

DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA

Diretor: Prof. Dr. J. F. Tabarelli Neto

DEPARTAMENTO DE HISTOLOGIA

Diretor: Prof. Dr. A. G. Ferri

ELETROFEROGRAMA DAS PROTEÍNAS SÉRICAS EM CÃES
NORMAIS E ANESTESIADOS PELO
PENTOBARBITAL SÓDICO *

(ELECTROFEROGRAM OF SERIC PROTEINS IN NORMAL DOGS AND
ANESTHETIZED BY SODIUM PENTOBARBITAL)

O. BIZUTTI **
Instrutor

S. FERRI ***
Instrutor

(Colaboração técnica de Tiyo Tutya)

Alterações na taxa protéica sanguínea pela ação de diferentes anestésicos têm sido pesquisadas por vários autores.

GRASSI ¹⁴, estudando o reflexo sôbre o quadro eletroforético das proteínas séricas após narcose barbitúrica, concluiu haver diminuição das proteínas totais com queda dos valores da albumina e da beta-globulina, com elevação sensível das frações globulínicas alfa₁ e alfa₂.

ZETTEL e KNEDEL ²¹ verificaram alterações evidentes no teor das proteínas totais, bem como das diversas frações ao empregar anestésias, complementadas com curare.

Os dados de CONCOREGGI e FRANCESCONI ⁹ confirmaram os achados dos autores anteriormente citados, pois, em pacientes humanos, demonstraram haver hipoproteinemia, caracterizada por hipoalbuminemia, acompanhada, entretanto, da hipergamaglobulinemia, quando fizeram a anestesia geral pelo "Farmototal", protóxido de carbono e cloridrato de succinilcolina associadamente.

* Trabalho realizado no "Centro de Pesquisas Imunoquímicas" do Departamento de Microbiologia e Imunologia da F.M.U.S.P., em parte por subvencão da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

** Departamento de Fisiologia da Fac. Med. Vet. da U.S.P.

*** Departamento de Histologia e Embriologia da Fac. Med. Vet. da U.S.P.

Os mesmos fatos foram assinalados por BAGNOLLI e BORRI³, GAZZERA e col.¹¹.

JOLTRAIN e MORAT¹⁰, empregando método refratométrico, encontraram diminuição do teor protéico sanguíneo, durante e após anestesia, em pacientes submetidos à narcose por "Evipan sódico".

Às mesmas conclusões chegaram GILARDINI e SCORTA¹².

BRENA⁴ afirmou que, durante anestesia geral pela via endovenosa, ocorria uma diminuição do equilíbrio protéico, que se refletia principalmente sobre a globulina e fibrinogênio.

Os choques traumáticos e cirúrgicos alterariam o quadro protéico sanguíneo, conforme verificaram alguns autores, embora a maioria deles não se tenha preocupado com o papel que possa ter exercido o anestésico utilizado.

ASPIGTTIS e col.¹ estudaram as alterações produzidas pelo pentobarbital sódico sobre a temperatura, a pressão arterial e a respiração de cães.

O nosso experimento teve por finalidade pesquisar eventuais alterações no eletroferograma de cães normais pela ação do pentobarbital sódico, introduzido intravenosamente.

MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados nove cães, machos e fêmeas, sem raça definida, com diferentes idades.

O sangue foi coletado da artéria femural, antes de serem os animais anestesiados e vinte minutos após a administração intravenosa de pentobarbital sódico em solução aquosa a 3%, na dose de 1 ml/kg de peso.

A migração eletroforética foi executada sobre papel de filtro Whatmann n° 1, em aparelho Elphor, utilizando-se tampão veronal-acetato de pH 8,6 e força iônica 0,08 seguindo, em linhas gerais, o método de GRASSMAN e HANNING¹⁵.

O soro, em volume variável de 0,004 a 0,008 ml de acordo com o teor de proteínas totais, foi aplicado a 11 cm de uma das extremidades da tira de papel que media 31,5 cm de comprimento e 4,0 cm de largura. Foi empregada corrente cuja intensidade correspondia a 2mA por tira, deixando-se atuar por 10 horas. A seguir, foram as tiras levadas à estufa a 70-80° C, até secagem.

A revelação foi realizada deixando-se atuar por 10 minutos a seguinte solução: amido Schwartz 5 g, ácido acético glacial 50 ml e álcool metílico 450 ml. Após a revelação foi feita a diferenciação por uma solução de ácido acético glacial (10 partes), fenol a 90%

(4 partes) e água destilada (86 partes), após o que se procedia novamente à secagem das tiras nas mesmas condições anteriores.

A diafanização foi realizada com vaselina líquida (Nujol) e a leitura fotométrica em aparelho Zeiss.

Obtidas as curvas, foram as mesmas submetidas à leitura planimétrica para estabelecimento das áreas e das percentagens de área de cada fração.

Empregou-se o método de GORNALL e col.¹³, para determinação das proteínas totais, sendo as leituras feitas em espectrofotômetro Coleman Jr., comprimento de onda 540 m μ .

RESULTADOS

Os dados obtidos estão resumidos nas tabelas I e II. A tabela III mostra os resultados da análise estatística.

Considerando que o maior interesse reside nas mudanças relativas das diversas frações, foram usadas percentagens relativas às proteínas totais para análise estatística.

Foi empregado o teste não paramétrico de WILCOXON²³ pelo fato de não se poder admitir normalidade nas distribuições dessas freqüências relativas.

Como foram utilizadas as diferenças das percentagens observadas nos mesmos animais, não existe independência entre as duas medidas (antes e depois da anestesia), razão pela qual empregou-se o teste de WILCOXON²⁴ para amostras correlatas. O nível de rejeição adotado foi de 5%.

DISCUSSÃO

Tem sido amplamente reportado na literatura médica que diferentes anestésicos alteram o teor de proteínas plasmáticas.

A análise dos nossos resultados vem, em parte, confirmar os assinalados na literatura consultada.

À semelhança das verificações feitas na espécie humana por GRASSI¹⁴, CONCOREGGI e FRANCESCONI⁹, BAGNOLLI e BORRI⁵ entre outros, a ação anestésica provoca em cães uma baixa do teor protéico sanguíneo total, rapidamente após a instalação do estado anestésico. Entretanto, a maioria dos trabalhos analisados assinala alterações das diferentes frações. É interessante notar que os testes por nós realizados não mostram diferenças significantes em relação a nenhum dos componentes protéicos, de tal sorte que nenhuma das frações, isoladamente, pode ser responsabilizada pela significân-

TABELA I — Resumo dos dados obtidos de 9 cães normais, antes da anestesia com Pentobarbital sódico, em função das provas feitas e das medidas de posição e variabilidade calculadas

Medidas	Proteínas totais g	ALBUMINA		GLOBULINAS									
		% Re- lativa	g%	Alfa 0		Alfa 1		Alfa 2		Beta		Gama	
				% Re- lativa	g%								
Amplitude de variação	5,0	15,9	0,91	2,2	0,13	2,9	0,17	7,1	0,40	21,3	1,23	12,3	0,77
	a 6,9	a 36,4	a 2,29	a 8,9	a 0,56	a 9,3	a 0,58	a 14,4	a 0,96	a 36,0	a 2,48	a 36,8	a 2,10
Média	5,97	28,42	1,70	3,59	0,22	4,78	0,28	11,22	0,67	29,09	1,75	22,87	1,35
Mediana	5,7	29,9	1,83	3,1	0,16	3,9	0,25	11,9	0,72	29,1	1,66	22,4	1,28
Desvio padrão	0,62	7,48	0,5	1,96	0,12	1,97	0,12	2,66	0,16	5,13	0,39	6,86	0,49
Coef. var. Pearson	0,10	0,26	0,29	0,55	0,55	0,41	0,43	0,24	0,24	0,18	0,22	0,30	0,36

* g% significa: gramas por 100 ml de soro

TABELA II — Resumo dos dados obtidos de 9 cães, após anes tesia com Pentobarbital sódico, em função das provas feitas e das medidas de posição e variabilidade calculadas

Medidas	Proteí- nas totais g	ALBUMINA		GLOBULINAS									
		% Re- lativa	g %	Alfa 0		Alfa 1		Alfa 2		Beta		Gama	
				% Re- lativa	g %								
Amplitude de variação	4,1	14,9	0,74	1,9	0,10	2,7	0,15	6,2	0,36	20,2	0,83	11,6	0,68
	6,1	46,8	2,76	3,7	0,22	6,6	0,34	17,0	0,85	38,8	2,37	27,6	1,51
Média	5,34	29,85	1,60	2,75	0,14	4,05	0,21	11,8	0,59	30,76	1,67	21,38	1,12
Desvio padrão	0,66	9,15	0,57	0,66	0,06	1,26	0,07	2,89	0,14	5,68	0,42	5,26	0,25
Mediana	5,20	31,3	1,61	2,5	0,13	3,7	0,20	11,3	0,55	30,7	1,59	21,5	1,11
Coef. var. Pearson	0,12	0,31	0,36	0,24	0,43	0,31	0,33	0,26	0,24	0,18	0,25	0,25	0,22

* g% significa: gramas por 100 ml de soro

TABELA III — Análise estatística do eletroferograma antes e após anestesia com Pentobarbital sódico

Fração	Anestesia		Valor crítico 5%	Conclusão
	Antes T +	Após T -		
Albumina	30	15	6	Não significativa
Alfa 0	12	24	4	" "
Alfa 1	5,5	30,5	4	" "
Alfa 2	15	21	4	" "
Beta	36	9	6	" "
Gama	14,5	30,5	6	" "
Proteínas totais	45	0	6	Significativa

cia encontrada na diferença do teor de proteínas totais, antes e após a anestesia.

Ocorreu-nos, apenas, como justificativa da discrepância, a diferença de espécie, uma vez que nem todos os autores consultados recorreram à análise estatística de seus dados.

Admitem alguns pesquisadores que a alteração se deva à ação dos anestésicos, inibindo ou modificando a capacidade proteinogênica do fígado. Muitas discussões são levantadas em torno desta hipótese, principalmente no que diz respeito à ação dos barbitúricos.

Mais atraente se mostra a teoria defendida por GILARDINI e SCORTA¹², PERRONE e col.²¹ e outros, de que as modificações protéicas plasmáticas ocorrem por conta do complexo fenômeno reativo que tem por finalidade adaptar o organismo à ação "Stressante" da anestesia.

Esta explicação concorda, portanto, com a afirmação de CONCOREGGI e FRANCESCONI⁹ de que a importância maior se deve ao estado de anestesia, não importando o anestésico empregado.

Assim é que as alterações protéicas, devidas à ação dos anestésicos, à semelhança do que ocorre por ações diversas com o Raio X, choque traumático, etc., estariam estreitamente ligadas ao mecanismo hipotálamo-hipófise-adrenal.

S U M M A R Y

Studying the alterations produced by sodium pentobarbital on paper electrophoresis of dogs submitted general anesthesia, the au-

thors have found hipoproteinemia after 20 minutes from the beginning of the anesthetic injection.

The statistical analysis of the results, by Wilcoxon test for correlated samples, in a level of significance of 5%, showed the results not significant for the various protein ratios, although they showed significance for total protein.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem à Dra. Elza S. Berquó pelo valioso auxílio na análise estatística e ao Dr. Rubens G. Ferri pela orientação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 — ASPIOTIS, N. — PAPAPOPOULOS, O — PAPAPANOYOTON, P. — ZERZELIDES, T. — ELEZOGLON, B. — 1959 — General anesthesia in dogs by pentobarbital sodium. *Cornell Vet.*, 49: 220-233.
- 2 — BAGEDDA, G. — 1959 — Indagini elettroforetiche sul comportamento pre e post-operatorio delle proteine sieriche. V. Le glicoproteine sieriche nella laparoisterotomia, con decorso post-operatorio normale e complicato, nell'ovino. *Veterinaria*, Milano, 8 (2): 57-60.
- 3 — BAGEDDA, G. — MAGUIEDDA, A. — 1959 — Indagini elettroforetiche sul comportamento pre e post-operatorio delle proteine sieriche. IV. Il quadro sieroproteico di ovino nella laparoisterotomia con decorso post-operatorio normale e complicato. *Veterinaria*, Milano, 8 (1): 11-13.
- 4 — BAGEDDA, G. — LOVERCI, L. — USAI, A. — 1961 — Indagini elettroforetiche sul comportamento pre e post-operatorio delle proteine sieriche. IX. I quadri olo e glico-proteici negli interventi per conchectomia, per stenosi circonfrenziale totale dell'aorta, per neoplasie, e per ovarioisterectomia nella morte e ritenzione fetale e nella piometra, nel cane. *Veterinaria*, Milano, 10 (5): 259-266.
- 5 — BAGNOLLI — BORRI — Cit Concoreggi — Francesconi (9).
- 6 — BRENA, S. — Cit Concoreggi — Francesconi (9).
- 7 — CARLON, C. — MONDINI, P. — ZAGNONI, G. — Cit Concoreggi — Francesconi (9).
- 8 — CIOCCATTO — RICHARD — APPEL — Cit Concoreggi — Francesconi, F. (9).
- 9 — CONCOREGGI, E. — FRANCESCONI, F. — 1958 — Comportamento delle proteine plasmatiche totale e del loro frazionamento elettroforetico durante anestesia generale. *Ateneo parmense*, 29(5):801-812.
- 10 — CUPAX, P. — BERTINI, G. — 1948 — Cit Concoreggi — Francesconi (9).
- 11 — GAZZERRA, G. — PASSERA, G. — COGNASSO, P. A. — Cit. Concoreggi — Francesconi (9).

- 12 — GILARDINI, P. L. — SCORTA, A. — Cit Concoreggi — Francesconi (9).
- 13 — GORNALL, A. G. — BARDAWILL, C. J. — DAVID, M. M. — 1949 — Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. biol. Chem.*, 177: 751-766.
- 14 — GRASSI, G. — 1955 — Cit Concoreggi — Francesconi (9).
- 15 — GRASSMAN, W. — HANNING, K. — Cit Cramer, F. — 1954 — Paper chromatography. New York, McMillan Company.
- 16 — JOLTRAIN — MORAT — Cit Concoreggi — Francesconi (9).
- 17 — MALCHIODI, C. — ZINICOLA, N. — Cit Concoreggi — Francesconi (9).
- 18 — MARCONI — MANENTI — Cit Concoreggi — Francesconi (9).
- 19 — NAVA, E. — AMANTE, S. — 1953 — Cit Concoreggi — Francesconi (9).
- 20 — PALOMBA, R. — RIMINI, R. — 1954 — Cit Concoreggi — Francesconi (9).
- 21 — PERRONE — VACCARO, M. — PURPURA, F. — Cit Concoreggi — Francesconi (9).
- 22 — RICHARDS — APPEL — Cit Concoreggi — Francesconi (9).
- 23 — SIEGEL, S. — 1956 — Nonparametric statistics for the behavioral sciences. New York, McGraw-Hill Book Co., Inc.
- 24 — ZETTEL, H. — KNEDEL, M. — 1952 — Die Veränderungen der Plasmaeiweisskörper während operativer Eingriffe. *Der Chirurg.*, 23: 460.