

ELETROFORESE EM ACETATO DE CELULOSE DAS PROTEÍNAS SÉRICAS DE CÃES NORMAIS E DE CÃES COM SARNA DEMODÉCICA

Mitika K. HAGIWARA *

Pedro Manuel Leal GERMANO **

RFMV-A/7

HAGIWARA, M. K. & GERMANO, P. M. L. — *Eletroforese em acetato de celulose das proteínas séricas de cães normais e de cães com sarna demodécica. Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 11:69-81, 1974.*

RESUMO: *Procedeu-se ao estudo do proteinograma de cães normais e de cães com sarna demodécica, pelo método do fracionamento eletroforético em "Cellogel". Há variações individuais no número das frações protéicas, e para o cálculo do valor relativo foram consideradas cinco (5) frações albumina, α_1 , α_2 , β e γ globulinas; o valor de α_2 , β e γ foi obtido pela soma dos seus componentes.*

Nos animais com sarna demodécica há um aumento de α_2 , β ou γ globulinas dependendo da gravidade da lesão da pele.

UNITERMOS: *Eletroforese*; Acetato de celulose*; Proteínas séricas*; Cães*; Sarna demodécica*.*

INTRODUÇÃO

A sarna demodécica constitui uma afecção relativamente freqüente em Clínica Veterinária. O agente etiológico *Demodex canis* (LEYDIG, 1844), se estabelece inicialmente nos folículos pilosos donde, por contiguidade, se infiltra nos nódulos linfáticos. Nos casos mais avançados a disseminação se faz por todo o organismo através dos vasos linfáticos^{1,2}. Atinge principalmente os cães jovens de 2 meses a 3 anos de idade, afetando todas as raças, independente do sexo, manejo, etc.

Segundo COPEMAN & CAAFAR⁷ (1967) as reações dermatológicas típicas da sarna

demodécica são uma resposta alérgica ao parasita ou aos produtos do parasita. WALTON²⁰ (1966) cita essas mesmas reações como sendo do tipo inflamatório. BAKER^{1,2} (1969, 1970) estudando a histopatologia, a patogênese e a epidemiologia das demodecoses também conclui não se tratar de uma imune reação típica, sendo mais próxima de uma reação inflamatória.

Não se sabe ao certo quais as alterações que ocorrem nas proteínas séricas dos animais afetados; o estudo dessas alterações poderia trazer subsídios que pudes-

* Auxiliar de Ensino do Departamento de Patologia e Clínica Médicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.

** Médico Veterinário. Diretor Clínico da Clínica Veterinária Butantã.

sem contribuir para esclarecer a patogenia da sarna demodécica.

A eletroforese, como método analítico no estudo das proteínas séricas foi inicialmente utilizada por TISELIUS em 1937. A eletroforese sobre papel de filtro, que permite a separação de proteínas séricas, quando submetidas a uma corrente elétrica, é uma técnica relativamente simples e tem sido amplamente utilizada no estudo do proteinograma em todas as espécies animais. Na espécie canina são também numerosos os trabalhos realizados, quer seja em animais normais^{3, 4, 6, 11, 14, 17, 18} quer em diferentes condições patológicas^{7, 9, 13, 15}. A eletroforese de proteínas séricas por meio da membrana de acetato de celulose é um método mais sensível, permitindo melhor separação das diferentes frações protéicas⁵, bem como sua qualificação. Não há entretanto, trabalhos realizados na espécie canina, empregando-se acetato de celulose, sendo necessário testar o método com o soro de animais normais, para conhecer o comportamento das diferentes frações.

Os objetivos do presente trabalho são, portanto:

1. Estudar o proteinograma sérico de cães normais, utilizando-se a eletroforese em acetato de celulose "Cello-gel";
2. estudar comparativamente o proteinograma na sarna demodécica.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Animais utilizados

1.1. Cães normais

Foram utilizados 15 animais cuja idade variava de 6 meses a 3 anos. Não se levou em consideração o sexo e a raça. Esses

animais procediam do Ambulatório da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da U.S.P. onde foram levados para a profilaxia anti-rábica, tendo sido considerados clinicamente normais.

1.2. Cães com sarna demodécica

Foram utilizados 22 animais com lesões localizadas ou generalizadas, de diferentes raças, de ambos os sexos e a idade variando de 3 meses a 4 anos. Esses animais foram atendidos na Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da U.S.P. durante o período de 1970 a 1971. O diagnóstico foi feito pelo exame clínico e confirmado pelo encontro do agente etiológico *Demodex canis* no raspado da pele.

Dividimos esses animais em 4 grupos I, II, III e IV, de acordo com as características do processo.

Grupo I — Constituído pelos animais que apresentavam lesões localizadas na cabeça (animais n.ºs 1, 2, 3 e 4).

Grupo II — Constituído pelos animais com processo generalizado, tendo sido porém recentemente acometidos.

Grupo III — Constituído pelos animais apresentando processo generalizado de evolução crônica (animais n.ºs 10 a 19).

Grupo IV — Constituído pelos animais com infecção secundária (animais n.ºs 20, 21 e 22).

2. Coleta do material e tratamento subsequente

O sangue foi colhido das veias safena ou radial, com os devidos cuidados de assepsia, centrifugado imediatamente após a coleta, para evitar hemólise. Após a separação o soro foi mantido à temperatura de -10°C até o momento da análise.

3. Dosagem da proteína sérica total

A dosagem da proteína total foi feita pelo método refratométrico, utilizando-se o refratômetro Atago, onde a leitura é direta e o resultado expresso em g%.

4. Eletroforese dos soros

A migração eletroforética¹⁰ para a separação das frações proteicas foi efetuada sobre suporte de acetato de clulose "Cellogel", medindo 2,5 x 17,0 cm. O aparelho utilizado foi o Colab Unitized Electrophoresis Tank.

A amostra de soro foi aplicada utilizando-se o aplicador para macroanálise; em seguida submetida a corrente elétrica de 2,5 mA por membrana, durante 60 minutos em tampão Veronal-Acetato de sódio 0,03 M com pH 8,6 (Oxoid Acetate Buffer). Depois de coradas com amido negro (amido Schwartz 10 B) e diferenciadas com solução de metanol, água e ácido acético, as membranas foram desidratadas com metanol durante 1 minuto e mergulhadas em mistura de metanol, ácido acético e glicerol por 2 minutos, colocadas sobre lâminas de vidro e aquecidas em estufa de 70 a 80°C, até se tornarem transparentes. A densitometria foi feita pelo método semi-automático e as frações calculadas pela planimetria.

RESULTADOS

1. Cães normais

A análise eletroforética do soro de 15 animais revelou a existência das seguintes frações: albumina, α_1 , globulina, 2 frações de α_2 globulina, 3 a 4 frações de β globulina e 1 ou 2 frações de γ globulina. A β globulina apresenta nítido polimorfismo, havendo inclusive componentes de maior mobilidade, localizando-se entre α_2 e β ou então de mobilidade menor, localizando-se entre β e γ quando com-

parados com o perfil eletroforético do soro humano.

Todos os animais apresentaram as frações albumina α_1 , 2 frações de α_2 globulina, β_1 , β_2 , β_3 e γ_1 globulinas; quatro animais apresentaram a fração β_4 e cinco animais apresentaram a fração γ_2 .

Para efeito de cálculo adotamos o seguinte critério:

1. as sub-frações de β foram somadas e consideradas como uma só fração;
2. idêntico critério foi adotado para a fração γ ;
3. apesar de, em todas as amostras termos encontrado 2 frações de α_2 globulina, consideraremos a soma das 2 frações.

Assim foram consideradas 5 frações protéicas: albumina, α_1 , α_2 , β e γ globulina. Os resultados obtidos estão representados no quadro II; no quadro III apresentamos os valores absolutos das proteínas séricas.

2. Cães com sarna demodéica

Os resultados obtidos de 22 animais, todos com lesões ocasionadas pela sarna demodéica, estão apresentados no quadro IV. O mesmo polimorfismo das frações protéicas encontrado nos animais normais, foi também observado nos casos de sarna demodéica. Utilizamos portanto, o mesmo critério na qualificação das frações. Os valores absolutos das proteínas séricas nesse grupo de animais estão apresentados no quadro V.

DISCUSSÃO

O objetivo do presente trabalho foi estudar as modificações das proteínas séricas em animais com sarna demodéica.

HAGIWARA, M. K. & GERMANO, P. M. L. — Eletroforese em acetato de celulose das proteínas séricas de cães normais e de cães com sarna demodéica. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 11:69-81, 1974.

QUADRO I

Grupos de animais com sarna demodéica, segundo raça, sexo e idade e características do processo.

| Grupo | Animal n.º | Raça | Sexo | Idade |
|-------|------------|-----------------|------|-------|
| I | 1 | Pastor alemão | M | 3 a |
| | 2 | Doberman | M | 12 m |
| | 3 | Fila brasileiro | F | 6 m |
| | 4 | Dalmata | F | 4 m |
| II | 5 | S.R.D. | F | 4 m |
| | 6 | Pastor alemão | M | 10 m |
| | 7 | S.R.D. | F | 18 m |
| | 8 | Fox Terrier | M | 6 m |
| | 9 | Fox Terrier | F | 6 m |
| III | 10 | Dinamarquês | M | 15 m |
| | 11 | Dinamarquês | F | 15 m |
| | 12 | S.R.D. | F | 10 m |
| | 13 | S.R.D. | M | 10 m |
| | 14 | S.R.D. | F | 12 m |
| | 15 | Pastor alemão | M | 20 m |
| | 16 | S.R.D. | M | 20 m |
| | 17 | S.R.D. | F | 12 m |
| | 18 | Pastor alemão | M | 18 m |
| 19 | S.R.D. | M | 12 m | |
| IV | 20 | S.R.D. | M | 3 a |
| | 21 | Fox | F | 3 a |
| | 22 | Fox | M | 12 m |

Grupo I — Animais com lesões localizadas na cabeça.

Grupo II — Animais com processo generalizado, de evolução aguda.

Grupo III — Animais com processo generalizado, de evolução crônica.

Grupo IV — Animais com infecção secundária.

No atendimento desses casos observamos frequentemente animais com lesões circunscritas que assim permaneciam por muito tempo; em outros, o processo se generalizava rapidamente, sem haver uma resposta satisfatória ao tratamento instituído. Tal fato poderia ser devido a maior ou menor resistência do animal ao agente etiológico. Interessamo-nos, assim, em estudar o comportamento das proteínas séricas, principalmente a γ globulina, nos diferentes estágios da doença. O fracionamento eletroforético das proteínas

séricas em "Cellogel" apresenta numerosas vantagens em relação ao papel de filtro, mais comumente empregado. Uma das vantagens é que permite a separação de maior número de frações, sendo um método mais preciso⁵.

A maioria dos trabalhos feitos na espécie canina, foi em papel de filtro e os valores normais encontrados^{6, 9, 11, 17} foram obtidos por esse método. Consideramos como animais normais, aqueles que

QUADRO II

Cães normais (segundo raça, sexo e idade) — Valores relativos das proteínas séricas.

| Ani- mal n.º | Raça | Sexo | Idade | Albu- mina | α1 | α2 | | | β | | | | γ | | | |
|--------------------|-----------|------|-------|---------------|------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------|
| | | | | | | α2.1 | α2.2 | α2/T | β1 | β2 | β3 | β4 | β/T | γ1 | γ2 | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | γ1 |
| 1 | S.R.D. | M | 6 m | 42,44 | 5,80 | 10,50 | 5,10 | 15,60 | 6,25 | 7,00 | 11,51 | — | 24,76 | 6,30 | 5,30 | 11,60 |
| 2 | P. Alemão | M | 10 m | 50,33 | 6,72 | 8,38 | 5,03 | 13,41 | 6,04 | 6,74 | 10,06 | — | 22,84 | 3,35 | 3,35 | 6,70 |
| 3 | Fox | F | 2 a | 45,15 | 8,23 | 9,38 | 7,15 | 16,53 | 5,81 | 8,50 | 8,93 | — | 23,24 | 6,85 | — | 6,85 |
| 4 | S.R.D. | F | 15 m | 48,17 | 5,12 | 3,40 | 6,20 | 9,60 | 6,30 | 7,00 | 8,25 | 3,30 | 24,85 | 12,26 | — | 12,26 |
| 5 | S.R.D. | M | 12 m | 42,39 | 6,22 | 5,25 | 7,10 | 12,35 | 3,29 | 11,05 | 12,90 | — | 27,24 | 11,80 | — | 11,80 |
| 6 | Boxer | F | 7 m | 42,00 | 4,32 | 6,89 | 5,00 | 11,89 | 5,13 | 7,69 | 11,15 | — | 30,82 | 10,97 | — | 10,97 |
| 7 | S.R.D. | M | 15 m | 56,15 | 3,87 | 3,50 | 3,70 | 7,20 | 3,15 | 3,80 | 5,60 | 15,13 | 27,68 | 5,10 | — | 5,10 |
| 8 | P. Alemão | M | 9 m | 51,88 | 3,20 | 2,70 | 6,40 | 9,10 | 5,19 | 10,20 | 11,37 | — | 26,76 | 9,06 | — | 9,06 |
| 9 | S.R.D. | M | 6 m | 52,00 | 9,00 | 3,00 | 4,11 | 7,11 | 4,20 | 5,15 | 6,73 | 8,95 | 25,03 | 4,55 | 2,31 | 6,86 |
| 10 | Collie | F | 18 m | 49,68 | 4,37 | 5,90 | 6,52 | 12,42 | 5,90 | 8,39 | 7,76 | — | 22,05 | 7,14 | 4,34 | 11,48 |
| 11 | S.R.D. | F | 20 m | 46,15 | 9,26 | 10,38 | 6,15 | 16,53 | 4,61 | 7,30 | 8,46 | — | 20,37 | 7,69 | — | 7,69 |
| 12 | P. Alemão | M | 8 m | 50,06 | 3,71 | 4,00 | 4,13 | 8,13 | 5,17 | 10,15 | 15,35 | — | 30,67 | 7,43 | — | 7,43 |
| 13 | Fox | F | 2 a | 46,62 | 8,25 | 5,34 | 4,85 | 10,19 | 3,88 | 15,53 | 10,68 | — | 30,09 | 4,85 | — | 4,85 |
| 14 | Fox | F | 18 m | 49,57 | 4,92 | 6,50 | 6,72 | 13,22 | 4,89 | 6,96 | 13,68 | — | 25,53 | 6,86 | — | 6,86 |
| 15 | S.R.D. | F | 10 m | 49,21 | 2,70 | 2,70 | 10,81 | 13,51 | 6,76 | 9,46 | 6,76 | — | 22,98 | 10,81 | 0,79 | 11,60 |
| Σ | | | | 48,10 | 5,71 | | | 11,78 | | | | | 25,66 | | | 8,74 |
| Σ | | | | 3,89 | 2,07 | | | 1,92 | | | | | 3,24 | | | 2,53 |

M = Masculino
 F = Feminino

$$\alpha 2/T = \alpha 2.1 + \alpha 2.2$$

$$\beta/T = \beta 1 + \beta 2 + \beta 3 + \beta 4$$

$$\gamma/T = \gamma 1 + \gamma 2$$

HAGIWARA, M. K. & GERMANO, P. M. L. — Eletroforese em acetato de celulose das proteínas séricas de cães normais e de cães com sarna demodéica. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 11:69-81, 1974.

QUADRO III

Valores absolutos das proteínas séricas de animais normais (g%).

| Animal n.º | Proteína total | Albumina | α_1 | α_2 | β | γ |
|------------|----------------|----------|------------|------------|---------|----------|
| 1 | 6,4 | 2,70 | 0,37 | 0,99 | 1,58 | 0,74 |
| 2 | 7,2 | 3,62 | 0,48 | 0,96 | 1,64 | 0,48 |
| 3 | 6,6 | 2,98 | 0,54 | 1,09 | 1,53 | 0,45 |
| 4 | 5,8 | 2,79 | 0,30 | 0,56 | 1,44 | 0,71 |
| 5 | 7,1 | 3,01 | 0,44 | 0,88 | 1,93 | 0,84 |
| 6 | 6,4 | 2,69 | 0,27 | 0,76 | 1,97 | 0,70 |
| 7 | 6,7 | 3,76 | 0,26 | 0,48 | 1,85 | 0,34 |
| 8 | 7,0 | 3,63 | 0,22 | 0,64 | 1,87 | 0,63 |
| 9 | 5,9 | 3,07 | 0,53 | 0,42 | 1,48 | 0,40 |
| 10 | 6,8 | 3,38 | 0,30 | 0,84 | 1,50 | 0,78 |
| 11 | 6,5 | 3,00 | 0,60 | 1,07 | 1,32 | 0,50 |
| 12 | 6,6 | 3,30 | 0,24 | 0,54 | 2,02 | 0,49 |
| 13 | 6,3 | 2,94 | 0,52 | 0,64 | 1,90 | 0,31 |
| 14 | 5,9 | 2,92 | 0,29 | 0,78 | 1,51 | 0,40 |
| 15 | 7,0 | 3,44 | 0,19 | 0,95 | 1,61 | 0,81 |
| \bar{x} | 6,56 | 3,15 | 0,37 | 0,77 | 1,68 | 0,57 |
| s | 0,42 | 0,32 | 0,11 | 0,19 | 0,20 | 0,16 |

ao exame clínico não apresentavam nenhum sintoma da doença.

Não fizemos distinção entre animais de sexos e raças diferentes, pois, pelo menos na espécie canina, parece não haver variações fisiológicas devido a esses fatores¹⁸.

Segundo TOMODA¹⁸ (1963) existe uma variação muito grande das proteínas séricas em relação à idade, principalmente a γ globulina, que aumenta gradativamente: quanto mais velho o animal, maior é a concentração de γ globulina. Procuramos portanto restringir o estudo ao grupo de animais cuja idade variava entre 6 meses a 3 anos, grupo esse no qual está compreendida a maioria dos casos de sarna demodéica.

Os valores das proteínas séricas totais que encontramos pela refratometria não difere muito dos valores encontrados por

outros autores, sendo igual ao de GENTILE et al.¹¹ (1960), bem próximo de TOMODA^{17, 18} (1962, 1963), sendo porém menores em cerca de 10% aos valores encontrados por KANEKO & CARROL¹⁴ (1967) e DARRASPEN et al.⁹ (1961).

Na espécie em estudo as proteínas séricas mostraram ser de separação difícil e de coportamento individual bastante variável. Dependendo do animal, obtivemos 8 a 10 frações havendo evidências de existir maior número de componentes. A fração mais heteróloga é a fração β , com diversos componentes, cujos números variam de 3 a 5. Tomando-se como referência o perfil eletroforético do soro humano⁵, verificamos que na espécie canina não há separação distinta entre as frações β_1 e β_2 , pelo menos por esse método que empregamos. Os diferentes componentes da β globulina situam-se entre as

QUADRO IV

Valores relativos das proteínas séricas em cães com sarna demodéica.

| Animal n.º | Albu- mina | α1 | α2 | | β | | | | γ | | | | |
|---------------|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | | α2.1 | α2.2 | β1 | β2 | β3 | β4 | β/T | γ1 | γ2 | γ/T | |
| | | | | | | | | | | | | | β1 |
| 1 | 40,82 | 3,55 | — | 16,56 | 4,47 | 14,79 | 9,46 | — | — | 29,02 | 8,87 | 1,18 | 8,84 |
| 2 | 47,61 | 0,79 | 7,93 | 8,72 | 2,38 | 20,63 | 11,03 | — | — | 34,03 | 7,26 | 1,58 | 5,91 |
| 3 | 49,34 | 5,26 | 3,29 | 8,55 | 3,29 | 2,64 | 7,23 | 17,76 | 6,78 | 30,92 | 2,63 | 3,28 | 13,56 |
| 4 | 35,59 | 8,47 | 11,86 | — | 5,08 | 11,86 | 6,78 | 6,78 | 16,90 | 30,50 | 13,56 | — | 9,90 |
| 5 | 40,84 | 3,28 | 5,16 | 10,79 | 1,40 | 4,22 | 7,51 | 16,90 | 6,86 | 30,03 | 7,57 | 2,33 | 7,72 |
| 6 | 39,05 | 9,44 | 4,29 | 9,44 | 4,72 | 6,86 | 15,87 | 6,86 | 34,31 | 34,31 | 2,14 | 5,58 | 7,76 |
| 7 | 41,07 | 4,16 | 4,76 | 10,11 | 9,53 | 7,76 | 17,85 | 1,78 | 36,92 | 36,92 | 2,97 | 4,76 | 7,63 |
| 8 | 42,80 | 12,90 | 13,80 | 13,80 | 5,70 | 5,83 | 5,35 | 6,00 | 22,88 | 22,88 | 4,93 | 2,70 | 6,99 |
| 9 | 42,88 | 13,57 | 14,28 | 14,28 | 3,57 | 5,42 | 5,15 | 7,14 | 22,28 | 22,28 | 4,85 | 2,14 | 18,38 |
| 10 | 38,11 | 3,13 | 3,58 | 4,03 | 2,24 | 2,24 | 13,90 | 14,39 | 32,77 | 32,77 | 8,52 | 9,86 | 12,77 |
| 11 | 36,52 | 3,42 | 2,49 | 7,78 | 2,18 | 2,18 | 13,57 | 13,24 | 31,17 | 31,17 | 8,34 | 12,77 | 21,11 |
| 12 | 37,38 | 3,65 | 3,60 | 8,10 | 7,20 | 11,26 | 23,27 | — | — | 41,76 | 4,51 | 4,65 | 9,16 |
| 13 | 20,37 | 6,03 | 8,30 | 4,52 | 9,43 | 13,58 | 10,60 | — | — | 33,61 | 20,38 | 6,79 | 27,17 |
| 14 | 28,00 | 3,66 | 7,00 | 7,83 | 9,00 | 12,33 | 16,01 | — | — | 37,34 | 8,33 | 8,33 | 16,66 |
| 15 | 19,86 | 7,75 | 10,77 | — | 8,63 | 15,08 | 12,93 | 7,32 | 43,96 | 43,96 | 15,94 | 1,72 | 17,66 |
| 16 | 26,49 | 4,20 | 11,34 | — | 11,76 | 18,06 | 17,65 | — | — | 47,47 | 5,88 | 4,62 | 10,50 |
| 17 | 18,34 | 1,91 | 3,27 | 6,55 | 2,18 | 47,81 | 9,01 | — | — | 59,00 | 10,93 | — | 10,93 |
| 18 | 21,24 | 0,90 | 3,03 | 4,24 | 4,54 | 6,66 | 12,43 | 9,09 | 62,72 | 62,72 | 10,90 | — | 10,90 |
| 19 | 23,33 | 6,23 | 7,31 | 7,31 | 8,13 | 28,46 | 8,40 | 4,87 | 49,86 | 49,86 | 13,27 | — | 13,27 |
| 20 | 38,33 | 5,86 | 5,09 | 24,39 | 3,21 | 4,82 | 9,65 | — | — | 17,68 | 5,67 | 3,48 | 9,15 |
| 21 | 25,00 | 3,84 | — | 29,80 | 3,84 | 6,77 | 15,38 | 4,80 | 30,79 | 30,79 | 10,57 | — | 10,57 |
| 22 | 29,37 | 7,96 | — | 26,57 | 5,59 | 3,26 | 12,82 | — | — | 21,67 | 10,02 | 4,41 | 14,43 |

$$\alpha 2/T = \alpha 2.1 + \alpha 2.2$$

$$\beta/T = \beta 1 + \beta 2 + \beta 3 + \beta 4$$

$$\gamma/T = \gamma 1 + \gamma 2$$

QUADRO V

Valores absolutos das proteínas séricas dos animais com sarna demodécica (g%).

| Animal n.º | Proteína Total | Albumina | α_1 | α_2 | β | γ |
|------------|----------------|----------|------------|------------|---------|----------|
| 1 | 6,8 | 2,76 | 0,24 | 1,23 | 1,97 | 0,68 |
| 2 | 5,6 | 2,67 | 0,04 | 0,49 | 1,91 | 0,50 |
| 3 | 5,9 | 2,91 | 0,31 | 0,50 | 1,82 | 0,35 |
| 4 | 5,2 | 1,85 | 0,44 | 0,62 | 1,59 | 0,79 |
| 5 | 5,8 | 2,37 | 0,19 | 0,93 | 1,74 | 0,57 |
| 6 | 5,7 | 2,23 | 0,54 | 0,54 | 1,96 | 0,44 |
| 7 | 7,2 | 2,96 | 0,30 | 0,73 | 2,66 | 0,56 |
| 8 | 6,6 | 2,82 | 0,85 | 0,91 | 1,51 | 0,50 |
| 9 | 6,2 | 2,66 | 0,84 | 0,89 | 1,51 | 0,31 |
| 10 | 7,2 | 2,74 | 0,23 | 0,55 | 2,36 | 1,32 |
| 11 | 7,1 | 2,38 | 0,24 | 0,55 | 2,21 | 1,71 |
| 12 | 7,3 | 2,73 | 0,27 | 0,59 | 3,05 | 0,67 |
| 13 | 6,8 | 1,39 | 0,41 | 0,87 | 2,29 | 1,85 |
| 14 | 7,8 | 2,18 | 0,29 | 1,12 | 2,91 | 1,30 |
| 15 | 8,0 | 1,59 | 0,62 | 0,86 | 3,52 | 1,41 |
| 16 | 7,9 | 2,09 | 0,33 | 0,90 | 3,75 | 0,83 |
| 17 | 6,2 | 1,14 | 0,12 | 0,61 | 3,66 | 0,68 |
| 18 | 5,8 | 1,23 | 0,05 | 0,25 | 3,64 | 0,63 |
| 19 | 8,6 | 2,01 | 0,54 | 0,63 | 4,29 | 1,14 |
| 20 | 5,6 | 2,15 | 0,30 | 1,65 | 0,99 | 0,51 |
| 21 | 9,2 | 2,30 | 0,35 | 2,74 | 2,83 | 0,97 |
| 22 | 6,0 | 1,76 | 0,48 | 1,59 | 1,30 | 0,87 |

frações α_2 e γ globulinas. Estes últimos também apresentam comportamento variável, ora apresentando-se como uma única fração, ora como 2 frações. Provavelmente deve-se a esse grande polimorfismo a discordância das denominações das frações entre os vários autores^{3, 4, 14, 17}, bem como a divergência no valor de cada fração. Quando se deseja conhecer o comportamento detalhado de cada um dos componentes, torna-se necessário lançar mão de outros métodos bioquímicos ou imunológicos, quais sejam a imunoeletroforese^{15, 19} ou eletroforese em gel de agar¹².

No presente estudo, consideramos apenas 5 frações: albumina, α_1 , α_2 , β e γ globulinas, sendo o valor de α_2 , β e γ a soma dos valores de cada componente situado nessas faixas. Idêntico critério foi usado por CHARY & DUFOR⁶ (1965) na

espécie canina e por GACEK¹⁰ (1972) no estudo do proteinograma de jumentos.

O valor médio que assim obtivemos, aproxima-se dos valores citados por outros autores, trabalhando em papel de filtro. Apresentamos, para efeito comparativo, no quadro VI, os valores encontrados, bem como os de outros autores. O menor valor de γ globulina deve-se ao fato de que trabalhamos com animais, de no máximo, 3 anos de idade. Com efeito sabe-se que à medida que o animal vai envelhecendo¹⁸, aumenta a concentração sérica de γ globulina, devido a estímulos antigênicos nem sempre característicos.

Ao estudarmos o fracionamento eletroforético do soro de cães com sarna demodécica, encontramos também o mesmo polimorfismo, e a separação dos componentes foi muito mais difícil, principalmente na-

QUADRO VI

Valores relativos das proteínas séricas segundo diversos autores.

| Autor \ Frações | Albumina | α_1 | α_2 | β | γ |
|------------------|----------|------------|------------|---------|----------|
| Nosso valor | 48,10 | 5,71 | 11,78 | 25,66 | 8,74 |
| Gentile e col. | 48,00 | 7,50 | 9,50 | 22,70 | 12,90 |
| Darraspen e col. | 41,30 | 6,80 | 12,30 | 28,20 | 11,70 |
| Tomoda | 48,30 | 7,30 | 8,20 | 22,50 | 13,70 |
| Chary e col. | 42,90 | 6,80 | 8,30 | 27,10 | 14,90 |

queles casos em que havia aumento muito grande de uma das frações.

Os valores encontrados para a albumina, foram mais baixos do que os valores normais; em alguns casos apenas é que se situavam dentro dos limites normais. A menor concentração de albumina é facilmente explicada à luz dos conhecimentos atuais: a proteína sérica total dificilmente se altera¹⁰, e o aumento das outras frações séricas se faz à custa da diminuição da albumina. Foi nos processos localizados (animais n.ºs 1, 2 e 3) que encontramos a albumina dentro dos seus valores normais, justamente porque não há alteração das outras frações.

Nos processos generalizados, observamos diversas modificações no quadro protéico, na dependência da extensão da lesão, bem como do tempo decorrido desde o início da afecção. Assim nos animais com lesões extensas e com infecção secundária, comprovada através do hemograma (animais n.ºs 20, 21 e 22) observamos um aumento de α_2 globulina. Era de se esperar que houvesse esse aumento, pois em todos os processos inflamatórios agudos^{9, 18} quer infecciosos ou não, há um aumento da fração α_2 , independente da espécie animal. Os animais 8 e 9 não apresentavam sinais clínicos de infecção secundária; ob-

servamos entretanto, aumento de α_1 e α_2 globulinas, o que nos fez suspeitar da existência de uma infecção inaparente, confirmada pelo hemograma. Já nos animais que apresentavam processo generalizado, com lesão extensa da pele, lembrando uma dermatite atópica ou seborréica, houve um aumento da β globulina, com excessão dos animais 8 e 9.

O aumento da fração β nas afecções crônicas da pele já havia sido relatado por PARTHASARATY & CHANDRASCKRAN¹⁶ (1964) e por VERSTRAETE et al.¹⁹ (1966). Quanto maior o valor de β , mais difícil foi a visualização das sub-frações ou seja, dos diferentes componentes da fração. Com efeito, formava-se um bloco compacto em forma de nódulo, havendo, inclusive o comprometimento da γ globulina, que se tornava de difícil separação; VERSTRAETE et al.¹⁹ (1966) ao estudarem diversos processos de pele, também encontraram essa formação e a denominaram de "Knot shape". Observamos essa característica nos animais n.ºs 14, 15, 16, 17 e 18.

A γ globulina manteve-se nos limites normais nos processos localizados e nos generalizados, porém recentes; em alguns animais com processo crônico houve um aumento (animais n.ºs 10, 11, 13, 14 e

15), em outros a γ globulina se manteve dentro dos limites normais. O aumento de γ globulina na sarna demodécica também é citado por VERSTRAETE et al.¹⁹ (1966) sem especificar porém, quando poderia ocorrer esse aumento.

Há portanto nos processos generalizados, duas possibilidades: aumento da β globulina acompanhado do aumento de γ globulina, ou aumento exclusivo de β globulina. Não há diferenciação dos processos em relação ao aumento de uma ou de ambas as frações; trata-se provavelmente de uma variação individual, havendo uma resposta diferente para o mesmo estímulo.

É interessante observarmos o comportamento das proteínas séricas nos animais n.º 8 e 9, em que se evidencia um aumento de α_1 e α_2 globulinas e nos animais 10 e 11, em que há um aumento de β globulina. Os animais 8 e 9 são da mesma prole, o mesmo ocorrendo com os animais 10 e 11. Animais consanguíneos podem responder de maneira idêntica a um determinado processo, podendo também haver predisposição hereditária a adquirir a sarna demodécica. Seria entretanto necessário o estudo de maior número de casos para podermos chegar a uma conclusão mais exata.

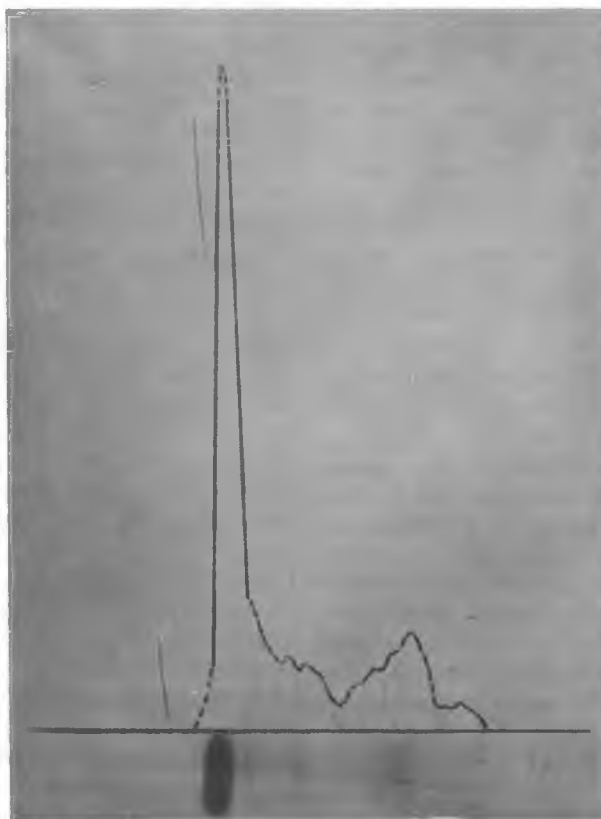


Foto n.º 1 — Perfil eletroforético do soro de animal normal (animal n.º 07).

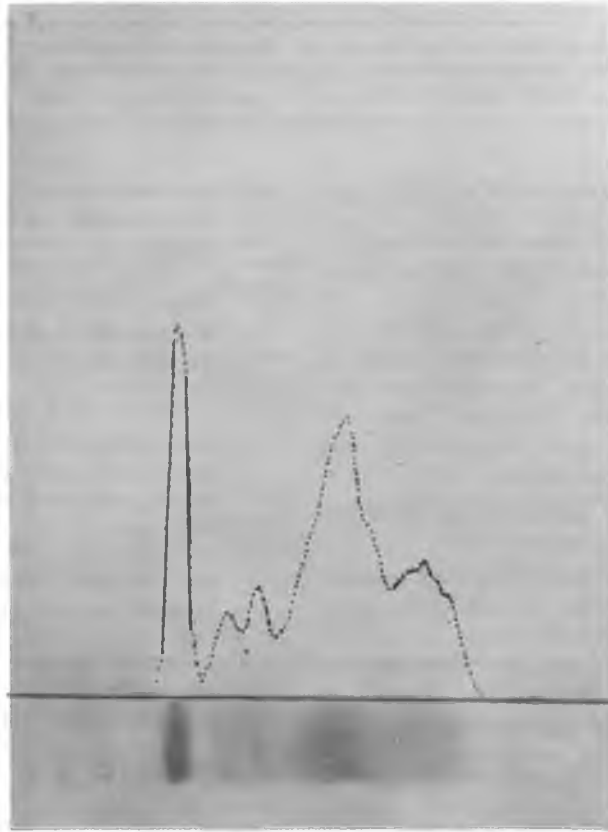


Foto n.º 2 — Perfil eletroforético do soro de animal com sarna demodécica generalizada. Observa-se o aumento da fração β e γ globulinas (animal n.º 19).

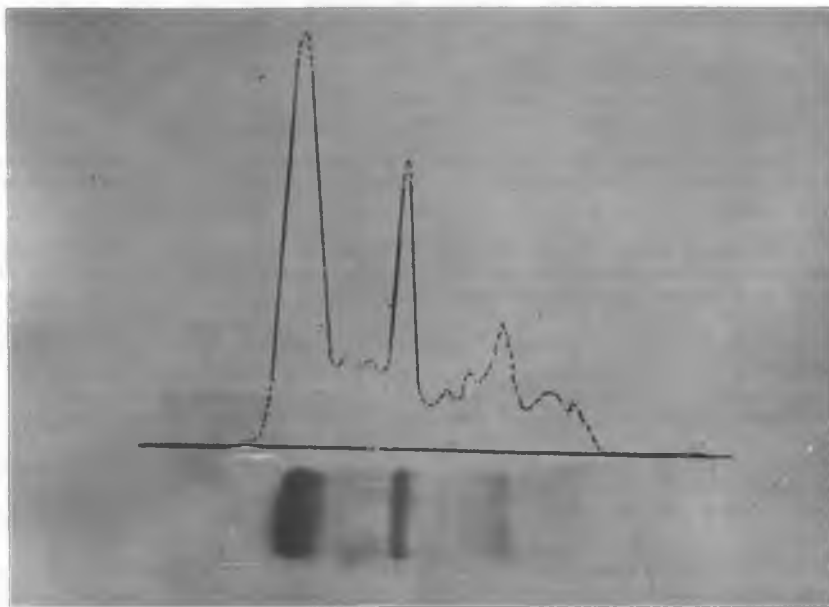


Foto n.º 3 — Perfil eletroforético de animal com sarna demodécica generalizada com infecção secundária. Observa-se o aumento da α_2 globulina (animal n.º 20).

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos com o material e a metodologia empregados nos permitem concluir:

1. O número de proteínas séricas na espécie canina, separadas por eletroforese em "Cellogel", varia em torno de 8 a 10, evidenciando uma variação individual;
2. a fração β globulina é a que apresenta maior polimorfismo;
3. nos animais normais, quando consideramos a soma das frações; agrupando-as em albumina, α_1 , α_2 , β e γ globulinas, não há diferenças com os valores obtidos pela eletroforese em papel por outros autores;
4. nos cães com sarna demodéica, há as seguintes alterações no quadro protéico:
 - 4.1. nos processos generalizados há um aumento de β globulina e de γ globulina, isoladamente ou em conjunto;
 - 4.2. com o aumento de β globulina, torna-se ainda mais difícil a separação das subfrações, formando-se um bloco único;
 - 4.3. nos processos localizados não há alteração da composição da proteína sérica;
 - 4.4. em nenhum caso há alteração da proteína sérica total.

RFMV-A/7

HAGIWARA, M. K. & GERMANO, P. M. L. — *Electrophoresis of serum protein with cellulose acetate. Studies on normal dogs and with demodetic mange. Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 11:69-81, 1974.

SUMMARY: *It was realized a comparative research about serum proteins from normal dogs and from dogs with demodetic mange by the method of eletrophoretic fractionation in "Cellogel".*

There is an individual difference in the number of protein fractions and for the percentage calculation it was considered 5 (five) fractions, that are albumin α_1 , α_2 , β and γ globulin.

The α_2 , β and γ fractions were obtained by the sum of their components. The animals with demodetic mange presented an increasing of α_2 , β or γ on dependence of the skin lesion degree.

UNITERMS: *Electrophoresis*; Serum proteins*; Dogs*; Demodetic mange*.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAKER, K. P. — The histopathology and pathogenesis of demodecosis of the dog. *J. comp. Path.*, 79:321-27, 1969.
2. BAKER, K. P. — Observations on the epidemiology, diagnosis and treatment of demodecosis in dog. *Vet. Rec.*, 86:90-91, 1970.

HAGIWARA, M. K. & GERMANO, P. M. L. — Eletroforese em acetato de celulose das proteínas séricas de cães normais e de cães com sarna demodéica. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 11:69-81, 1974.

3. BIZZUTTI, O. & FERRI, S. — Eletroforegrama das proteínas séricas em cães normais e em cães anestesiados com pentobarbital sódico. *Rev. Fac. Med. vet. (S. Paulo)*, 7:329-36, 1965.
4. BOGUTH, W. — Papier electrophoratische seru muntersuchungen bei Haausaugetiieren. *Zbl. Vet.-Med.*, 4:311-29, 1954.
5. BUERE, R. O. & MULL, J. D. — Electrophoresis of serum protein with cellulose acetate. A method for quantitation. *Amer. J. clin. Path.*, 42:547-51, 1964.
6. CHARRY, R. & DUFOUR, R. — Studies on the protein constituents of the serum of domestic animals. I. Electrophoretic analysis of dog serum. *Rev. serv. Biol. Vet., Armées*, 15: 139-53, 1965.
7. COPEMAN, A. & GAFFAR, I. — Apud: BAKER, K. P. — The histopatology and pathogenesis of demodocosis of the dog. *J. comp. Path.*, 79:321-27, 1969.
8. CORTICELLI, B. — Comportamento della proteina seriche nei canni com versamento abdominale studiato mediante eletroforese su carti. *Atti Soc. ital. Sci. vet.*, 8:713-20, 1954.
9. DARRASPEN, E. et al. — L'eletrophorése des proteíns seriques dens les afecções hépato renales du chien. *Rev. Méd. vet.*, N.S. 24:817-33, 1961.
10. GACEK, F. — Contribuição ao estudo das proteínas séricas sanguíneas de *Equus asinus*, Linnaeus, 1758. (*Perissodactyla equidae*) pela eletroforese — durante a gestação e no pós-parto. São Paulo, 1972. [Tese — Instituto de Ciências Biomédicas, USP].
11. GENTILE, G. et al. — Paper electrophoresis in canine practice. *Vet. ital.*, 11:482-511, 1960.
12. GOTZ, H. & BALOGH, R. — Serum proteins of animals agar electrophoretic studies on the goat, dog, cat, duck and hen. *Zbl. Vet.-Med.*, 14: 385-94, 1957.
13. GROULADE, P. & GROULADE, J. — L'eletrophorése dans les néphrites chez le chien. *Bull. Acad. vet. Fr.*, 40(10):479-87, 1967.
14. KANEKO, J. J. & CARROLL, E. J. — The clinical significance of serum protein fractionation by electrophoresis: interpretations in Clinical Veterinary Medicine. *Calif. Vet.*, 21: 22-28, 1967.
15. OKOSHI, S. et al. — Annalysis of normal dog serum by immuno-eletrophoresis. *Jap. J. vet. Sci.*, 29:133-244, 1967.
16. PARTHASARATY, K. R. & CHAN D:RASC Kran, K. P. — Electrophoretic studies of serum proteins in health and disease. The pattern in normal dogs and 'n dogs with eczema. *Indian vet.*, 41:26-32, 1964.
17. TOMODA, J. — Paper electrophoretic studies on serum proteins. I. Healthy animal. *Jap. J. vet. Sci.*, 24: 337-48, 1962.
18. TOMODA, J. — Paper electrophoretic studies on serum proteins. II. Normal values and physiological variations of serum proteins in dogs. *Jap. J. vet. Sci.*, 25:5-19, 1963.
19. VERSTRAETE, A. et al. — Serum protein abnormalities in dogs with skin diseases. *Vlaams diergeneesk. T.*, 35:93-105, 1966.
20. WALTON, R. apud BAKER, K. P. — The histopathology and pathogenesis of demodocosis of the dog. *J. comp. Path.*, 79:321-27, 1969.

Recebido para publicação em 1-8-74
Aprovado para publicação em 29-8-74