agradecimientos

A la facultad de Ciencias Veterinarias y a la Universidad Nacional de La Plata, por darme la oportunidad de ser médica veterinaria, y a cada uno de los docentes y no docentes que hicieron de mí mejor persona y participaron en mi formación.

A los integrantes del comité de la Carrera de Especialización en Diagnóstico de Laboratorio.

A las cátedras de Inmunología Veterinaria y Virología, por abrirme las puertas y brindarme sus espacios para la realización de mi trabajo.

A Graciela mi directora, por su apoyo, su generosidad y acompañamiento, por ser más que directora.

A mi codirectora Estela por brindarme su ayuda y conocimiento.

A mis compañeros del Servicio Central de Laboratorio, por darme el tiempo necesario para realizar este trabajo. A Sandra Arauz por incentivar-me.

A Eduardo Mórtola por su ayuda y generosidad.

A Hernán Sguaza, a Marcelo Pecoraro, por su colaboración.

A mis compañeras de trabajo Cecilia y Daniela, por aguantar todas mis ocurrencias y locuras.

A Susana Córdoba y Francisco Reinaldi, inspiradores en una pasión compartida.

A Alejandro Juega Sicardi por ser guía y maestro de vida.

A César por su apoyo incondicional, por creer y estar.

Resumen

Las proteínas plasmáticas cumplen diversas funciones en los organismos vivos entre las que se pueden mencionar entre otras las de transporte, inmunológica, hormonal y enzimática. Las alteraciones de los valores de las distintas fracciones proteicas pueden a menudo asociarse a distintas patologías de los animales. La electroforesis es una prueba de laboratorio clínico, que permite la separación de las proteínas de acuerdo a sus características físicas; en este trabajo se realizó un estudio transversal de las fracciones proteicas de muestras de sueros de pacientes felinos con el objetivo de relacionar las variaciones en las fracciones del proteinograma de las muestras y relacionar los patrones electroforéticos según la sintomatología y diagnósticos presuntivos o definitivos, agrupando los resultados de las pruebas según causas infecciosas-inflamatorias, metabólicas y neoplásicas. Se realizó la separación de las fracciones proteicas, albúmina, alfa globulinas (α), beta globulinas (β), gammaglobulinas (γ), y las subfracciones alfa 1 globulinas (α -1), alfa 2 globulinas (α -2), beta 1 globulinas (β -1) y beta 2 globulinas (β -2) mediante electroforesis en cintas de acetato de celulosa. Los animales utilizados en este estudio fueron clasificados en normales (no presentaron signos de afección alguna) y, según la patología predominante en animales con enfermedad renal, con afección hepática o con enfermedad infecciosa/inflamatoria (leucocitosis, VIF+ y con presencia de *Mycoplasma spp*). Se observaron diferencias según patologías con respecto a los normales en las fracciones proteicas analizadas en los distintos grupos de animales, por lo que la utilización de este método podría ser útil como un instrumento más en el diagnóstico de diversas enfermedades, junto a una buena anamnesis, análisis de los signos clínicos del paciente, correcto examen clínico y la utilización de métodos complementarios acordes.

Introducción

Las proteínas son polímeros de aminoácidos y pueden estar compuestas por una o más cadenas de polipéptidos asociadas o no a carbohidratos o lípidos. Las unidades estructurales de las proteínas son los aminoácidos, los cuáles son anfóteros, o sea, de acuerdo al pH pueden estar positiva o negativamente cargados. Las proteínas tienen un papel fundamental en la estructura y función de las células tanto animales como vegetales.

Funciones de las proteínas en el organismo (Brandan y col., 2008)

- Son parte estructural de las células.
- Participan en la movilidad celular.
- Muchas hormonas son de naturaleza proteica.
- La mayoría de las enzimas son proteínas.
- Son indispensables para la acción que realizan las vitaminas.
- Forman parte de los receptores hormonales.
- Algunas son segundos mensajeros para la acción hormonal.
- Forman complejos con otros compuestos orgánicos constituyendo glicoproteínas y lipoproteínas.
- Participan en la defensa inmunológica, como inmunoglobulinas y sistema del complemento.
- Participan en la contracción muscular.
- Constituyen o se asocian a sistemas buffer.
- Actúan como transportadoras de sustancias (albúmina, hemoglobina y transferrina).
- Participan en los procesos de coagulación.
- Regulan procesos celulares como las citoquinas.
- Actúan como sostén y soporte de tejidos (colágeno, elastina).

En la actualidad se acepta clasificar a las proteínas plasmáticas de acuerdo a sus funciones en los siguientes grupos (Osatinsky, 2012):

- a) Inhibidores de las proteinasas
- b) Proteínas de transporte
- c) Inmunoglobulinas
- d) Coagulación y fibrinólisis
- e) Sistema del complemento
- f) Enzimas y otras proteínas
- g) Sistemas de lipoproteínas
- h) Proteínas de función no definida

Estos grupos pueden ser parcial o totalmente identificados mediante diversos procedimientos de laboratorio.

Análisis de las proteínas séricas mediante técnicas de laboratorio

El método de elección para el estudio de las proteínas séricas en el laboratorio es el proteinograma electroforético. Se puede realizar por métodos manuales, semi y totalmente automatizados según volumen y estructura de cada laboratorio (Osatinsky, 2012).

La electroforesis es una prueba de laboratorio clínico, que permite la separación de las proteínas de acuerdo a sus características físicas. Estas tienen cargas eléctricas diferentes y cuando se ponen en un campo eléctrico, sus moléculas se desplazan a diferentes velocidades en relación a su carga eléctrica y sus pesos moleculares. La dirección de migración de las moléculas depende del pH de la solución y del punto isoeléctrico de cada proteína (Le Carrer, 2014).

Al someter un suero a una corrida electroforética, este queda separado en cuatro fracciones principales:

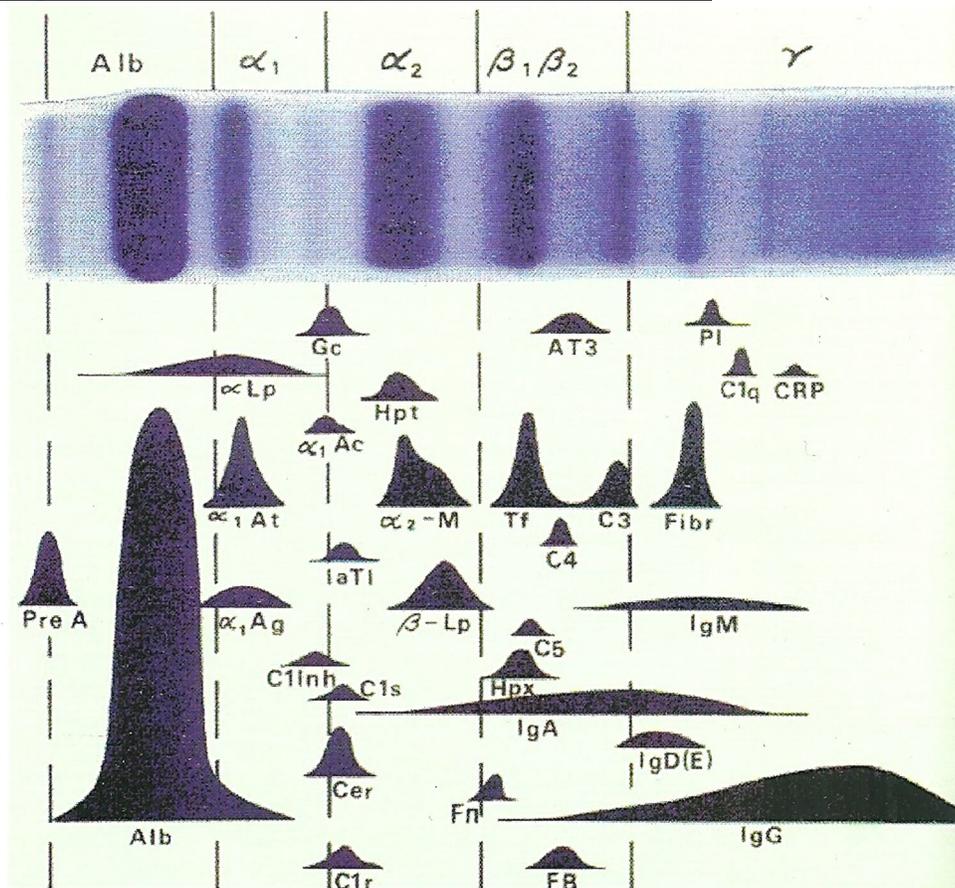
1. albúmina
2. alfa globulinas (α)
3. beta globulinas (β)
4. gammaglobulinas (γ)

En medicina veterinaria, las fracciones α y β globulinas, en felinos y caninos suelen dividirse en dos subfracciones cada una, quedando entonces el suero subdividido de la siguiente manera (Willard, 2004; Taylor y col., 2010; Miceli y col., 2014):

1. albúmina
2. alfa 1 globulinas (α -1)
3. alfa 2 globulinas (α -2)
4. beta 1 globulinas (β -1)
5. beta 2 globulinas (β -2)
6. gammaglobulinas (γ)

En medicina humana la Sociedad Internacional de Electroforesis estableció, que el fraccionamiento electroforético debe separar las fracciones β -1 y β -2 (Osatinsky, 2012).

Imagen 1: Fracciones de las proteínas séricas humanas



En la imagen 1 se observa en la parte superior un proteinograma realizado en papel, con sus respectivas fracciones. Debajo una electroforesis bidimensional, donde puede verse la ubicación de las distintas fracciones que constituyen el proteinograma y su movilidad electroforética (Tomado de Osatinsky, 2012)

Proteínas que forman parte de cada fracción electroforética.

- TTR: proteína ligada al retinol
- Albúmina: α Feto Proteína
Afamina
Proteína ligada a la Vitamina D
- Alfa 1: α 1 Antitripsina
 α 1 Glicoproteína ácida
 α 1 Globulina ligada a la Tiroxina Transcortina
- Alfa 2: α 2 Haptoglobina
 α 2 Macroglobulina
Ceruloplasmina
- Beta 1: Transferrina
Ferritina
Hepcidina
- Beta 2: C'3
Hemopexina
C'4
Fibrinógeno (plasma)
- Gammaglobulina:
Ig G
Ig A
Ig M
Ig D
Ig E
PC Reactiva
Cadenas livianas K y λ

Fracciones de un proteinograma electroforético normal

1.-Zona de Albúminas

Albúmina

Es una de las proteínas más importantes del plasma, constituye las 2/3 partes de su contenido. Es la proteína de transporte por excelencia. Se sintetiza en el hígado y está presente en todos los fluidos del organismo. Por su elevada concentración en plasma y su excelente capacidad de unión, regula y mantiene la presión coloidosmótica de la sangre.

Entre las sustancias transportadas por la albúmina se encuentran lípidos, ácidos grasos libres de cadena corta, fosfolípidos, aminoácidos, bilirrubina, iones como el Cu^{++} y el Ca^{++} , hormonas y diversas drogas como los antibióticos.

Globulina unida a la tiroxina (TBG)

Se sintetiza en el hígado. Pertenece a la familia de las serpinas.

Transcortina, Globulina unida a los corticoides (CBG)

Proteína sintetizada en el hígado. Tiene un solo sitio de unión a los esteroides y pertenece a la familia de las serpinas sin actividad inhibitoria. Defectos en el gen que codifica la síntesis de transcortina provocan la deficiencia en la unión de la globina a los corticoides, que se manifiesta por la baja afinidad al cortisol.

Proteína unida al retinol (RBP)

También hepática. Pertenece a la familia de las lipocalina. Tiene una estructura tridimensional cuando forma el complejo con el retinol. Defectos en el gen de RBP producen su deficiencia y ocasionan problemas en la visión nocturna por atrofia progresiva del epitelio del pigmento de la retina.

2.-Zona de las alfa 1

Alfa 1 glicoproteína ácida (AGP)

Se sintetiza en el hígado, granulocitos y monocitos e interviene en la inmunorregulación.

Alfa 1 antitripsina

Se sintetiza en el hepatocito. Inhibe la elastasa de los leucocitos y otras proteinasas. Su deficiencia produce enfisema pulmonar, ya que estas proteínas degradan la elastina de las paredes de los alvéolos pulmonares.

Es reactante de fase aguda positivo tipo II, se eleva en procesos inflamatorios, traumas, cirugías y o infecciones.

Alfa 1 antiqumotripsina (ACT)

Proteína perteneciente a la familia de las serpinas y de origen hepático. Inhibe a la quimotripsina y a la catepsina G. Su deficiencia causa enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

3.-Zona de las alfa 2

Haptoglobina

Se sintetiza en el hígado, bazo, timo y nódulos linfáticos. No es un miembro de la familia de las globinas, sino que está relacionada con la hemoglobina, a la que se une en forma irreversible. En los casos de hemólisis intravascular disminuye su concentración, así como también en patologías hepáticas severas. Aumenta como reactante de fase aguda.

Alfa 2 macroglobulina

Es un inhibidor de las proteasas, regula el sistema fibrinolítico y transporta factor de crecimiento/citoquinas. No es reactante de fase aguda. Inhibe la liberación de proteinasas de las bacterias y limita el daño tisular durante la infección.

Se sintetiza en el hepatocito y en numerosos tipos de células.

Ceruloplasmina (CP)

Es una ferroxidasa. Se sintetiza en el hígado. Participa en el transporte y almacenamiento del hierro. Tiene actividad de amino oxidasa y de superóxido dismutasa. Transporta cobre y en la homeostasis, es reactante de fase aguda II, susceptible al estrés.

4.-Zona de las beta 1

Transferrinas (TF)

Constituyen la familia de glicoproteínas que se unen al Fe y controlan al Fe libre en los fluidos biológicos. Existen varios tipos, según su lugar de origen:

- Serotransferrina o siderofilina, en la sangre.
- Lactoferrina en la leche.
- Ovotransferrina o conalbúmina en la clara del huevo.
- Melanotransferrina, asociada a las membranas celulares.

Ferritina

Presente en casi todas las células. Se sintetiza en el hígado. Interviene en el almacenamiento de Fe, por lo que es importante en su homeostasis.

Es un reactante de fase aguda tipo II.

5.-Zona de las beta 2

Fibrinógeno (FI)

Glicoproteína sintetizada por el hígado. Es esencial para la coagulación sanguínea. Es reactante de fase aguda tipo II.

Hemopexina (HPX)

Es una proteína que transporta el grupo Hem por su gran afinidad. El grupo Hem libre es un tóxico celular y la HPX es un poderoso antioxidante.

Se sintetiza en el hígado.

Complemento C3/ C3'a (anafilotoxina)

Es un inhibidor de las proteasas. Es una glicoproteína hepática. Presenta un rol fundamental en la activación del complemento. El proceso de activación del C3 por la vía clásica y la alternativa.

Es un mediador local de los procesos inflamatorios. Induce la contracción del músculo liso, aumenta la permeabilidad vascular y la secreción de histamina por los mastocitos. Es un reactante de fase aguda tipo II.

Beta 2 Microglobulina

Se expresa en todas las células nucleadas, con un rol importante en el sistema inmune. Es un antígeno clase I del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC).

Es un indicador importante de desarrollo tumoral. Está relacionada con la insuficiencia renal (se eleva conjuntamente al aumento de la creatinina sérica).

Complemento C4/C4a

Glicoproteína hepática que participa en la activación del complemento por la vía clásica. Presenta una estructura similar al C3, el C5 y la α 2 macroglobulina. Induce la contracción del músculo liso, aumenta la permeabilidad vascular y provoca la secreción de histamina de los mastocitos.

6.-Zona de las gammas

Inmunoglobulinas

Son cinco: Ig G, Ig A, Ig M, Ig D e Ig E.

Constituyen una familia de glicoproteínas que se sintetizan en los plasmocitos maduros. Reconocen y se unen al antígeno. Favorecen la destrucción y o eliminación del inmunocomplejo formado a través de los mecanismos efectores.

Proteína C reactiva (PCR)

Se sintetiza en el hígado. Se une a la lamelina y fibronectina para la reparación tisular. Activa el complemento por vía clásica, estimula la opsonización y la fagocitosis.

Patrones electroforéticos alterados

Las alteraciones de los valores de las distintas fracciones proteicas se pueden incluir dentro de las siguientes categorías:

- **Disproteinemias:**

Alteraciones de las proteínas plasmáticas caracterizadas por variaciones de las mismas con hiper o hipoproteinemia con variación ligera de la proteinemia total y modificación de la proporción entre albúminas y globulinas a expensas de la primera.

- **Seudo-disproteinemias:**

Caracterizadas por alteraciones en el valor de la proteinemia total sin alteración de las proporciones normales de las fracciones en un proteinograma electroforético

- **Disglobulinemias:**

Corresponden a alteraciones cuali o cuantitativas de las fracciones proteicas de las zonas de las globulinas. Con variaciones de la proteinemia total y de las proporciones de las distintas fracciones del proteinograma electroforético. Las patentes o perfiles pueden ser de características policlonales, oligoclonales o monoclonales.

Causas

Las disproteinemias generalmente ocurren con una disminución del valor de albúminas (hipoalbuminemia), la cual puede deberse a una disminución en la producción hepática, una excesiva pérdida a nivel renal o formación de terceros espacios con pasaje de albúminas debido a la variación en la presión coloidosmótica (Eckersall, 2008)

Las seudo-disproteinemias pueden deberse a hemodilución o hemoconcentración.

En relación a las disglobulinemias, pueden existir tanto aumento como disminución de las distintas fracciones.

Hiperglobulinemias

Las hiperglobulinemias policlonales (gammapatías) tienen un pico de base amplia que abarca las regiones β y γ . Sugiere estimulación antigénica y procesos inflamatorios persistentes (trastornos crónicos bacterianos, virales, micóticos, o parasitarios), (Pisano y col., 2013; Aquino y col., 2002) neoplasias y / o enfermedades inmunomediadas. En gatos la causa más frecuente de gammapatía policlonal es PIF (peritonitis infecciosa felina).

Las hiperglobulinemias monoclonales tienen un pico electroforético de base estrecha en regiones β o γ ; suelen deberse a neoplasias de linfocitos y células plasmáticas (mieloma múltiple, macroglobulinemia y linfosarcomas).

La hiperglobulinemia felina puede hallarse en infecciones crónicas por los virus de la leucemia felina (ViLeF) y de la inmunodeficiencia felina (VIF).

Hipoglobulinemia

Los animales domésticos recién nacidos tienen hipogammaglobulinemia fisiológica y concentraciones séricas de proteínas totales correspondientes al 60 a 80 % de los valores adultos. Las inmunodeficiencias congénitas rara vez se diagnostican, debido a que los cachorros y gatitos mueren rápidamente debido a infecciones.

Las causas más comunes de hipoglobulinemia son las hemorragias externas y la pérdida de proteínas por enteropatías.

En medicina veterinaria felina se ha encontrado escasa bibliografía referida a la realización de proteinogramas y su relación con distintas entidades nosológicas.

Se destacan los trabajos de Pisano del año 2013 sobre gatos asmáticos y un trabajo sobre la tos en los felinos (Johnson, 2009).

Objetivos

Objetivo General

- Realizar un estudio transversal de las fracciones proteicas de muestras de sueros de pacientes felinos recibidos en el laboratorio Diagnóstico Veterinario Sur de la localidad de Quilmes.

Objetivos específicos

- Determinar las diferentes fracciones proteicas en muestras felinas, en pacientes sometidos a chequeos sanguíneos recibidos en el laboratorio.
- Relacionar los valores obtenidos en las muestras, con los valores de referencia que aporta la bibliografía.
- Relacionar las variaciones en las fracciones del proteinograma de las muestras y los patrones electroforéticos según la sintomatología y diagnósticos presuntivos o definitivos.
- Agrupar los resultados de las pruebas según causas infecciosas-inflamatorias, metabólicas y neoplásicas.

Hipótesis

Los patrones electroforéticos más frecuentemente observados en el diagnóstico de laboratorio en felinos corresponden a gammapatías policlonales asociados a enfermedades de curso crónico de tipo infeccioso e inflamatorio.

Desarrollo

Selección de animales y muestras:

Se analizaron 41 muestras de sangre de pacientes felinos que fueron remitidas al laboratorio Diagnóstico Veterinario Sur de la localidad de Quilmes, para chequeos sanguíneos y bioquímicos.

Las muestras fueron agrupadas, según causas de sospecha clínicas o según resultados de laboratorio, en enfermedades inflamatorias-infecciosas, metabólicas y neoplásicas.

Las muestras utilizadas para el presente estudio correspondieron a suero obtenido en tubos secos sin anticoagulante, libres de hemólisis y lipemia.

Procesamiento de las muestras:

a) Las muestras sanguíneas obtenidas se dejaron reposar, a temperatura ambiente, hasta formación de coagulo. Posteriormente fueron centrifugadas entre 2500 a 3000 rpm durante 10 minutos para la obtención del suero.

b) A todas las muestras se le realizó dosaje de proteínas totales y albúmina mediante un kit comercial Proti2 (método colorimétrico para la determinación de proteínas totales y albúmina en suero) de Laboratorio Wiener (imagen 2)



Imagen 2: Colorimetría para determinación de proteínas totales (izq.) y albúminas (der.).



c) Electroforesis: La misma se realizó sobre cintas de acetato de celulosa (cellogel), sembrándose las muestras con aplicador semimicro (Chemar). Se corrieron 35m a 200V. El buffer utilizado fue de borato-acetato. (imagen 3)

Imagen 3: Cuba para corrida electroferética

Finalizada la corrida, se colorearon las tiras con Amido black 10B, se decoloraron, se cortaron las distintas fracciones y se realizó la elusión de las fracciones. Luego se calcularon los valores de las distintas fracciones relacionándolos con el valor de las proteínas totales.

Análisis de datos obtenidos:

Los datos se procesaron mediante EpiInfo™ 3.5.3 y EpiTools epidemiological calculators (epitool.ausvet.com.au) y se utilizó para determinar diferencias entre los valores normales y felinos con diversas patologías el test de t para 2 muestras (p: 0,05).

Se calcularon la media y desvío estándar de cada variable analizada, de acuerdo a la bibliografía de referencia.

Bioseguridad:

Todos los procedimientos fueron realizados respetando las Buenas Prácticas de Laboratorio y las normas de Bioseguridad.

Resultados

Generales

Sobre un total de 41 gatos que abarcó el estudio, 10 de estos animales (24% Grupo normal) no presentaron signos de afección alguna, tanto clínicamente como en el resto de los parámetros analizados (síntomatología, diagnósticos presuntivos y hallazgos de laboratorio dentro de los valores de referencia (www.aamefe.org; Meyer y Harvey, 2000).

Los resultados del proteinograma y de los valores séricos de proteínas de estos animales se presentan en la tabla I.

Los restantes animales fueron clasificados según la patología predominante. El resultado de esta clasificación muestra la presencia de 6 gatos (15%) con enfermedad renal (valores de urea y creatinina mayores a 105 mg/dl y 2,8 mg/dl respectivamente), y 5 animales (12%) con afección hepática (GPT >100U/l). El resto de los gatos, 20 (49%), se clasificaron dentro de la categoría “enfermedad infecciosa/inflamatoria”. Cuatro (10%) de ellos presentaron leucocitosis (recuento de glóbulos blancos >20.000), 5 (12%) dieron positivo al test de VIF y en los restantes 11 se detectó la presencia de *Mycoplasma spp* (27%). Esta distribución se muestra en el gráfico 1.

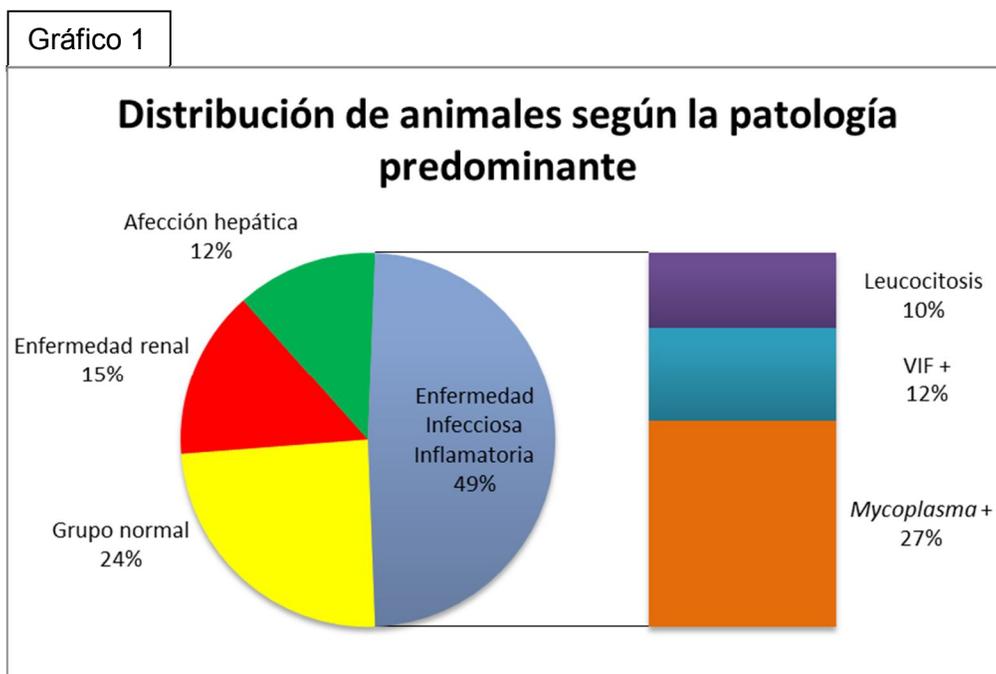


Tabla I: Valores séricos de proteínas y porcentaje de cada fracción proteica en la población de gatos que no presentaron signos de afección alguna (Grupo normal)

Felino sexo	Valores séricos (g%)				Proteinograma (% de cada fracción)					
	Prot. Tot.	Albúminas	Globulinas	R Alb/glob	Albúminas	Alfa 1	Alfa 2	Beta 1	Beta 2	Gamma
Macho	5,2	2,5	2,7	0,93	45	5,7	13,3	14,9	7,2	14,1
Hembra	5,9	2,6	3,3	0,79	33	24,2	1,1	14,6	10,1	17,1
Hembra	4,7	2,1	2,6	0,81	44	12,1	1,1	8,5	11,1	23,6
Hembra	5,6	2,3	3,3	0,70	41	7,7	9,0	5,8	13,3	23,1
Macho	5,4	2,6	2,8	0,93	39	9,8	7,0	2,8	11,3	30,9
Hembra	6,3	2,6	3,7	0,70	32	2,7	11,3	15	12,2	27,4
Hembra	7,5	2,5	5	0,50	43	10,8	16,4	4,3	7,9	17,2
Macho	6,4	2,5	3,9	0,64	39	5,8	16,4	1,2	7,1	30,3
Macho	7,1	2,5	4,6	0,54	35	14,8	2,1	7,7	10,6	29,6
Macho	5,7	2,4	3,3	0,73	41	10,4	8,5	1,2	8,1	31,1
Media ± DS	5,9 ± 0,9	2,5 ± 0,2	3,5 ± 0,9	0,7 ± 0,2	39,2 ± 4,5	10,4 ± 6,0	8,6 ± 5,9	7,6 ± 5,5	9,9 ± 2,2	24,4 ± 6,4

En la tabla 2 se observan los valores promedios ± DS séricos de proteínas y los porcentajes de cada fracción proteica en las distintas poblaciones de gatos, agrupados según su patología predominante. En el anexo 1 se presentan los valores individuales de cada gato.

Tabla II: Valores promedios ± DS séricos de proteínas y porcentaje de cada fracción proteica en las distintas poblaciones de gatos, agrupados según su patología predominante

Patología predominante	Valores séricos (g%)				Proteinograma (% de cada fracción)					
	Prot. Tot.	Albúminas	Globulinas	R Alb/glob	Albúminas	Alfa 1	Alfa 2	Beta 1	Beta 2	Gamma
Enfermedad renal	6,4 ± 1,2	2,4 ± 0,3	4,0 ± 1,0	0,6 ± 0,1	33,7 ± 3,0	9,0 ± 4,7	8,4 ± 6,0	16,8 ± 12,3	8,1 ± 1,1	26,3 ± 12,7
Afección hepática	5,7 ± 1,4	2,2 ± 0,3	3,5 ± 1,1	0,7 ± 0,1	36,0 ± 3,5	14,1 ± 6,6	5,5 ± 3,8	17,1 ± 13,5	5,7 ± 0,7	28,4 ± 14,8
Leucocitosis (a)	6,3 ± 1,2	2,4 ± 0,1	4,0 ± 1,1	0,6 ± 0,2	34,8 ± 6,8	6,0 ± 2,4	10,7 ± 2,0	5,4 ± 1,7	10,3 ± 0,6	35,4 ± 7,7
VIF + (b)	5,9 ± 1,6	2,2 ± 0,4	3,7 ± 1,3	0,6 ± 0,1	34,0 ± 3,4	7,2 ± 3,1	9,5 ± 3,9	17,7 ± 10,3	10,1 ± 3,9	24,2 ± 2,3
Pres. Mycoplasma (c)	6,4 ± 1,2	2,3 ± 0,3	4,0 ± 1,1	0,6 ± 0,2	33,6 ± 4,8	11,3 ± 8,7	7,4 ± 3,7	7,6 ± 4,9	10,5 ± 2,5	35,9 ± 15,5
Inflam/infec (a+b+c)	6,2 ± 1,2	2,3 ± 0,3	3,9 ± 1,1	0,6 ± 0,2	34,0 ± 4,7	9,2 ± 6,9	8,6 ± 3,6	9,7 ± 8,0	10,4 ± 2,5	32,9 ± 12,8

En los gráficos 2 a 8 se pueden visualizar los porcentajes promedio de cada fracción proteica en cada grupo de animales.

Gráfico 2:



Gráfico 3

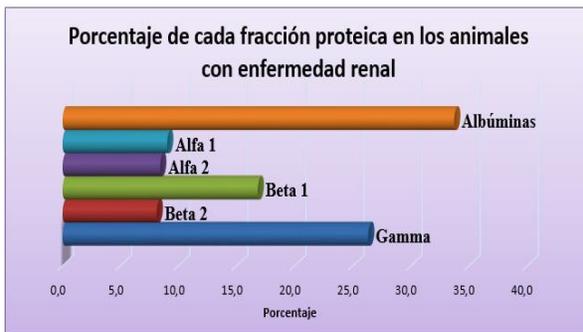


Gráfico 4

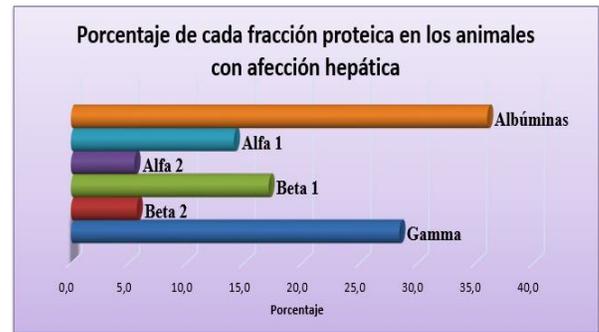


Gráfico 5

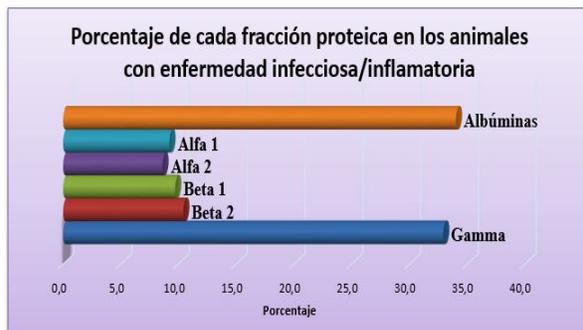


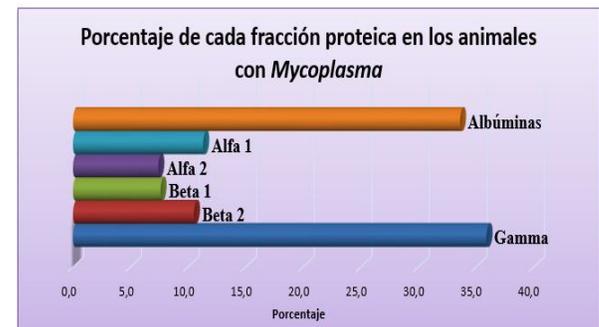
Gráfico 6



Gráfico 7



Gráfico 8



Variaciones en los valores séricos de proteínas:

En los gráficos 9 a 11, se presentan los resultados de los valores de proteínas totales, albúminas y globulinas de los distintos grupos de animales con algún tipo de afección, en comparación con el grupo de gatos normales

Gráfico 9

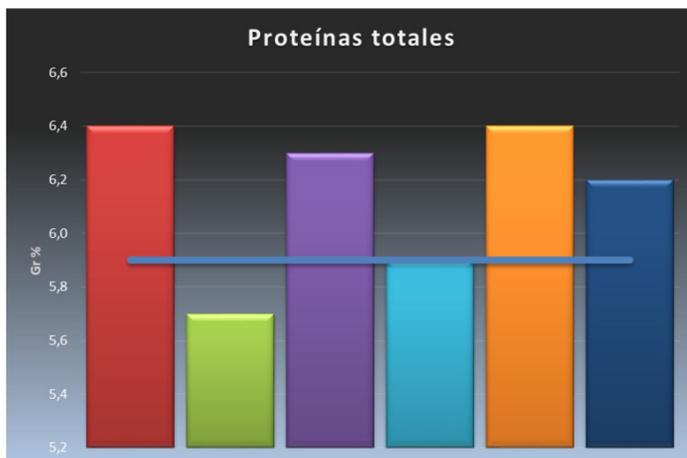
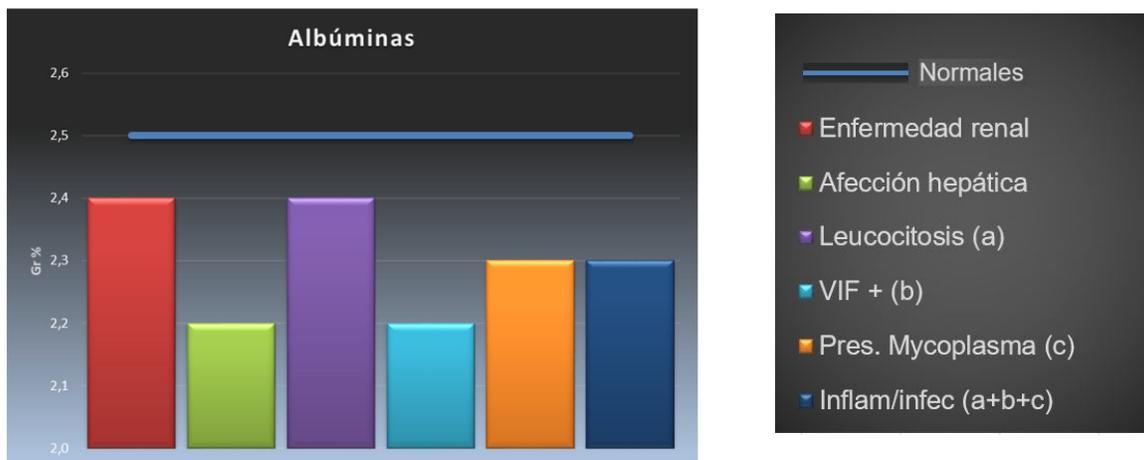
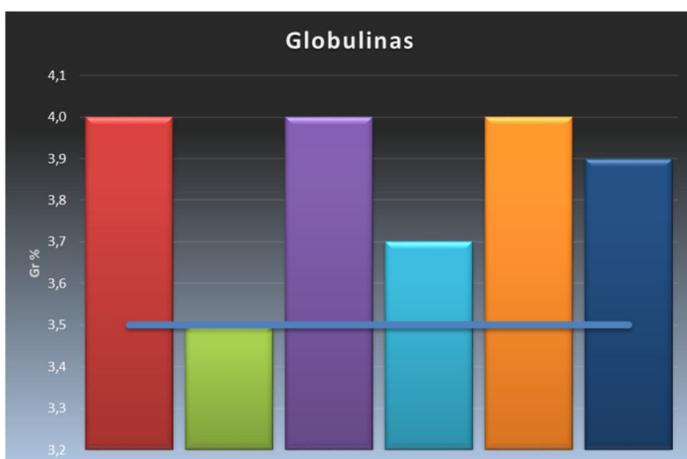


Gráfico 10



- Normales
- Enfermedad renal
- Afección hepática
- Leucocitosis (a)
- VIF + (b)
- Pres. Mycoplasma (c)
- Inflam/infec (a+b+c)

Gráfico 11



Variaciones en las fracciones proteicas observadas:

En los 6 animales con diagnóstico de enfermedad renal, se determinó un aumento de la fracción Beta 1 (16,8 vs 7,6%) en relación con el grupo de animales normales, mientras que en el resto de las fracciones las diferencias encontrados fueron de menor cuantía.

Al analizar los 5 animales que presentaban enfermedad hepática, se observó un incremento en las fracciones Alfa 1 (14,1 vs 10,4%), Beta 1 (17,1 vs 7,6%) y Gamma (28,4 vs 24,4); y un descenso en las fracciones Alfa 2 (5,5 vs 8,6%) y Beta 2 (5,7 vs 9,9%).

En los 11 felinos con diagnóstico de *Mycoplasma haemotróficos*, los datos hallados fueron similares a los del grupo normal en las fracciones Alfa 1 (11,3 vs 10,4%), Alfa 2 (7,4 vs 8,6%) y Beta 1 (7,6 vs 7,6%), con un incremento en la fracción Gamma (35,4 vs 24,4%).

Los 5 felinos reactivos a VIF presentaron los siguientes resultados: disminución de la fracción Alfa 1 (7,2 vs 10,4%) y leve incremento en Alfa 2 (9,5 vs 8,6%). En el caso de las fracciones beta y gamma, se notó una elevación en el caso de Beta 1 (17,7 vs 7,6%) y pocas diferencias en Beta 2 (10,1 vs 9,9%) y Gamma (24,2 vs 24,4%), siempre comparando con los valores observados en el grupo de animales que no presentaron signos de afección alguna (normal).

En los 4 gatos con leucocitosis se determinó un descenso de la fracción Alfa 1 (6,0 vs 10,4%), un incremento en Alfa 2 (10,7 vs 8,6%), descenso de Beta 1 (5,4 vs 7,6%), Beta 2 sin diferencias y una elevación de la fracción Gamma (35,4 vs 24,4%).

El análisis en conjunto de los animales que presentan proceso inflamatorio/infeccioso demuestra el siguiente comportamiento de las fracciones proteicas: Alfa 1 (9,2 vs 10,4%), Alfa 2 (8,6 vs 8,6%), Beta 1 (9,7 vs 7,6%) y Beta 2 (10,4 vs 9,9%) prácticamente sin modificaciones en comparación con los animales normales, mientras que se puede evidenciar una elevación de la fracción Gamma (32,9 vs 24,4%).

No se observó en ninguna de las variables diferencias significativas.

Todas estas variaciones se presentan en los gráficos 12 a 16.

Gráfico 12



Gráfico 13



Gráfico 14

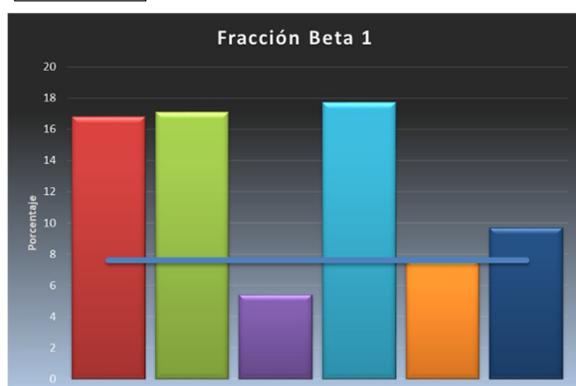


Gráfico 15

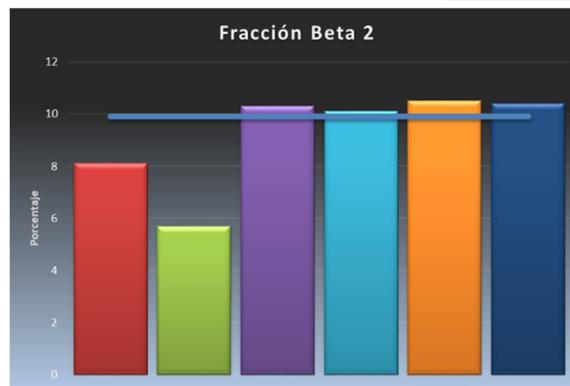
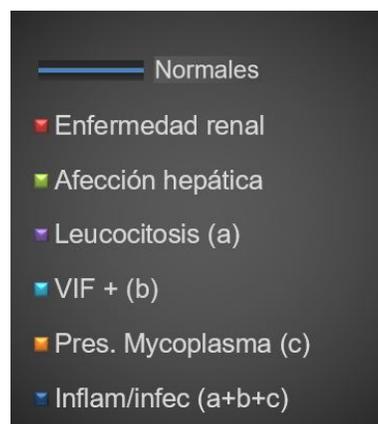


Gráfico 16



Discusión y conclusiones

En el presente trabajo se realizó la separación de las fracciones proteicas, albúmina, alfa globulinas (α), beta globulinas (β), gammaglobulinas (γ), y las subfracciones alfa 1 globulinas (α -1), alfa 2 globulinas (α -2), beta 1 globulinas (β -1) y beta 2 globulinas (β -2); utilizando como método la electroforesis siendo el mismo de elección para el estudio de las proteínas séricas en el laboratorio, utilizando para su realización cintas de acetato de celulosa.

En el estudio se determinaron los porcentajes de cada fracción en animales normales que no presentaron signos de afección alguna, tanto clínicamente como en el resto de los parámetros analizados (sintomatología, diagnósticos presuntivos y hallazgos de laboratorio dentro de los valores de referencia); para poder compararlos con los animales agrupados según causas infecciosas-inflamatorias, metabólicas y neoplásicas.

Los valores determinados para las distintas fracciones proteicas en animales normales presentan coincidencias con los de los autores de la bibliografía de referencia (Kaneku, 1980; Turnwald y Barta, 1989; Taylor y col., 2010), Ver anexo 2.

Se observó que las gammapatias policlonales asociadas a enfermedades de curso crónico del tipo infeccioso inflamatorio, representan el 49% de los animales del presente estudio, y que la utilización del método podría ser útil pero no como única herramienta de diagnóstico. Es un instrumento más, pero debe cotejarse cada paciente en particular, haciendo hincapié en los pilares diagnósticos; buena anamnesis, signos clínicos del paciente, correcto examen clínico y la utilización de métodos complementarios acordes.

En posteriores estudios, con un número mayor de animales y cotejando con otros métodos analíticos (ej. Gel de agarosa), se podrá evaluar si las diferencias con respecto a los valores normales pueden asociarse con una o más de las patologías analizadas en el trabajo actual, en las muestras recepcionadas en el laboratorio.

Bibliografía

1. AAMeFe Asociación Argentina de Medicina Felina “<http://www.aamefe.org>”
2. Brandan N, Llanos C, Barrios MB. Guía Proteínas Plasmáticas. Universidad Nacional del Nordeste Facultad de Medicina. Cátedra de Bioquímica. 2008
3. Eckersall PD. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. En: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical biochemistry of domestic animals. Academic Press, San Diego. 2008; 5: p.117-156.
4. Heer E, Margni R. Electro e inmunolectroforesis. Manual de Laboratorio e Interpretación Fundamentales. 1^{era} ed. Gumersindo F. Fernandez. Ed. 1971; p.41-70.
5. Johnson L. Tos crónica en gatos. Proceedings of the Southern European Veterinary Conference & Congress. Barcelona. 2009.
6. Kaneko JJ. Serum proteins and the dysproteinemias. En Kaneko JJ, editor: Clinical biochemistry of domestic animals, ed 3, San Diego, Academic Press. 1980.
7. Le Carrer, D. Serum Protein. Electrophoresis e Immunofixation. Lab. SEBIA. 1994; p.1-34.
8. Miceli G, Bonzo E, Fontana L. Electroforesis en acetato de celulosa: comparación de resultados. XX Reunión Científico-Técnica de la Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico. San Miguel de Tucumán. 27 al 29 de Noviembre de 2014.
9. Meyer D, Harvey J. El Laboratorio en Medicina Veterinaria. Editorial Intermédica 2000; cap 6: p.162-165.

10. Osatinsky R. Las Proteínas Séricas. Editorial Emma Fiorentino Publicaciones Técnicas. 2012.
11. Pisano P, Fontanals A, Castillo V, Mira G, Gómez N. Evaluación de las globulinas séricas y corrida electroforética sérica en gatos asmáticos. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires. XIII Congreso Nacional de AVEACA-Bs. As. 17 al 20 de Setiembre de 2013.
12. Rose N, Friedman H. El Laboratorio en Inmunología clínica, 2^{da} Ed. panamericana. 1984; p.163-167.
13. Taylor S, Tappin S, Dodkin S, Papasouliotis K, Murphy K. Serum protein electrophoresis in 155 cats. Journal of Feline Medicine and Surgery. 2010; 12: p.643-653.
14. Turnwald GH, Barta O. Immunologic and plasma protein disorders. En Willard MD, Tvedten H, Turnwald GH. Small animal clinical diagnosis by laboratory methods; Philadelphia.; WB Saunders; 1989.
15. Willard MD, Tvedten H. Diagnóstico Clínico Patológico Práctico. Editorial Intermédica 2004; 12: p.291-299.

Anexo 1:

Valores séricos de proteínas y porcentaje de cada fracción proteica en las distintas poblaciones de gatos, agrupados según su patología predominante

Patología predominante	Felino sexo	Valores séricos (g%)			R. Alb/glob	Proteinograma (% de cada fracción)					
		Prot. Tot.	Albúminas	Globulinas		Albúminas	Alfa 1	Alfa 2	Beta 1	Beta 2	gama
Enfermedad renal	Macho	6,5	2,4	4,1	0,59	32	3,4	11,8	0,7	7,4	45,1
	Macho	7,2	2,6	4,6	0,57	32	7,2	11,2	15,2	6,2	28,5
	Hembra	7,5	2,8	4,7	0,60	31	8,7	11,5	15,8	9,1	22,9
	Hembra	5,5	2,4	3,1	0,77	38	5,4	0,63	25,8	8,5	24,4
	Hembra	4,3	1,9	2,4	0,79	37	14,7	0,8	35,3	8,6	5,9
	Macho	7,1	2,3	4,8	0,48	32	14,3	14,3	8,2	8,8	30,7
Afección hepática	Hembra	7,3	2,6	4,7	0,55	31	8,8	7,0	2,3	5,2	46,2
	Hembra	6,1	2,4	3,7	0,65	39	9,4	11,4	7,8	6,1	25,8
	Hembra	4,3	1,9	2,4	0,79	37	14,7	3,8	35,3	5,6	5,9
	Hembra	6,6	2,3	4,3	0,53	34	25,0	4,0	26,1	5,1	35,1
	Macho	4,3	1,9	2,4	0,79	39	12,5	1,5	14,2	6,7	29,2
	Hembra	4,8	2,2	2,6	0,85	45	4,6	8,7	4,1	9,8	30,4
Leucocitosis	Macho	6,2	2,4	3,8	0,63	32	8,4	9,3	13,7	11,1	29,1
	Macho	6,5	2,4	4,1	0,59	31	3,4	12,8	0,7	10,2	46,1
	Macho	7,7	2,4	5,3	0,45	31	7,5	12,1	3,0	10,2	36,0
	Macho	6,1	2,4	3,7	0,65	39	9,4	11,4	7,8	6,1	25,8
VIF +	Hembra	4,4	1,8	2,6	0,69	32	3,0	6,4	34,5	7,3	21,7
	Hembra	4,1	1,8	2,3	0,78	36	5,0	9,2	19,9	9,1	22,0
	Macho	7,6	2,7	4,9	0,55	31	10,6	15,0	11,9	12,1	26,9
	Macho	7,3	2,3	5,0	0,46	32	7,9	5,5	14,6	15,7	24,8
	Hembra	8,1	2,1	6,0	0,35	26	5,1	4,7	1,9	6,2	67,1
	Macho	7,7	2,0	5,7	0,35	26	18,8	11,6	10,8	8,6	35,0
Presencia de Mycoplasma	Hembra	6,1	2,1	4,0	0,53	32	2,7	8,6	8,1	8,4	46,2
	Hembra	6,6	2,8	3,8	0,74	36	18,5	2,6	18,8	12,8	20,3
	Macho	7,0	3,0	4,0	0,75	35	31,9	5,4	4,4	11,6	15,4
	Macho	6,8	2,3	4,5	0,51	34	6,5	12,6	11,2	8,7	27,8
	Macho	4,7	2,2	2,5	0,88	38	4,5	11,7	8,0	10,8	27,9
	Hembra	5,6	2,3	3,3	0,70	41	7,7	9,0	5,8	13,3	23,1
	Hembra	5,9	2,3	3,6	0,64	33	12,0	8,6	5,3	14,5	35,0
	Macho	4,4	1,9	2,5	0,82	38	8,9	2,4	1,5	10,8	44,6
	Hembra	7,2	2,5	4,7	0,53	31	7,2	4,3	7,9	9,7	53,0

Anexo 2:

Valores mínimos y máximos de porcentaje de cada fracción proteica según diversos autores

Referencia	Proteinograma (% de cada fracción)					
	Albúminas	Alfa 1	Alfa 2	Beta 1	Beta 2	Gamma
Turnwald y Barta, 1989	36,5 – 53,5	3,9 – 7,8	5,2 – 9 1	10,4 – 15,7	3,9 – 6,5	18,3 – 28,7
Kaneku, 1980	31,8 – 59,9	3,0 – 16,0	6,1 – 13,6	4,5 – 13,6	9,1 – 15,1	25,7 – 36,4
Taylor y col., 2010	42,0 -69,6	2,9 – 7,2	4,3 – 17,4	1,4 – 5,8	1,4 – 7,2	15,8 – 30,4