UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU

MAYARA BRINGEL DOS SANTOS

Caracterização do perfil proteômico salivar de cães

BAURU
2017

MAYARA BRINGEL DOS SANTOS

Caracterização do perfil proteômico salivar de cães

Dissertação apresentada a Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências no Programa de Ciências Odontológicas Aplicadas, na área de concentração Odontopediatria.

Orientadora: Profª. Dra. Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado

Co-orientador: Prof. Dr. Walter Luiz Siqueira

BAURU
2017

Santos, Mayara Bringel dos
Caracterização do perfil proteômico salivar de cães /
Sa59c Mayara Bringel dos Santos – Bauru, 2017.
97 p. : il. ; 31cm.

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia
de Bauru. Universidade de São Paulo

Orientadora: Profa. Dra. Maria Aparecida de Andrade
Moreira Machado

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processos fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura:

Comitê de Ética da FOB-USP

Protocolo nº: 002/2016

Data: 15/03/2016

Folha de aprovação

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, que me permitiu e capacitou a realizá-lo. Acredito em Sua palavra que diz: “Tudo tem o seu tempo determinado, e há tempo para todo o propósito debaixo do céu.” (Eclesiastes 3:1).

Dedico também aos meus pais, Antonio Carlos e Margarete, meus maiores exemplos de vitória e dedicação. Sempre me guiaram e orientaram a seguir o melhor caminho na vida. Obrigada por todo apoio, amor, incentivo e compreensão que sempre recebi de vocês.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado, pela confiança e oportunidade dadas a mim de crescimento intelectual e científico. Obrigada por toda orientação, ensinamentos e conhecimento acadêmico transmitido. Uma grande honra poder trabalhar ao lado de uma pessoa tão disposta e visionária. Agradeço por acreditar em meu trabalho!

Aos meus pais, Antonio Carlos e Margarete, pelo amor e esforços incondicionais. Por sempre terem investido no meu futuro, possibilitado e apoiado minhas vitórias. Sem isso, não chegaria onde estou. Obrigada por tudo, vocês são minha base!

À minha irmã Talita e ao meu cunhado Erli Jr., pelos conselhos, incentivos, apoio e por acreditarem em mim. Mesmo distantes fisicamente estão sempre presentes comigo. Vocês foram muito importantes para que eu chegasse até aqui!

À minha vó Dona Zulmira, que por sempre se orgulhar de mim, me fez sentir capaz de ir além. Obrigada pelo carinho e incentivo!

Ao meu namorado, Guilherme, pela paciência infinita, por toda ajuda, apoio, amor, carinho e conforto em todas as horas. Seu incentivo foi essencial para todo meu esforço e desempenho. Agradeço por você além de ser meu namorado, ser meu amigo!

À Natália Mello, obrigada pela amizade e por me ajudar em todos os momentos, sempre me ouvindo e aconselhando nas alegrias e angústias. Obrigada amiga!

À Paula Jorge, não tenho palavras para agradecer toda a sua dedicação em me ajudar! Obrigada pelos experimentos, por todos os conhecimentos compartilhados e adquiridos juntas, pela disponibilidade sempre em ajudar a mim e ao próximo. Uma pessoa que admiro e agradeço por ter se tornado uma amiga. Devo muito deste trabalho a você!

À Bella Luna Colombini-Ishikiriama, obrigada por toda ajuda que me ofereceu desde o início. Admiro sua garra e determinação na vida e na pesquisa, uma mãe e mulher excepcional e inspiradora;

Aos meus amigos do Departamento de Odontopediatria e agora da vida, Tássia, Daniela, Estefania, Eloá, Kaliza, Alexandre, Mariel, Francine, Luciana, Christiane e Juliana por todos os momentos de descontração, pelas experiências e trocas de conhecimento nesses dois anos. Vocês ajudaram a tornar o desenvolvimento desse mais prazeroso;

A todos do Laboratório Centro Integrado de Pesquisa (CIP), sempre dispostos a orientar e ajudar; em especial, ao técnico Evandro Dionísio, por toda a ajuda em experimentos, pela troca de conhecimentos e pelos momentos de descontração;

Aos demais professores do Departamento de Odontopediatria, Profa. Dra. Thais Marchini de Oliveira Valarelli, Profa. Dra. Daniela Rios e Prof. Dr. Thiago Cruvinel da Silva, por terem me acolhido em uma área desconhecida para mim e por todo ensinamento transmitido nesses últimos dois anos;

Ao Prof. Dr. Walter Luiz Siqueira do Department of Biochemistry and Dentistry, Western University – London, Ontario, Canadá, por toda ajuda e colaboração e por ter aberto seu laboratório para que pudéssemos realizar os experimentos. Agradeço imensamente!

À Cindy Xiao técnica do Department of Biochemistry and Dentistry, Western University – London, Ontario, Canada, pela ajuda nos experimentos em geral, por todas as discussões e troca de conhecimentos;

Ao Veterinário Tiago dos Santos, por toda ajuda na realização da coleta, pela disponibilidade e colaboração. Obrigada!

Agradeço todos os proprietários dos cães participantes desta pesquisa. Sem vocês nada disso seria possível. Minha eterna gratidão!

Agradeço ainda ao CNPq por ter me concedido a bolsa de estudos e com isso viabilizado minha dedicação total ao Mestrado;

À Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo por toda infraestrutura, recursos, apoio e oportunidades oferecidas para meu aprendizado;

Por fim, agradeço à banca examinadora, por terem aceitado esse convite, pelas críticas e conselhos.

“Se você conta com alguém que tem menos qualidades que você, isso levará à sua degeneração. Se você conta com alguém com qualidades iguais às suas, você permanece onde está. Somente quando conta com alguém cujas qualidades são superiores às suas é que você atinge uma condição sublime”.

Tenzin Gyatso - Dalai Lama

RESUMO

A doença periodontal é a doença bucal mais comum que ocorre em cães. Apesar da etiologia multifatorial, é considerado como fator determinante para a sua ocorrência, o resultado de uma resposta imuno-inflamatória induzida pela presença do biofilme dentário bacteriano que se acumula na região cervical dos dentes dos cães, tal qual ocorre em humanos. Este biofilme dentário pode também ser encontrado em sua forma calcificada, o cálculo dentário. A precipitação do cálcio no biofilme dentário é facilitada pelo pH alcalino da saliva dos cães. Além de componentes envolvidos na formação do cálculo dentário, a saliva é um fluido com uma mistura complexa de constituintes orgânicos e inorgânicos. Os componentes orgânicos são predominantemente proteínas salivares. Assim, o conhecimento da composição proteica da saliva é extremamente importante para identificar a presença de proteínas que possam estar envolvidas em mecanismos fisiológicos e patológicos da cavidade bucal de cães. O presente estudo teve por objetivo caracterizar o perfil proteômico salivar de cães. Para tal, foram coletadas amostras de saliva de 20 cães a partir de 3 meses de idade das raças Shih tzu e Lhasa apso por meio do kit Saliva Collection Device (Oasis Diagnostics® Corporation - Vancouver, WA, EUA). Previamente a coleta, foi realizado um exame clínico visual dos cães, 8 (40%) não apresentaram sinais de cálculo dentário e 12 (60%) apresentaram algum grau de cálculo dentário. O grupo total dos participantes apresentou em média 4,025 (DP = 2,84) anos, sendo 7 machos e 13 fêmeas. Após a coleta, as amostras foram submetidas à quantificação das proteínas (mBCA), em seguida, foi realizada a separação proteica utilizando a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) a 12%, seguido de análise por nLC-ESI-em espectrometria de massas (MS/MS). Os dados obtidos de MS/MS foram confrontados com o banco de dados de proteínas (UniProt). Foram identificadas 758 proteínas únicas, sendo 257 específicas de cães sem cálculo dentário e 338 específicas de cães com cálculo dentário. Dentre as 758 proteínas únicas, as mais abundantes encontradas foram: Albumina sérica, Hemoglobina subunidade β , Apolipoproteína A-I, Hemoglobina subunidade α , Proteína S100, Haptoglobina e diversas proteínas não caracterizadas. Essas proteínas foram relacionadas às funções biológicas como de transporte de substâncias, resposta imune, estrutural, regulador enzimático e metabolismo. Este estudo é pioneiro em analisar a saliva de cães saudáveis para uma identificação das proteínas salivares, assim como estabelecer a variação e funções fisiológicas.

Palavras-chave: Espectrometria de Massas. Saliva. Cães. Proteoma. Cálculos Dentários.

ABSTRACT

Characterization of proteomic profile of dogs' saliva

Periodontal disease is the most common oral disease that occurs in dogs. In spite of the multifactorial etiology, the result of an immunoinflammatory response induced by the presence of the dental biofilm that accumulates in the cervical region of the teeth of the dogs, as it occurs in humans, is considered a determinant factor for its occurrence. This dental biofilm can also be found in its calcified form, the dental calculus. Calcium precipitation in the dental biofilm is facilitated by the alkaline salivary pH of dogs. In addition to components involved in dental calculus formation, saliva is a fluid with a complex mixture of organic and inorganic constituents. The organic components are predominantly salivary proteins. Thus, knowledge of the protein composition of saliva is extremely important to identify the presence of proteins that may be involved in physiological and pathological mechanisms of the oral cavity of dogs. The present study aimed to characterize the salivary proteomic profile of dogs. For this, saliva samples were collected from 20 dogs from 3 months of age of the Shih tzu and Lhasa apso breeds by means of the Saliva Collection Device (Oasis Diagnostics® Corporation - Vancouver, WA, EUA). Prior to the collection, a visual clinical examination was performed and 8 (40%) did not present any signs of dental calculus and 12 (60%) presented some degree of dental calculus. The total group of participants presented an average of 4.025 (SD = 2.84) years, being 7 males and 13 females. After collection, the samples were submitted to protein quantification (mBCA), then protein separation was performed using the 12% sodium dodecyl sulfate-containing polyacrylamide gel electrophoresis technique (SDS-PAGE), followed by analysis by nLC-ESI-MS/MS. Data obtained from MS/MS were compared with the protein database (UniProt). A total of 758 unique proteins were identified, of which 257 specific in dogs without dental calculus and 338 in dogs with dental calculus. Among the 758 single proteins, the most abundant were: serum albumin, hemoglobin subunit β , apolipoprotein A-I, hemoglobin subunit α , protein S100, haptoglobin and several non-characterized proteins. These proteins were related to biological functions such as transport of substances, immune response, structural, enzymatic regulator and metabolism. This study is pioneer in analyzing the saliva of healthy dogs for an identification of the salivary proteins, besides establishing the variation and physiological functions.

Keywords: Mass Spectrometry. Saliva. Dogs. Proteome. Dental Calculus.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURAS

Figura 1 -	Representação das glândulas salivares nos cães. Localização das glândulas parótida, mandibular, sublingual e zigomática.....	19
Figura 2 -	Exemplos de cromatogramas de base-pico de cada grupo analisado. A separação do peptídeo foi sucedida utilizando coluna de cromatografia líquida de fase inversa com nano fluxo, e gradiente de eluição variando de 0 a 100% de solvente B em 85 min.....	29
Figura 3 -	Diagrama de Venn mostrando a relação das proteínas encontradas em animais sem cálculo dentário (Sem CD) e animais com cálculo dentário (Com CD) e sua inter-relação.....	47
Figura 4 -	Representação SDS-PAGE de cães (macho e fêmea) comparados com humanos.....	65

- GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Porcentagem de proteínas únicas caracterizadas (18%) e proteínas não caracterizadas (82%).....	46
Gráfico 2 -	Porcentagem de proteínas específicas de cães sem cálculo dentário caracterizadas (14%) e proteínas não caracterizadas (86%).....	53
Gráfico 3 -	Porcentagem de proteínas específicas de cães com cálculo dentário caracterizadas (16%) e proteínas não caracterizadas (84%).....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Avaliação das condições dentárias dos cães.....	26
Tabela 2 -	Distribuição dos cães participantes por raça, gênero, idade, peso, tipo de alimentação e volume de saliva coletado.....	27
Tabela 3 -	Análise da concentração proteica nas amostras de cada cão (método mBCA).....	28
Tabela 4 -	Teste t de Student para comparação da concentração proteica entre os grupos com e sem cálculo dentário.....	28
Tabela 5 -	Proteínas únicas identificadas em todos os cães participantes.....	29
Tabela 6 -	Proteínas específicas identificadas em cães sem cálculo dentário.....	47
Tabela 7 -	Proteínas específicas identificadas em cães com cálculo dentário.....	53
Tabela 8 -	Funções das proteínas mais abundantes identificadas.....	62
Tabela 9 -	Funções das proteínas específicas mais abundantes identificadas em cães sem cálculo dentário.....	63
Tabela 10 -	Funções das proteínas específicas mais abundantes identificadas em cães com cálculo dentário.....	64

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 ARTIGO CIENTÍFICO.....	19
2.1 INTRODUÇÃO	19
2.2 OBJETIVO	22
2.3 MATERIAL E MÉTODOS	22
2.3.1 SELEÇÃO DA AMOSTRA	22
2.3.2 AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES DENTÁRIAS	22
2.3.3 COLETA E ARMAZENAMENTO DA SALIVA	22
2.3.4 PREPARO DAS AMOSTRAS	23
2.3.5 ANÁLISE PROTEÔMICA DA SALIVA POR ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA CONTENDO DODECIL SULFATO DE SÓDIO (SDS-PAGE)..	24
2.3.6 ANÁLISE PROTEÔMICA DA SALIVA POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA TANDEM ESPECTROMETRIA DE MASSAS	24
2.3.7 ANÁLISE DOS DADOS	25
2.4 RESULTADOS	25
2.4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS PARTICIPANTES DO ESTUDO E DAS AMOSTRAS UTILIZADAS	25
2.4.2 CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA TOTAL.....	28
2.4.3 IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO POR ESPECTROMETRIA DE MASSA DO CONTEÚDO PROTEICO DAS AMOSTRAS DE SALIVA	29
2.4.4 FUNÇÕES BIOLÓGICAS DAS PROTEÍNAS	61
2.4.5 VISUALIZAÇÃO EM GEL SDS-PAGE	64
2.5 DISCUSSÃO	65
2.6 CONCLUSÃO	71
2.7 REFERÊNCIAS.....	71
3 DISCUSSÃO	79
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	87
ANEXO A	95
ANEXO B	96

1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

A doença periodontal é a doença bucal mais comum que acomete os cães, sendo diagnosticada com maior frequência em cães adultos de raças pequenas e com uma prevalência de 80 a 85% (HARVEY; EMILY, 1993; EMILY; PENMAN, 1994; EMILY, 1996; GENGLER et al., 2005; HENNET; SERVET; VENET 2004; PINTO et al., 2008; FERNANDES et al., 2012). As alterações bucais causadas pelas doenças periodontais, em alguns casos, podem levar a inanição do animal devido a dificuldade de alimentação dos mesmos, a perda de dentes (COIGNOUL; CHEVILLE, 1984), a ocorrência de patologias associadas, como presença de processos infecciosos na região da maxila (GORREL, 2004) e até fraturas de ossos da face (LARSEN, 2010). Além disso, o maior risco é de que as bactérias orais possam migrar para a corrente sanguínea do animal e então se propagarem para outros órgãos e causarem graves infecções nos rins, no coração, no cérebro e na coluna vertebral (GOLDSTEIN; CITRON; FINEGOLD, 1980; GIOSO, 1994; DOMINGUES; ALESSI; SCHOKEN-ITURRINO, 1999; PAIVA et al., 2007).

Apesar da etiologia multifatorial, é visto como fator determinante para a doença periodontal o resultado de uma resposta imuno-inflamatória induzida pela presença do biofilme dentário bacteriano que se acumula na região cervical dos dentes, que pode também ser encontrado em sua forma calcificada, o cálculo dentário (HARVEY; SHOFER; LASTER 1996; CLELAND, 2001; PINTO et al., 2008). O cálculo dentário consiste em uma mistura de carbonato de cálcio e fosfato de cálcio e apresenta uma superfície rugosa que contribui para a ocorrência da doença periodontal (HARVEY, 1998), pois favorece a adesão de mais biofilme dentário bacteriano, além de fazer com que esteja em contato mais próximo aos tecidos moles (JEPSEN et al., 2011). A precipitação do cálcio é facilitada pelo pH alcalino da saliva dos cães (PINTO et al., 2008). Os cálculos dentários são comuns em cães a partir de 1 ano de idade, onde aparecem como massas granulares com coloração amarelo-acastanhadas, e localizam-se principalmente nas superfícies vestibulares dos molares superiores, próximo a saída dos ductos salivares (COIGNOUL; CHEVILLE, 1984).

Além de componentes envolvidos na formação do cálculo dentário, a saliva é um fluido com uma mistura complexa de constituintes orgânicos e inorgânicos. Os componentes orgânicos são predominantemente proteínas salivares (HELMERHORST; OPPENHEIM, 2007), as quais possuem propriedades químicas e físicas que podem servir para proteção das mucosas e dentes e também detectar evidências, por meio da análise proteômica, de doenças

sistêmicas, bem como proporcionar biomarcadores do estado de saúde e da evolução da doença (SCHIPPER; SILLETTI; VINGERHOEDS, 2007). Apresenta também um papel na manutenção da homeostase, facilita a deglutição dos alimentos e protege contra agentes patogênicos (DE SOUSA-PEREIRA et al., 2015), como no estudo de Hart e Powell (1990) no qual foi evidenciado que a saliva materna de cães age como bactericida contra microrganismos patógenos, como *Escherichia coli* (*E. coli*) e *Streptococcus canis* (*S. canis*), nos primeiros dias de vida do filhote, evitando a infecção que pode causar grave enterite com alta mortalidade em filhotes recém-nascidos (HART; POWELL, 1990). Já os principais componentes inorgânicos da saliva dos cães são íons de cálcio e carbonato que quando se encontram em um estado supersaturado, podem se precipitar na forma de carbonato de cálcio (CaCO_3) e serem encontrados no cálculo dentário em sua forma calcita, além disso, há também pequenas quantidades de fosfato podendo estar presente na forma de apatita ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3$) (LEGEROS; SHANNON, 1979).

Na última década, a disponibilidade e evolução do uso de análise proteômica permitiram uma melhor análise das proteínas dos fluídos corpóreos, incluindo sangue e saliva. Este recurso está disponível tanto para humanos (OPPENHEIM et al., 2007; XIAO et al., 2015), como para animais (DE SOUSA-PEREIRA et al., 2013, 2014, 2015). Recentemente, por meio da análise do proteoma, foi comparada a composição proteica da saliva de diferentes espécies de mamíferos a fim de analisar a característica de cada perfil proteômico (DE SOUSA-PEREIRA et al., 2015). Algumas proteínas envolvidas tanto na formação quanto na inibição da precipitação de minerais sobre a superfície dentária humana, como as cistatinas, estatina e as proteínas acídicas ricas em prolina (PRP's), já foram identificadas na composição proteica da saliva de algumas espécies de mamíferos, como macacos, ratos, camundongos e porcos (DE SOUSA-PEREIRA et al., 2013). A literatura ainda é escassa no que diz respeito à identificação da presença destas proteínas na saliva de cães. Estudos com esta abordagem poderão servir como base para o desenvolvimento de estratégias biológicas para o controle tanto do biofilme dentário bacteriano, quanto da formação do cálculo dentário.

Por isso, o estudo da composição da saliva dos cães pode proporcionar subsídios para uma maior compreensão do seu processo biofisiológico, e ainda revelar a presença de substâncias que permitam o desenvolvimento e a criação de novos materiais biológicos e produtos pela indústria animal com a finalidade de alterar a formação do cálculo e assim permitir que a cavidade bucal possa alcançar melhores condições de saúde em longo prazo, além de diminuir os gastos com os procedimentos frequentemente realizados em clínicas veterinárias para a remoção do cálculo dentário.

2 Artigo Científico

2 ARTIGO CIENTÍFICO

2.1 INTRODUÇÃO

A saliva é um fluido com uma mistura complexa de constituintes orgânicos e inorgânicos. Os componentes orgânicos são predominantemente proteínas salivares (HELMERHORST; OPPENHEIM, 2007). Seu proteoma é representado principalmente por glicoproteínas, enzimas, imunoglobulinas e vários peptídeos (SCHIPPER; SILLETTI; VINGERHOEDS, 2007). Já os principais componentes inorgânicos da saliva dos cães são íons de cálcio e carbonato que quando se encontram em um estado supersaturado, podem se precipitar na forma de carbonato de cálcio (CaCO_3) e serem encontrados no cálculo dentário em sua forma calcita, além disso, há ainda pequenas quantidades de fosfato podendo estar presente na forma de apatita ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3$) (LEGEROS; SHANNON, 1979). Ademais, a saliva total é composta também por fluido crevicular gengival, debris de alimentos e substâncias produzidas por microrganismos orais (HUMPHREY; WILLIAMSON, 2001).

A maior parte da saliva dos cães origina-se nas glândulas salivares maiores que possuem ductos secretores longos que escoem na cavidade oral (DYCE; SACK; WENSING, 2010). Essas glândulas são descritas como parótida, mandibular, sublingual e zigomática (Figura 1) (GIOSO; CARVALHO, 2005; WEIDNER; PROBST; KNEISSL, 2012). Os cães possuem ainda pequenas glândulas salivares localizadas nos lábios, bochechas, língua, palato mole, laringe e esôfago (GIOSO; CARVALHO, 2005).

Figura 1. Representação das glândulas salivares nos cães. Localização das glândulas parótida, mandibular, sublingual e zigomática. (goo.gl/2pPIAF modificado)

Em mamíferos, as principais funções da saliva são a lubrificação e proteção dos tecidos bucais, capacidade tampão, manutenção da integridade dos dentes, capacidade antimicrobiana (HUMPHREY; WILLIAMSON, 2001) e em algumas espécies apresenta um papel essencial na digestão enzimática, auxiliando na mastigação e deglutição (LAMY et al., 2009). Por outro lado, a saliva dos cães possui um pH alcalino variando entre 7,2 a 8,5 (LARMAS; SCHEININ, 1971; BORAH et al., 2014), facilitando a formação do cálculo dentário, através da calcificação do biofilme dentário bacteriano presente na região cervical dos dentes (HARVEY, 1998; CLELAND, 2001; PINTO et al., 2008).

O cálculo dentário é classificado em duas categorias de acordo com a localização, por exemplo, nos dentes superiores o cálculo supragengival está localizado na coroa do dente ou abaixo da margem gengival, já o cálculo subgengival se localiza acima da margem gengival, no sulco gengival ou em uma bolsa periodontal (ROBERTS-HARRY; CLEREHUGH, 2000). Sua formação é sempre precedida pelo desenvolvimento de uma camada de proteínas da saliva na superfície do esmalte dentário, chamada película adquirida do esmalte (PAE), que serve tanto para a proteção do esmalte dentário, reduzindo o atrito entre os dentes e a mucosa oral (LENDENMANN; GROGAN; OPPENHEIM, 2000), quanto para ser base para a formação e maturação do biofilme dentário bacteriano, que constitui a matriz orgânica para a sua possível calcificação (SIQUEIRA et al., 2012). As proteínas da PAE apresentam também um efeito retardante no processo de desmineralização, ou seja, contribui para evitar a perda mineral do esmalte durante os ataques ácidos (SIQUEIRA; CUSTODIO; MCDONALD, 2012).

Nos cães, os cálculos dentários são comuns a partir de 1 ano de idade, aparecem como massas granulares com coloração amarelo-acastanhadas, e localizam-se principalmente nas superfícies vestibulares dos molares superiores, próximo a saída dos ductos salivares (COIGNOUL; CHEVILLE, 1984; BORAH et al., 2014). Consistem em uma mistura de carbonato de cálcio e fosfato de cálcio e apresentam uma superfície rugosa que contribui para a ocorrência da doença periodontal (HARVEY, 1998), pois favorece a adesão de mais biofilme dentário bacteriano, além de fazer com que esteja em contato mais próximo aos tecidos moles (JEPSEN et al., 2011). Assim como nos humanos, nos cães existe uma associação entre a presença do cálculo com a incidência aumentada de doenças periodontais, sendo que em alguns casos essas alterações podem levar à inanição do animal pela dificuldade de alimentação dos mesmos (COIGNOUL; CHEVILLE, 1984; LORENZO et al., 2014; CAMARGO; NOVAIS; JÚNIOR, 2015). Além do mais, nos cães, o cálculo dentário é considerado um dos principais fatores envolvidos no desenvolvimento de halitose, doença

periodontal e consequentemente na perda de dentes. Estudos relataram que a prevalência da doença periodontal em cães adultos varia entre 80% a 85% (EMILY; PENMAN, 1994; EMILY, 1996, PINTO et al., 2008; FERNANDES et al., 2012). A remoção do cálculo demanda atuação especializada de um médico veterinário, e na maioria das vezes, a necessidade de submeter o animal à anestesia geral para realizá-la, o que resulta em risco de morte (dependendo da condição física e idade) e um gasto extra para o seu dono (DE MEIJER et al., 1991; HENNET; DELILLE; DAVOT, 1998; ALESSIO; KRIEGER, 2015).

Além de componentes envolvidos na formação do cálculo dentário, a saliva possui propriedades químicas e físicas que podem servir para detectar evidências, por meio da análise proteômica, de doenças sistêmicas ou de exposição a várias substâncias nocivas, bem como proporcionar biomarcadores do estado de saúde e doença (SCHIPPER; SILLETTI; VINGERHOEDS, 2007). A disponibilidade e evolução do uso de análise proteômica permitiram uma melhor análise das proteínas dos fluidos corpóreos, incluindo sangue e saliva. O uso da espectrometria de massas é um método indicado e bastante utilizado em estudos de identificação, caracterização e quantificação de proteínas (AEBERSOLD; GOODLETT, 2001). Este recurso está disponível tanto para humanos (OPPENHEIM et al., 2007; XIAO et al., 2015), como para animais (DE SOUSA-PEREIRA et al., 2013, 2014, 2015). Recentemente, por meio da análise do proteoma, foi comparada a composição proteica da saliva de diferentes espécies de mamíferos a fim de analisar a característica de cada perfil proteômico (DE SOUSA-PEREIRA et al., 2015). Algumas proteínas envolvidas tanto na formação quanto na inibição da precipitação de minerais sobre a superfície dentária humana, como as cistatinas, estaterina e proteínas ácidas ricas em prolina (PRP's), já foram identificadas na composição proteica da saliva de algumas espécies de mamíferos, como macacos, ratos, camundongos e porcos (DE SOUSA-PEREIRA et al., 2013). A literatura ainda é escassa no que diz respeito à identificação da presença destas proteínas na saliva de cães. Estudos com esta abordagem poderão servir como base para o desenvolvimento de estratégias biológicas para o controle tanto do biofilme dentário bacteriano, quanto da formação do cálculo dentário.

Visto isso, este estudo é pioneiro em analisar a saliva de cães saudáveis para uma identificação das proteínas salivares; bem como estabelecer a variação fisiológica dessas proteínas entre as proteínas encontradas em cães com e sem cálculo dentário. Desse modo, a informação gerada neste estudo servirá como base para uma série de estudos futuros que visam à identificação de biomarcadores na saliva de cães que possuem um poder de inibição ou aceleração da formação de cálculo dentário. Além disso, será importante para nortear (em

longo prazo) a criação de um produto que possa auxiliar na prevenção e/ou remoção de cálculo dentário em cães, bem como melhorar a condição bucal dos mesmos.

2.2 OBJETIVO

O presente estudo teve por objetivo caracterizar o perfil proteômico salivar de cães.

2.3 MATERIAL E MÉTODOS

2.3.1 SELEÇÃO DA AMOSTRA

A coleta das amostras foi realizada após a aprovação do trabalho pelo Comitê de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo (CEEPA FOB/USP) – Processo Nº 002/2016 (Anexo A) e após assinatura do Termo de Consentimento (Anexo B) pelo proprietário de cada cão.

Fizeram parte da amostra 20 cães (*Canis lupus familiaris*) a partir de 3 meses de idade das raças Shih tzu e Lhasa apso, de ambos os gêneros, com e sem sinais clínicos de presença de cálculo, vermifugados, com vacina antirrábica em dia, sem uso de antibioticoterapia sistêmica por pelo menos 6 meses antes da data da coleta e quando fêmeas, fora do período de cio.

2.3.2 AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES DENTÁRIAS

Previamente a coleta das amostras de saliva, foi realizado um exame clínico visual da cavidade bucal dos cães pelo Médico Veterinário Dr. Tiago dos Santos para avaliação das condições dentárias apresentadas, com presença ou ausência de cálculo dentário baseado nos critérios estabelecidos por Rosenberg et al. 1966.

2.3.3 COLETA E ARMAZENAMENTO DA SALIVA

Para execução do trabalho, amostras de saliva total foram coletadas com o auxílio de um kit coletor apropriado para tal finalidade (Saliva Collection Device - Oasis Diagnostics® Corporation - Vancouver, WA, USA). A parte absorvente foi passada por toda cavidade bucal do cão, mucosas, assoalho da língua por aproximadamente 5 a 10 minutos. Após a coleta, a parte do kit contendo a porção de material absorvente embebida com a saliva

foi submetida à compressão com o auxílio do tubo plástico coletor pertencente ao kit, que de acordo com o fabricante a saliva é totalmente retirada da parte absorvente para o microtubo acoplado ao coletor. Em seguida, os microtubos foram mantidos em uma caixa isotérmica com gelo para transporte e processamento em no máximo 1 hora após a coleta (YAMAMOTO et al., 2012).

As amostras foram centrifugadas a $1000\times g$ / 5 minutos, na temperatura de 4°C a fim de separá-la dos componentes bacterianos e restos de alimentos misturados à saliva com a formação do “pellet”. A saliva de cada amostra foi separada do “pellet” e fracionada em alíquotas de no máximo 1ml, e em seguida foram congeladas em ultra-freezer (Freezer vertical ColdLab modelo CL 120 -80V) até atingirem a temperatura de -80°C .

Para o posterior processamento em Siqueira Lab - Department of Biochemistry and Dentistry, Western University – London, Ontario, Canada, as amostras congeladas foram submetidas à liofilização.

2.3.4 PREPARO DAS AMOSTRAS

Após a liofilização, as amostras foram ressuspensas em água deionizada (Milli-Q), no mesmo volume original da saliva. Então o pH foi reestabelecido entre 8 e 8,5, com o auxílio de KOH (hidróxido de potássio) a 45% ou 11.7 M. Em seguida, para a formação do “pellet” a amostra foi centrifugada a $14000\times g$ por 20 minutos.

A quantificação de proteínas totais presentes foi feita por meio da técnica do micro ácido bicinonínico (mBCA - Thermo Fisher Pierce, Rockford, IL, USA) e armazenadas a -80°C (SIQUEIRA; OPPENHEIM, 2009; SIQUEIRA et al., 2010). Para cada amostra foi realizado alíquotas de $20\mu\text{g}$ de proteína. Em seguida, as amostras foram secas com o auxílio do evaporador rotacional (VacufugeTM, Eppendorf AG, Barkhausenweg, HH, DEU) por 2 horas.

Para a digestão com tripsina, foi adicionado $50\mu\text{L}$ da solução 1 (4M urea+10mM DTT (dithiothreitol) + 50mM NH_4HCO_3 com pH=7,8) e incubado por 1 hora a temperatura ambiente. Em seguida adicionou-se $150\mu\text{L}$ de solução 2 (50mM NH_4HCO_3 com pH=7,8) e o correspondente a 4% em peso de tripsina (Promega, Madison, WI, USA). As amostras ficaram em banho-maria durante 18 horas para completa digestão das proteínas. Após esta etapa, as amostras foram secas no SpeedVac. A purificação e dessalinização dos peptídeos resultantes da digestão e preparo das amostras para espectrometria de massas foram feitas através do ZipTip[®] (Millipore ZipTip - Pipette Tips - Billerica, MA, USA).

2.3.5 ANÁLISE PROTEÔMICA DA SALIVA POR ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA CONTENDO DODECIL SULFATO DE SÓDIO (SDS-PAGE)

Foi realizada ainda a separação proteica por meio da separação baseada na diferença de peso molecular, utilizando a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) a 12% (Siqueira et al. 2008). Para esse ensaio foram utilizadas 20µg de proteínas ressuspensas em 20µl de tampão de amostra de SDS [1M Tris-HCl pH6,8 ; 10% SDS; glicerol; 1% azul de bromofenol; 0,1M ditioneitol (DTT); 2% mercaptoetanol (BME)]. Em seguida essas ressuspensões foram fervidas por cinco minutos. Para controle foi utilizado 5µl do padrão Precision Plus Protein™ All Blue Standards (250-10 kD) (Bio-Rad Laboratories Ltd., Mississauga, ON, Canada). Os géis foram corados com azul brilhante Coomassie 0,2% em 40% de metanol, 10% de ácido acético e 50% de água, para o volume final de 1litro. A descoloração foi feita em 40% de metanol, 10% de ácido acético e 50% de água. Os resultados foram analisados em Image Lab™ software (Bio-Rad).

2.3.6 ANÁLISE PROTEÔMICA DA SALIVA POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA TANDEM ESPECTROMETRIA DE MASSAS

A separação dos peptídeos e análises espectrométricas foram realizadas nas amostras utilizando nano-HPLC Proxeon LTQ Velos (Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA), que permite cromatografia líquida in-line com a coluna capilar de 75µm X 100mm (Pico Tip™ EMITTER, New Objective, Woburn, MA) preenchida com resina C18 com poros de 5 µm de diâmetro e 200 Å (Michrom BioResources, Auburn, CA), acoplado ao espectrômetro de massas (LTQ-Velos, Thermo Scientific, San Jose, CA, EUA) usando ionização por electrospray em modo de busca, na faixa de valores m/z 390-2000 em tandem MS/MS.

Para isso 10µg de cada amostra já seca foram ressuspensas em 20µl (0,5µg/µl) de ácido fórmico a 1% então submetidas à nLC-ESI-MS/MS. O HPLC de fase reversa nanoflow foi desenvolvido com gradiente linear de 85 minutos variando de 0 a 100% de solvente B (ácido fórmico 0,1% em acetonitrila 97,5%), com fluxo de 200 nL/min e pressão máxima de 280 bar. A voltagem e temperatura do capilar de transferência de íons foram 1,8 kV e 250°C, respectivamente.

2.3.7 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados de MS/MS foram confrontados com o banco de dados de proteínas de mamíferos (UniProt e TrEMBL, Swiss Institute of Bioinformatics, Geneva, Switzerland, <http://ca.expasy.org/sprot>) usando o algoritmo SEQUEST no software Proteome Discoverer 1.3 (Thermo Scientific, San Jose, CA, USA). Os filtros utilizados no SEQUEST como critério aplicado aos espectros MS/MS foram: 1.5; 2.5; 3.1; 3.1; 4.5 para o Xcorr aplicado em adição ao filtro Percolator. Os resultados das buscas foram filtrados a uma taxa de falsas descobertas de 1% utilizando uma estratégia de pesquisa de banco de dados inversa (LEE et al., 2013; ZIMMERMAN et al., 2013).

Como descrito anteriormente por Lee et al. (2013), após a identificação do perfil proteômico, as proteínas mais abundantes tiveram suas funções biológicas verificadas através do número de acesso utilizando o site www.uniprot.org.

2.4 RESULTADOS

2.4.1 CARACTERIZAÇÃO DOS PARTICIPANTES DO ESTUDO E DAS AMOSTRAS UTILIZADAS

Primeiramente foi realizado um exame clínico visual da cavidade bucal dos cães pelo colaborador Médico Veterinário Dr. Tiago dos Santos para avaliação das condições dentárias apresentadas, quanto à presença ou ausência de cálculo dentário (Tabela 1).

Os critérios adotados para avaliar o cálculo dental foram: 0 para ausência de cálculo dentário; 1 para cálculo supragengival recobrindo não mais que um terço da superfície exposta do dente examinado; 2 para cálculo supragengival recobrindo mais de um terço e não mais que dois terços da superfície do dente, 3 para cálculo supragengival recobrindo mais de dois terços da superfície do dente, (ROSENBERG; REHFELD; EMMERING, 1966 modificado).

Tabela 1 – Avaliação das condições dentárias dos cães.

Cães	Grau de cálculo dentário
1	0
2	3
3	2
4	2
5	0
6	1
7	0
8	1
9	0
10	0
11	0
12	3
13	1
14	1
15	1
16	3
17	0
18	1
19	0
20	3

Dos 20 cães que fizeram parte do estudo, 8 (40%) não apresentaram sinais de cálculo dentário e 12 (60%) apresentaram algum grau de cálculo dentário (Tabela 1).

Quanto à distribuição destes cães de acordo com a raça, gênero, idade, peso, tipo de alimentação e volume de saliva coletado está exposta abaixo na tabela 2. O grupo total dos participantes apresentou em média 4,025 (DP = 2,84) anos, sendo 7 machos e 13 fêmeas. A média do volume da saliva coletado foi de 515 μ l (DP=178,52),

Tabela 2 – Distribuição dos cães participantes por raça, gênero, idade, peso, tipo de alimentação e volume de saliva coletado.

Raças	Shih tzu	Lhasa apso	Gênero	Idade	Peso	Alimentação	Volume saliva
Cão 1	X		Fêmea	6 anos	4kg	Mista	450ul
Cão 2		X	Fêmea	9 anos	N/A	Seca	400ul
Cão 3		X	Macho	5 anos	N/A	Seca	500ul
Cão 4		X	Macho	3 anos	N/A	Seca	500ul
Cão 5	X		Fêmea	5 meses	N/A	Seca	500ul
Cão 6	X		Fêmea	2 anos	N/A	Seca	400ul
Cão 7		X	Fêmea	6 anos	8kg	Seca	550ul
Cão 8		X	Fêmea	4 anos	8kg	Seca	550ul
Cão 9		X	Fêmea	1 ano	3kg	Seca	400ul
Cão 10		X	Fêmea	4 anos	11kg	Seca	800ul
Cão 11		X	Macho	3 meses	4kg	Seca	400ul
Cão 12		X	Macho	9 anos	10kg	Seca	550ul
Cão 13	X		Macho	2 anos	3kg	Seca	500ul
Cão 14	X		Fêmea	3 anos	4,5kg	Seca	500ul
Cão 15	X		Fêmea	7 anos	4kg	Seca	100ul
Cão 16	X		Macho	4 anos	6,7kg	Mista	400ul
Cão 17	X		Macho	8 meses	7kg	Seca	1000ul
Cão 18		X	Fêmea	7 anos	8kg	Mista	600ul
Cão 19	X		Fêmea	3 meses	2,4kg	Seca	700ul
Cão 20		X	Fêmea	7 anos	5kg	Comida	500ul

2.4.2 CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNA TOTAL

As concentrações de proteínas totais presentes feita pela técnica do mBCA em cada cão estudado, encontram-se em na tabela 3.

Tabela 3. Análise da concentração proteica nas amostras de cada cão (método mBCA).

Amostras de saliva	Proteína Total [] ug/ml
Cão 1	2453,49
Cão 2	742,24
Cão 3	520,76
Cão 4	441,77
Cão 5	616,30
Cão 6	546,82
Cão 7	485,16
Cão 8	968,05
Cão 9	1151,45
Cão 10	1212,73
Cão 11	3171,34
Cão 12	1972,65
Cão 13	2168,71
Cão 14	1155,82
Cão 15	1995,13
Cão 16	1820,04
Cão 17	1633,00
Cão 18	2302,20
Cão 19	1020,11
Cão 20	2360,05
Média (DP)	1436,89 (802,95)

Foi realizado o teste t de Student para comparação das concentrações de proteínas totais entre os grupos com e sem cálculo dentário. No entanto, não houve diferença estatisticamente significativa ($p=0,892$) entre os grupos, sendo que a média para o grupo sem cálculo dentário foi 1467,95 (DP= 922,50) e para o grupo com cálculo dentário foi 1416, 19 (DP= 755,59), como mostra a tabela 4.

Tabela 4. Teste t de Student para comparação da concentração proteica entre os grupos com e sem cálculo dentário.

Variáveis	Média (Desvio Padrão)	Valor de p
Cães sem cálculo dentário	1467,948 (922,507)	0,892
Cães com cálculo dentário	1416,188 (755,587)	

2.4.3 IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO POR ESPECTROMETRIA DE MASSA DO CONTEÚDO PROTEICO DAS AMOSTRAS DE SALIVA

Após a tripsinização, quantidades iguais de proteínas foram submetidas à nanoflow LC-ESI-MS/MS. O cromatograma base-pico da cromatografia de fase reversa monitorada pelo espectrômetro de massas representa a intensidade de todos os íons de peptídeos em uma única corrida. Para cada amostra foram realizadas 3 corridas (exceto as amostras 7, 9, 10, 11, 13, 17 e 18 que tiveram apenas 2 corridas devido as condições da saliva, e a amostra 8 teve somente 1 corrida). Os proteomas das diferentes amostras mostraram uma consistente eluição de proteínas/peptídeos no intervalo de tempo de 20 a 45 minutos de corrida (Figura 2). Os peptídeos encontrados foram identificados através de busca no banco de dados utilizando o algoritmo SEQUEST, seguindo os critérios descritos na Metodologia.

Figura 2. Exemplos de cromatogramas de base-pico de cada grupo analisado. A separação do peptídeo foi sucedida utilizando coluna de cromatografia líquida de fase inversa com nano fluxo, e gradiente de eluição variando de 0 a 100% de solvente B em 85 min.

No total, foram encontradas 1662 proteínas neste estudo, sendo que 758 (45,6%) são proteínas únicas e encontram-se listadas na tabela abaixo.

Tabela 5 – Proteínas únicas identificadas em todos os cães participantes.

Nº de acesso	Nome da proteína
F2Z4Q6	Serum albumin OS=Canis lupus familiaris GN=ALB PE=3 SV=1
ALBU	Serum albumin OS=Canis lupus familiaris GN=ALB PE=1 SV=3
HBB	Hemoglobin subunit beta OS=Canis lupus familiaris GN=HBB PE=1 SV=1
J9P732	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=3 SV=1
E2RCC8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
J9P430	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TF PE=3 SV=1
F1PQL8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ACTG1 PE=3 SV=2

C0LQL0	Protein S100 OS=Canis lupus familiaris GN=S100A8 PE=2 SV=1
APOA1	Apolipoprotein A-I OS=Canis lupus familiaris GN=APOA1 PE=1 SV=2
F1PSX2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
F1PBS8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LCN1 PE=4 SV=1
HBA	Hemoglobin subunit alpha OS=Canis lupus familiaris GN=HBA PE=1 SV=1
E2R0H6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PIP PE=4 SV=2
F1PGM1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=C3 PE=4 SV=2
F1PE28	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TKT PE=4 SV=2
F1PCH3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=3 SV=2
F1Q3K7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LOC481674 PE=3 SV=2
HPT	Haptoglobin OS=Canis lupus familiaris GN=HP PE=1 SV=2
F6USN4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LOC611455 PE=4 SV=1
F1PR54	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LTF PE=3 SV=1
F1P6A9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
TPIS	Triosephosphate isomerase OS=Canis lupus familiaris GN=TPI1 PE=1 SV=3
HV02	Ig heavy chain V region MOO OS=Canis lupus familiaris PE=1 SV=1
J9PAQ5	Protein S100 OS=Canis lupus familiaris GN=S100A12 PE=3 SV=1
F1PRV8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DMBT1 PE=4 SV=2
J9P4Y2	Protein S100 OS=Canis lupus familiaris GN=S100A2 PE=3 SV=1
F1PV45	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
J9P2K8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MUC7 PE=4 SV=1
J9P9J6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1PR78	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
E2RH46	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
Q29474	Kallikrein OS=Canis lupus familiaris PE=2 SV=1
F1PCG9	Carbonic anhydrase 6 OS=Canis lupus familiaris GN=CA6 PE=4 SV=2
J9NW38	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LOC611589 PE=4 SV=1
F1PHH5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MUC5B PE=4 SV=2
E2R083	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CDH7 PE=4 SV=2
E2R5U8	Transthyretin OS=Canis lupus familiaris GN=TTR PE=3 SV=1
F6Y6T8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PIGR PE=4 SV=1
E2R5W6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GC PE=3 SV=2
E2R5P5	Protein S100 OS=Canis lupus familiaris GN=S100A6 PE=3 SV=1
E2QWN7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LCP1 PE=4 SV=1
H9GWB1	Histone H2B OS=Canis lupus familiaris GN=LOC106558265 PE=3 SV=1
F1P931	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
F1Q1P4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MACF1 PE=4 SV=2
J9P0W8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DST PE=4 SV=1
F1PFD4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FSIP2 PE=4 SV=2
J9PAA1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=3 SV=1
F1PCK2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=A1BG PE=4 SV=2
F1PCJ4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=XIRP2 PE=4 SV=2
J9P0R6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MPO PE=4 SV=1
E2R413	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CAPG PE=4 SV=2
E2RAL0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ARHGDIB PE=4 SV=1
Q8MJD1	Neutrophil elastase OS=Canis lupus familiaris GN=ELANE PE=2 SV=1

F1PL93	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ARHGDIA PE=4 SV=2
E2RT65	Phosphoglycerate mutase OS=Canis lupus familiaris GN=PGAM4 PE=3 SV=2
E2R2C3	Glucose-6-phosphate isomerase OS=Canis lupus familiaris GN=GPI PE=3 SV=1
ALL2	Minor allergen Can f 2 OS=Canis lupus familiaris PE=1 SV=1
L7N0L3	Histone H4 OS=Canis lupus familiaris PE=3 SV=1
J9PB22	Histone H3 OS=Canis lupus familiaris GN=HIST1H3C PE=3 SV=1
E2RG26	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PPRC1 PE=4 SV=2
J9P893	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCR7 PE=3 SV=1
J9P1C1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KIF20B PE=3 SV=1
F1PNY2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
RPGF2	Rap guanine nucleotide exchange factor 2 OS=Canis lupus familiaris GN=RAPGEF2 PE=1 SV=2
F1Q2N0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PCLO PE=4 SV=2
J9NVC6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1PIL9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=IL1RAP PE=4 SV=2
F1PX49	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ADGRG4 PE=3 SV=1
E2RPP4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CDC42BPB PE=3 SV=2
J9NTU9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NHSL1 PE=4 SV=1
F6XEW2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RNPS1 PE=4 SV=1
E2R0X2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TMCO3 PE=4 SV=2
F6Y3P9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
E2QUK4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZNF827 PE=4 SV=2
F6X834	Histone H2A OS=Canis lupus familiaris GN=H2AFZ PE=3 SV=1
F1PSY8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SNX13 PE=4 SV=2
F1PBU5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SMG1 PE=3 SV=2
F1P6G1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SVIL PE=4 SV=2
F1Q2Z4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SRRM2 PE=4 SV=2
E2RL36	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCDC60 PE=4 SV=2
J9NXB8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SCAF1 PE=4 SV=1
F1PPZ1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LRP1B PE=4 SV=2
E2RKV1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=USP36 PE=3 SV=1
E2R4W4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ADCY9 PE=3 SV=2
F1PDY0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FNIP2 PE=4 SV=2
F1PY47	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=AJAP1 PE=4 SV=2
F6XXM1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAT1 PE=3 SV=1
E2RBR8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1PTK8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=EVA1C PE=4 SV=2
F1PVD0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ARHGAP11A PE=4 SV=2
CYTSA	Cytospin - A OS=Canis lupus familiaris GN=SPECC1L PE=2 SV=1
E2QWB0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CLIP1 PE=4 SV=2
E2R4W6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=WDR81 PE=4 SV=2
J9NYY3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1PLN1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KIAA2026 PE=4 SV=2
F1PZC6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HRG PE=4 SV=2
E2RDC2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HERC2 PE=4 SV=2
F1PIR4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PPFIA2 PE=4 SV=2
E2RM94	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NBEAL1 PE=4 SV=2

E2RHX5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FRMPD1 PE=4 SV=2
J9P7S0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=USP31 PE=3 SV=1
F1PS60	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=COBLL1 PE=4 SV=2
J9NTI8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LOC100688914 PE=4 SV=1
J9P7K0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PPIP5K1 PE=3 SV=1
F1PJ98	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ANK3 PE=4 SV=2
E2RPW2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DOCK3 PE=3 SV=2
Q9TU04	Integrin beta (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=ITGB2 PE=2 SV=1
A0M8V2	Suppression of tumorigenicity 7, isoform a (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=ST7 PE=4 SV=1
E2RAD4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BUB1 PE=4 SV=2
E2RRY0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZFYVE16 PE=4 SV=2
E2RAI9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ADGRF1 PE=3 SV=2
F6Y4F1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DCHS1 PE=4 SV=1
J9P531	Phosphoinositide phospholipase C OS=Canis lupus familiaris GN=PLCE1 PE=4 SV=1
J9P8I1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CROCC PE=4 SV=1
F1PYA6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KIAA0368 PE=4 SV=2
E2R2L2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MTOR PE=3 SV=1
J9PBN6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LOC611458 PE=4 SV=1
E2RRI1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SLC12A1 PE=4 SV=2
F1PZC8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CARD11 PE=4 SV=2
F1P9U6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FRAS1 PE=4 SV=2
E2QWX9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CEP95 PE=4 SV=2
J9P9D4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KIAA1958 PE=4 SV=1
E2RBD1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NOLC1 PE=4 SV=2
F1Q0K5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TKFC PE=4 SV=2
F1Q3H1	DNA - dependent protein kinase catalytic subunit OS=Canis lupus familiaris GN=PRKDC PE=3 SV=2
F1PA81	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RANBP2 PE=4 SV=2
J9NT00	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DNAH3 PE=4 SV=1
E2RMY2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ATXN7 PE=4 SV=2
F6XY29	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=E2F7 PE=3 SV=1
J9NY55	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RGAG1 PE=4 SV=1
E2RR69	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DNTTIP2 PE=4 SV=2
F1PD21	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CLASP1 PE=4 SV=2
W5VNF7	Sphingosine-1-phosphate receptor 1 OS=Canis lupus familiaris GN=S1PR1 PE=2 SV=1
F1PJH2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAT3 PE=4 SV=2
E2RTI2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CHD3 PE=4 SV=1
F1PAV4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZFYVE26 PE=4 SV=2
F1PMU1	Pinin OS=Canis lupus familiaris GN=PNN PE=4 SV=1
J9NW12	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TAOK2 PE=4 SV=1
E2RTH7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAM71A PE=4 SV=2
F1PDQ2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DMTN PE=4 SV=2
J9JHK2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GLP1R PE=3 SV=1
F1PND5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ANKS1A PE=4 SV=2
F1PYK4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BSN PE=4 SV=2
E2R925	Reticulon OS=Canis lupus familiaris GN=RTN4 PE=4 SV=2

J9P6H9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GRHL2 PE=4 SV=1
E2RHR0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ARFGAP1 PE=4 SV=2
F1PHH7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KIAA1324L PE=4 SV=2
J9P446	Olfactory receptor OS=Canis lupus familiaris GN=COR13C13 PE=3 SV=1
F1Q1Q3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SAMD11 PE=4 SV=2
J9JHP1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PLIN4 PE=3 SV=1
E2QY91	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DVL1 PE=4 SV=2
Q28226	Mucin OS=Canis lupus familiaris PE=2 SV=1
J9NVL6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAM21C PE=4 SV=1
E2RKG0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DMKN PE=4 SV=2
J9NTU6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=YEATS2 PE=4 SV=1
F1PII4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
E2RLR7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DMRT1 PE=4 SV=1
J9NYT0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FGD6 PE=4 SV=1
LYSC1	Lysozyme C, milk isozyme OS=Canis lupus familiaris PE=1 SV=1
E2RJY9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=JADE3 PE=4 SV=2
F1PNK7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PLXDC2 PE=4 SV=2
J9JHB1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NISCH PE=4 SV=1
E2RME7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BCOR PE=4 SV=2
F1PST3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LRP4 PE=4 SV=2
F1PGN3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ASTN2 PE=4 SV=2
E2R4S1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZFHX4 PE=4 SV=1
F1PKI3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
J9NZ58	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1Q323	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TTLL10 PE=4 SV=2
F1P8L4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAM208B PE=4 SV=2
E2QYK9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RPRD2 PE=4 SV=2
E2R1I7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KIAA1109 PE=4 SV=2
F1PKA4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MTSS1 PE=4 SV=2
F6XNM6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=XRN1 PE=4 SV=1
E2R0V4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CASP14 PE=3 SV=2
F1PHR2	Pyruvate kinase OS=Canis lupus familiaris GN=PKM PE=3 SV=2
F1PQM1	Purine nucleoside phosphorylase OS=Canis lupus familiaris GN=PNP PE=3 SV=2
E2RF74	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=S1PR3 PE=3 SV=2
F1PBA3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MYOCD PE=4 SV=2
F1PHH4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LRRK2 PE=4 SV=2
J9NTA9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RIC1 PE=4 SV=1
J9NXW1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=IRS2 PE=4 SV=1
E2QWB6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NBEA PE=4 SV=2
F1PFI3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PLCB3 PE=4 SV=2
F1PTX5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ASXL1 PE=4 SV=2
SODC	Superoxide dismutase [Cu-Zn] OS=Canis lupus familiaris GN=SOD1 PE=2 SV=1
F1PET0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TRPM8 PE=4 SV=1
J9P4F0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SACM1L PE=4 SV=1
F1PAZ4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DCC PE=4 SV=2
J9NXA4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FARP2 PE=4 SV=1

J9NWX5	Thioredoxin OS=Canis lupus familiaris GN=TXN PE=3 SV=1
E2REI0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HEATR5A PE=4 SV=2
F1PBA6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HIVEP1 PE=4 SV=2
E2R994	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ETAA1 PE=4 SV=2
F1PCU6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KIAA1683 PE=4 SV=2
E2R4N3	Midasin OS=Canis lupus familiaris GN=MDN1 PE=3 SV=2
E2QY07	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ACTN1 PE=4 SV=1
E2RMX4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CRY1 PE=4 SV=2
F1PZR4	Hemopexin OS=Canis lupus familiaris GN=HPX PE=3 SV=2
F1PJJ8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RTTN PE=4 SV=2
F1PKU2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PXDN1 PE=4 SV=2
F1PXF9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HMCN1 PE=4 SV=2
LYSC2	Lysozyme C, spleen isozyme OS=Canis lupus familiaris PE=1 SV=1
F1PNX9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NAV3 PE=4 SV=2
E2QXJ0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BPIFA2 PE=4 SV=1
E2QWJ3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BPIFB1 PE=4 SV=2
F1Q2Y5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZG16B PE=4 SV=2
E2R735	Amine oxidase OS=Canis lupus familiaris GN=LOC482436 PE=3 SV=1
F1PDJ5	Apolipoprotein A-I OS=Canis lupus familiaris GN=APOA1 PE=3 SV=1
J9NYW7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
L7N0D6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DMBT1 PE=4 SV=1
E2RD02	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=C6orf58 PE=4 SV=2
F1PAH2	Voltage-dependent R-type calcium channel subunit alpha OS=Canis lupus familiaris GN=CACNA1E PE=3 SV=2
F1PKQ1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
F1PUS9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DST PE=4 SV=2
J9P0T1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
J9P7I2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SYNE1 PE=4 SV=1
F1PFM0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZCCHC11 PE=4 SV=2
J9NV51	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NUP153 PE=4 SV=1
E2RF02	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=UBR4 PE=4 SV=1
F1PGK6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RAB3IP PE=4 SV=2
F1Q4D5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=POLE PE=4 SV=2
F1PNG3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CEP350 PE=4 SV=2
F1PLR1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CLASP2 PE=4 SV=2
E2R141	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=C8B PE=4 SV=1
F6Y4R5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PNPLA8 PE=4 SV=1
E2QWJ6	Protein phosphatase 1 regulatory subunit OS=Canis lupus familiaris GN=PPP1R12A PE=4 SV=2
F1PQ93	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SFN PE=3 SV=2
F1PBY8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=AKAP9 PE=4 SV=2
F1PFV5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PCNX2 PE=4 SV=2
F1PB36	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MYCBP2 PE=4 SV=2
F1PHF2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PPP1R26 PE=4 SV=2
H9GWM8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1PLJ6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
E2QZJ2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MLH3 PE=4 SV=1

J9P287	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CDK13 PE=4 SV=1
F1PQA7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SHE PE=4 SV=2
E2R1X1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NOL10 PE=4 SV=1
F1Q455	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PKHD1L1 PE=4 SV=2
F1P9A6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TENM3 PE=4 SV=2
J9PAE6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TNRC6A PE=4 SV=1
F1PI98	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NCKAP5 PE=4 SV=2
J9P196	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCDC18 PE=4 SV=1
Q004B1	Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 isoform 4S OS=Canis lupus familiaris GN=CEACAM1 PE=2 SV=1
J9NUZ2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DNAH8 PE=4 SV=1
E2RLD7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=WDFY3 PE=4 SV=2
F1PQ33	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MYO7B PE=4 SV=2
F6X8I2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CEP170 PE=4 SV=1
J9P7C9	Poly [ADP-ribose] polymerase OS=Canis lupus familiaris GN=PARP14 PE=4 SV=1
J9NRW0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SHB PE=4 SV=1
F6XA80	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LYST PE=4 SV=1
J9NTZ2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ATAD5 PE=4 SV=1
E2R0Z7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BTBD10 PE=4 SV=2
E2R220	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NCOA3 PE=4 SV=1
F1Q0I9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=AFAP1L2 PE=4 SV=2
J9NSE6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ANKRD17 PE=4 SV=1
J9NZV9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
E2RHX3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SPPL3 PE=4 SV=2
E2QYD7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CDK5RAP1 PE=3 SV=1
H9GWC2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NARF PE=3 SV=2
F6V1Y9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TRIM67 PE=4 SV=1
F1PQ19	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
E2R785	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LOC608989 PE=4 SV=2
F6XJT6	Phosphoinositide phospholipase C OS=Canis lupus familiaris GN=PLCB4 PE=4 SV=1
E2RN40	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PRUNE2 PE=4 SV=2
F1PQK8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=STAB2 PE=4 SV=2
F1PFZ4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BPTF PE=4 SV=2
F1PK51	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=IL15RA PE=4 SV=2
E2RRL5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SLC24A1 PE=3 SV=2
E2RF62	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ULK2 PE=4 SV=2
J9P747	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ABCA4 PE=4 SV=1
J9P6J1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MUC1 PE=4 SV=1
F1Q0N7	Keratin, type I cytoskeletal 9 OS=Canis lupus familiaris GN=KRT9 PE=3 SV=1
F1PWL0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SNPH PE=4 SV=2
E2RKG5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SCAF11 PE=4 SV=1
E2R7W1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCSER2 PE=4 SV=2
E2RCW6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=EFR3A PE=4 SV=2
J9P266	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CAD PE=4 SV=1
F6XM35	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HUWE1 PE=4 SV=1
E2RQ26	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KMT2D PE=3 SV=2
F1P798	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TNR PE=4 SV=2

E2RLU4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=IRS4 PE=4 SV=2
F1Q0K3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MICAL3 PE=4 SV=2
J9P7Y3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FLT3 PE=3 SV=1
F1PUB3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HEG1 PE=4 SV=2
F1PTL5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=WDR62 PE=4 SV=2
F1Q178	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PLEKHG4B PE=4 SV=2
E2RH04	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCP110 PE=4 SV=1
F1PQJ4	Anion exchange protein OS=Canis lupus familiaris GN=SLC4A9 PE=3 SV=2
E2RDF7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PEX6 PE=4 SV=1
E2RA54	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BRWD3 PE=4 SV=2
F1P7Y7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HTT PE=4 SV=2
E2QYQ8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZC2HC1C PE=4 SV=1
E2RI37	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZNF318 PE=4 SV=1
Q0QET4	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=GAPDH PE=2 SV=1
F1P818	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SART1 PE=4 SV=2
F1P769	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FBF1 PE=4 SV=2
F1PBM0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ADGRG6 PE=3 SV=2
J9PAQ0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CLASP1 PE=4 SV=1
E2QZ29	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DCLRE1A PE=4 SV=1
F1PGE3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PKD2 PE=4 SV=2
F6ULU4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PDZD8 PE=4 SV=1
F1P6B7	Annexin OS=Canis lupus familiaris GN=ANXA1 PE=3 SV=1
E2R2B9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BPIFB2 PE=4 SV=1
E2QWV3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=UBOX5 PE=4 SV=2
F6XQD6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MAP1B PE=4 SV=1
F1PUR3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TENM1 PE=4 SV=2
J9NRQ4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TRIP12 PE=4 SV=1
E2RE65	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=WNK2 PE=4 SV=2
J9P884	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=VCAN PE=4 SV=1
Q6SLL1	Hypoxia-inducible factor 1 alpha subunit (Fragment) OS=Canis lupus familiaris PE=2 SV=1
E2RHH5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NHSL2 PE=4 SV=2
F1P9N9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=JMJD1C PE=4 SV=2
F1PGY0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CTNND2 PE=4 SV=2
H2B3G5	Lipocalin-Can f 6 allergen OS=Canis lupus familiaris GN=Icn PE=2 SV=1
F2Z4N8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ACTG2 PE=3 SV=1
F1PSX9	Hyaluronidase OS=Canis lupus familiaris GN=HYAL1 PE=3 SV=2
F1PLU0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KMT2A PE=3 SV=2
C7G0W1	Interleukin 31 OS=Canis lupus familiaris GN=IL-31 PE=2 SV=1
E2R266	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MYO9B PE=4 SV=2
F1PRM0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
F1P6H5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ATXN7L1 PE=4 SV=2
E2RR12	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GATAD2A PE=4 SV=2
F1PU46	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PPP1R9A PE=4 SV=2
F2Y836	CDKN2A interacting protein (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=CDKN2AIP PE=4 SV=1
E2R2M8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PPP1R3A PE=4 SV=1

F1P6R1	Phosphatase and actin regulator OS=Canis lupus familiaris GN=PHACTR4 PE=3 SV=2
J9NXQ1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MYOF PE=4 SV=1
E2RRE1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HBP1 PE=4 SV=2
J9P5G6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
E2RD14	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PLEKHA5 PE=4 SV=2
B7UAP0	BRCA2 (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=BRCA2 PE=4 SV=1
E2RCN2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=VRK1 PE=3 SV=2
F1Q0A7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SVEP1 PE=4 SV=2
E2R0N1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TIAM1 PE=4 SV=2
E2RLW7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TTBK1 PE=4 SV=2
F1PJ59	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SNED1 PE=4 SV=2
F1PKP9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SCUBE2 PE=4 SV=2
J9P0E3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PRKAR1B PE=4 SV=1
J9JHJ8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MUC5B PE=4 SV=1
F6UMN8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SETD1A PE=3 SV=1
F1PSJ1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
E2R9H9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CDK12 PE=4 SV=1
A2SXS6	Calcium-sensing receptor OS=Canis lupus familiaris GN=CASR PE=2 SV=1
F1PBK3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RBL1 PE=4 SV=2
E2QU22	Poly [ADP-ribose] polymerase OS=Canis lupus familiaris GN=TNKS PE=4 SV=1
J9NXL1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
E2RSB9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MSTO1 PE=4 SV=2
L7N0F2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
J9NUN7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1PVE1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PHLPP1 PE=4 SV=2
J9NY52	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=VPS13B PE=4 SV=1
F1PTZ9	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase OS=Canis lupus familiaris GN=GAPDH PE=3 SV=2
B3VMJ2	Ataxia telangiectasia mutated protein OS=Canis lupus familiaris GN=ATM PE=2 SV=1
F1PI70	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=B9D2 PE=3 SV=2
Q5I9W4	Protein kinase B (Fragment) OS=Canis lupus familiaris PE=2 SV=1
KV1	Ig kappa chain V region GOM OS=Canis lupus familiaris PE=1 SV=1
J9P295	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1PKS2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZEB2 PE=4 SV=1
F1PYL8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PECAM1 PE=4 SV=2
K22E	Keratin, type II cytoskeletal 2 epidermal OS=Canis lupus familiaris GN=KRT2 PE=2 SV=1
E2RQ48	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CEMIP PE=4 SV=2
F1PVA2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ADGRV1 PE=4 SV=2
E2RER4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=EML5 PE=4 SV=2
E2RS10	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=EIF2AK4 PE=4 SV=1
F1PQQ7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NCOR2 PE=4 SV=2
E2QZV8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CEP250 PE=4 SV=2
F1P6R7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GSTM4 PE=3 SV=2
E2QWQ6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SH2D4A PE=4 SV=1
E2RFI5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ARID3B PE=4 SV=2
F1PBL2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TIAM2 PE=4 SV=2
F1PRF6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LOC611589 PE=4 SV=2

COHA1	Collagen alpha-1(XVII) chain OS=Canis lupus familiaris GN=COL17A1 PE=2 SV=2
J9NW94	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ALMS1 PE=4 SV=1
F1Q3L3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCDC186 PE=4 SV=2
F1PUW7	Amino acid transporter OS=Canis lupus familiaris GN=SLC1A1 PE=3 SV=1
F1PE00	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FBXO43 PE=4 SV=2
F6V6J5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NEK4 PE=4 SV=1
E2RDB9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PHLDB2 PE=4 SV=2
E2QWG7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=UBN1 PE=4 SV=2
F1PB98	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NAV2 PE=4 SV=2
F6XGX8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=APC2 PE=4 SV=1
E2RHY5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MAP3K10 PE=4 SV=2
J9P0U6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NHS PE=4 SV=1
F1P988	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=VPS13D PE=4 SV=2
E2R9S8	Voltage-dependent T-type calcium channel subunit alpha OS=Canis lupus familiaris GN=CACNA1I PE=3 SV=2
J9NWD8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HERC1 PE=4 SV=1
A2VEC8	SCO-spondin OS=Canis lupus familiaris GN=sspo PE=2 SV=1
J9NSZ6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DNAH8 PE=4 SV=1
E2RSB4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NFATC4 PE=4 SV=2
Q867A1	Laminin alpha 3 (Fragment) OS=Canis lupus familiaris PE=2 SV=1
F1PEK4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DSCAML1 PE=4 SV=2
E2QZR7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=YTHDC2 PE=4 SV=2
F1PF42	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=COBL PE=4 SV=2
E2RQ88	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=C2CD2L PE=4 SV=2
J9NXP0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TTC3 PE=4 SV=1
F1P6P1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ANK2 PE=4 SV=1
J9P562	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1P780	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=EXPH5 PE=4 SV=1
J9NV14	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PARVA PE=4 SV=1
F1PZD3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=EEA1 PE=4 SV=1
H9GW87	Transaldolase OS=Canis lupus familiaris GN=LOC475937 PE=3 SV=1
A1ILJ0	Alpha 1 antitrypsin OS=Canis lupus familiaris PE=2 SV=1
F1PBL1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=YWHAZ PE=3 SV=2
E2RKJ6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SERPINB1 PE=3 SV=1
E2QUV3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=AHSG PE=3 SV=2
J9NT91	Kinesin-like protein OS=Canis lupus familiaris GN=KIF12 PE=3 SV=1
J9P839	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
UBP37	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 37 OS=Canis lupus familiaris GN=USP37 PE=3 SV=1
F1PKW7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=YWHAB PE=3 SV=2
J9NVT1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=UBC PE=4 SV=1
E2REK6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CALM1 PE=4 SV=1
E2QXD8	DNA-directed RNA polymerase subunit OS=Canis lupus familiaris GN=POLR3A PE=3 SV=2
E2R7A4	Involucrin OS=Canis lupus familiaris GN=IVL PE=3 SV=2
E2REZ1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCDC40 PE=4 SV=2
F1Q0X3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BRCA2 PE=4 SV=1
J9P486	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1

E2RSG6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FNDC1 PE=4 SV=2
E2R5I3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SCAF1 PE=4 SV=1
F1PRB7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TEX15 PE=4 SV=2
J9P2K3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RAD51AP2 PE=4 SV=1
E2QXP7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MPHOSPH9 PE=4 SV=2
J9P7F1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=N4BP2 PE=4 SV=1
E2RDY9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BOD1L1 PE=4 SV=2
F1PTK2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ANKS1B PE=4 SV=2
E2QZU9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FEM1C PE=4 SV=2
J9PBL7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FBXO42 PE=4 SV=1
J9NYD2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PHIP PE=4 SV=1
F6XR48	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LOC100685565 PE=4 SV=1
F6XHX3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RBM23 PE=4 SV=1
J9NSU8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PKD1L1 PE=4 SV=1
J9P957	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1PJ23	Growth hormone receptor OS=Canis lupus familiaris GN=GHR PE=4 SV=2
E2RMC0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ITPR3 PE=4 SV=2
F6UQ63	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GAS2L1 PE=4 SV=1
E2RR25	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KIAA1107 PE=4 SV=2
J9P7J1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
E2RC60	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GTPBP2 PE=4 SV=1
E2QXV1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HCFC1 PE=4 SV=2
J9P755	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=AARS PE=3 SV=1
Q06SM4	Pinin 2 OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1PS33	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=OTOG PE=4 SV=2
F1PSA2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NLRP5 PE=4 SV=2
F1Q0H9	Amino acid transporter OS=Canis lupus familiaris GN=SLC1A4 PE=3 SV=2
F1P615	Amyloid beta A4 protein OS=Canis lupus familiaris GN=APP PE=4 SV=2
F1PYA1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=STARD9 PE=3 SV=2
F6ULQ1	Voltage-dependent T-type calcium channel subunit alpha OS=Canis lupus familiaris GN=CACNA1G PE=3 SV=1
F1PET2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ARHGEF12 PE=4 SV=2
E2R698	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NCOA6 PE=4 SV=1
E2RHS3	Protein phosphatase 1 regulatory subunit OS=Canis lupus familiaris GN=PPP1R12B PE=4 SV=2
F1PXZ5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LMNTD2 PE=4 SV=2
F1Q2H7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KIF26B PE=3 SV=2
J9P8B7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RAI1 PE=4 SV=1
E2RH23	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BRPF1 PE=4 SV=1
E2QX44	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SLC29A4 PE=4 SV=1
F1PY16	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FOXP1 PE=4 SV=1
J9P6I6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=OLIG2 PE=4 SV=1
J9NWX7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DIP2C PE=4 SV=1
A0A0E4AY72	Mucin-like 1 OS=Canis lupus familiaris GN=MUCL1 PE=4 SV=1
E2R9D9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DTHD1 PE=4 SV=2
F1PLQ4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=YTHDF1 PE=4 SV=2
F6UU59	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PRCC PE=4 SV=1

F1PJ53	Oxysterol-binding protein OS=Canis lupus familiaris GN=OSBP2 PE=3 SV=2
E2RLI1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZFAT PE=4 SV=2
F1PEV3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DTX3L PE=4 SV=2
E2RT92	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=AFF4 PE=4 SV=2
F1PR91	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
J9P4G3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
J9NVZ8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BRIP1 PE=4 SV=1
F1PB17	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZDBF2 PE=4 SV=2
E2R8G0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SHPRH PE=4 SV=2
E2RDS3	Claudin OS=Canis lupus familiaris GN=CLDN14 PE=3 SV=1
E2RK31	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CEP152 PE=4 SV=2
E2RN10	Beta-2-microglobulin OS=Canis lupus familiaris GN=B2M PE=2 SV=2
F1PBJ2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=STK10 PE=4 SV=2
J9P969	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=AHNAK PE=4 SV=1
J9NXB3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KCNH3 PE=4 SV=1
J9JHE6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DNAH10 PE=4 SV=1
E2RME9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SGPL1 PE=3 SV=1
F1P674	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CELF2 PE=4 SV=2
E2QVF3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MAPK6 PE=4 SV=1
E2RRC9	Phosphoglycerate kinase OS=Canis lupus familiaris GN=PGK1 PE=3 SV=1
J9NX01	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PDCD4 PE=4 SV=1
F1PW92	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TMTC2 PE=4 SV=2
E2RSC5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TLN2 PE=4 SV=2
ALL1	Major allergen Can f 1 OS=Canis lupus familiaris PE=1 SV=1
J9JHF7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LOC100855540 PE=3 SV=1
J9P7B6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LOC100687441 PE=4 SV=1
F1PBH4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FSIP1 PE=4 SV=2
F6UT09	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SIPA1L1 PE=4 SV=1
F1PNU9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CACNB4 PE=4 SV=1
E2RCK4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RB1CC1 PE=4 SV=1
J9P7V7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
E2RHE6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SCYL2 PE=4 SV=2
F1P9Y0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NHSL1 PE=4 SV=2
E2R8B4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCNB2 PE=3 SV=1
J9P843	Apolipoprotein A-I OS=Canis lupus familiaris GN=APOA1 PE=4 SV=1
F1PNX3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=EPB41L4A PE=4 SV=2
F6XPI4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GPR179 PE=4 SV=1
E2RGH9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HECTD1 PE=4 SV=2
F1P7Y5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PCDH9 PE=4 SV=2
J9NS43	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DNAH7 PE=4 SV=1
J9P4H9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KRT13 PE=3 SV=1
J9JHY9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NUP153 PE=4 SV=1
J9P0E7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DENND2A PE=4 SV=1
E2RKU0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DDX28 PE=4 SV=2
F1PS92	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NLRP9 PE=4 SV=2
E2QUN6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FOCAD PE=4 SV=2

J9P782	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GTF2F1 PE=4 SV=1
J9P6D2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TACC2 PE=4 SV=1
E2RAB8	Multidrug and toxin extrusion protein (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=SLC47A2 PE=3 SV=2
J9NTE9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=UNC80 PE=4 SV=1
J9NYB8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1PQN7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ABTB2 PE=4 SV=2
F1PQP1	Oxygen-regulated protein 1 OS=Canis lupus familiaris GN=RP1 PE=4 SV=1
F1Q4F1	Oxysterol-binding protein OS=Canis lupus familiaris GN=OSBP PE=3 SV=2
F1PSC1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MAP4K4 PE=4 SV=2
E2QUC1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CAMK1G PE=3 SV=1
F1Q447	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SYBU PE=4 SV=2
E2R8T7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CAPN3 PE=3 SV=1
F1PCB8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ATMIN PE=4 SV=2
F1PRF8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PDXDC1 PE=4 SV=2
J9P1Y3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
J9NRG5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SEC31A PE=4 SV=1
F1P6U6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CDH11 PE=4 SV=2
E2QWE9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZNF385D PE=4 SV=2
J9NV61	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=L3MBTL1 PE=4 SV=1
F6Y3D7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=WDFY4 PE=4 SV=1
E2QXI3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=AIMP1 PE=4 SV=2
F1PZK8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DNHD1 PE=4 SV=2
J9P7R7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1PCY9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PACS1 PE=4 SV=2
F1PAK8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
E2QUX2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ABCA1 PE=4 SV=2
F1PAS6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PALM3 PE=4 SV=2
F1PYN3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TSPYL1 PE=3 SV=2
F1PTY1	Keratin, type II cytoskeletal 1 OS=Canis lupus familiaris GN=KRT1 PE=3 SV=1
L7N095	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KRT5 PE=3 SV=1
F6X9P0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=UBR1 PE=4 SV=1
F1PSR2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DOCK5 PE=3 SV=2
E2RIW3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NFRKB PE=4 SV=2
E2RK08	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 37 OS=Canis lupus familiaris GN=USP37 PE=3 SV=2
E2QUI2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SLMAP PE=4 SV=2
F1PJM6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MAP7D3 PE=4 SV=2
E2QXE7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BPIFA1 PE=4 SV=1
F1PQN5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CFL1 PE=3 SV=2
F1PHB6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CSTA PE=4 SV=2
F6V1W9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TF PE=4 SV=1
J9P9H8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LOC100855558 PE=3 SV=1
F1PSJ5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
F6UQL7	Transmembrane channel-like protein OS=Canis lupus familiaris GN=TMC3 PE=3 SV=1
F1PI49	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TICAM1 PE=4 SV=2
Q6B829	Histone H4 (Fragment) OS=Canis lupus familiaris PE=3 SV=1
J9NXP4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SSFA2 PE=4 SV=1

E2QXA3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ACADVL PE=3 SV=2
L7N050	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LOC474850 PE=3 SV=1
B7UAM6	BRCA2 (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=BRCA2 PE=4 SV=1
F1PPQ9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TMEM234 PE=4 SV=1
F1P8W5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=COG2 PE=4 SV=2
J9NZW2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MICALL2 PE=4 SV=1
E2QW50	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZNF532 PE=4 SV=1
F6X406	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NRG2 PE=4 SV=1
F1PFZ6	Histone H2A OS=Canis lupus familiaris GN=LOC488254 PE=3 SV=2
E2QX62	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=POC5 PE=4 SV=2
J9P651	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NMUR1 PE=3 SV=1
BRD2	Bromodomain-containing protein 2 OS=Canis lupus familiaris GN=BRD2 PE=3 SV=1
F1PJF4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAM179B PE=4 SV=2
F1PPJ4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KALRN PE=4 SV=2
E2QYI5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=UNC13C PE=4 SV=2
J9NXT6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NEDD4L PE=4 SV=1
F1PP02	Poly [ADP-ribose] polymerase OS=Canis lupus familiaris GN=PARP8 PE=4 SV=2
J9P4D0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PCNT PE=4 SV=1
F1P782	Histone H2B OS=Canis lupus familiaris PE=3 SV=2
F1P9A1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=VPS13D PE=4 SV=2
F1P899	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=UNC5A PE=4 SV=2
J9PAM5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1Q3V9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SYNE2 PE=4 SV=2
J9P0I9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CLIP2 PE=4 SV=1
E2RKG1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CHM PE=4 SV=1
F1PWU1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TTC14 PE=4 SV=2
A0A067ZW35	Can f 4 variant allergen OS=Canis lupus familiaris PE=2 SV=1
F1PF27	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TREML2 PE=4 SV=2
J9P6D3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ARHGAP11A PE=4 SV=1
E2QYQ5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HERC1 PE=4 SV=2
F1Q450	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HECTD4 PE=4 SV=2
F1PA94	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FRYL PE=4 SV=2
E2RCU2	Phosphodiesterase OS=Canis lupus familiaris GN=PDE4A PE=3 SV=2
E2RC81	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=POLH PE=4 SV=1
E2R150	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KRT24 PE=3 SV=2
E2R9U9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FARP2 PE=4 SV=2
E2R0D7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=COL6A6 PE=4 SV=2
J9NV26	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
J9P0B5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LCN1 PE=4 SV=1
E2RF19	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LPO PE=4 SV=1
E2R8Z5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KRT5 PE=3 SV=2
F1PYU9	Keratin, type I cytoskeletal 10 OS=Canis lupus familiaris GN=KRT10 PE=3 SV=2
E2R7U2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KRT13 PE=3 SV=2
J9P0I1	Keratin, type I cytoskeletal 9 OS=Canis lupus familiaris GN=KRT9 PE=3 SV=1
E2QWD8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1PW98	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KRT8 PE=3 SV=2

O77704	Desmocollin type 2 (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=DSC2 PE=2 SV=1
J9P1L8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=3 SV=1
F1PVR0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MMP8 PE=3 SV=2
J9NW91	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCDC73 PE=4 SV=1
J9P4J7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
E2QSZ7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PAK6 PE=4 SV=1
J9P069	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=3 SV=1
E2RM62	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAT2 PE=4 SV=1
J9P1H0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TBC1D5 PE=4 SV=1
E2REK2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MGA PE=4 SV=2
J9NWV7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SCML2 PE=4 SV=1
F1PS68	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TXNDC2 PE=4 SV=2
F1PYB7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CEP162 PE=4 SV=2
E2RKH7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=R3HCC1L PE=4 SV=1
E2QXU0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCDC177 PE=4 SV=1
F2Z4N7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ACTC1 PE=3 SV=1
E2QUN9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
J9P127	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TMSB4X PE=4 SV=1
E2QYB1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
E2RJE4	Cystatin OS=Canis lupus familiaris GN=CST6 PE=3 SV=1
F1PRS3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
J9P8U3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1PIG3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZEB1 PE=4 SV=2
E2R0N4	Olfactory receptor DOPRH02 OS=Canis lupus familiaris GN=OR10K2 PE=3 SV=2
J9P1J2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NCOR1 PE=4 SV=1
E2RDX4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HCFC2 PE=4 SV=1
J9PA89	Uncharacterized protein (Fragment) OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1PYE3	Heat shock protein 27 kDa beta-1 OS=Canis lupus familiaris GN=HSPB1 PE=3 SV=1
F1PBY2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CDK18 PE=4 SV=2
F1PK60	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TGM3 PE=4 SV=1
J9P3S5	Nucleoside diphosphate kinase OS=Canis lupus familiaris PE=3 SV=1
Q4GX49	Zinc alpha-2-glycoprotein 1 (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=azgp1 PE=2 SV=1
PEBP1	Phosphatidylethanolamine-binding protein 1 OS=Canis lupus familiaris GN=PEBP1 PE=1 SV=1
J9NUA5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TMPRSS7 PE=3 SV=1
E2QSF3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SPATS2 PE=4 SV=1
F1PMA5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=THSD7A PE=4 SV=2
E2RGU6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=C4orf17 PE=4 SV=2
E2RRA9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ARHGAP29 PE=4 SV=2
F1P6C4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=OLFM2 PE=4 SV=2
F1PBZ4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NQO1 PE=4 SV=1
F1PNC2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAM217A PE=4 SV=2
E2R5I7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZMYM1 PE=4 SV=2
F1PUX3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SRGAP2 PE=4 SV=2
F1PQC8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CMYA5 PE=4 SV=2
J9P992	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MYO18A PE=3 SV=1
F1PJH8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ARHGAP21 PE=4 SV=2

F1Q263	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZNF280D PE=4 SV=2
E2RCJ5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MMRN1 PE=4 SV=1
F1PRZ2	Death domain-associated protein 6 OS=Canis lupus familiaris GN=DAXX PE=4 SV=1
E2R8C0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ACIN1 PE=4 SV=1
J9P7A6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
J9P9F0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TSNAXIP1 PE=4 SV=1
F6ULF5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAM83D PE=4 SV=1
A0A0C5E1H5	Cellular tumor antigen p53 OS=Canis lupus familiaris PE=2 SV=1
F1PC59	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PRDX6 PE=4 SV=1
E2RJD3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FRMD6 PE=4 SV=2
J9P8X2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TATDN2 PE=4 SV=1
J9P9U0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DCDC1 PE=4 SV=1
F1PT90	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TRIM66 PE=4 SV=2
F1P6L4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SASH1 PE=4 SV=2
J9P282	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=C22orf31 PE=4 SV=1
J9P7Q2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCDC187 PE=4 SV=1
J9NSZ4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
E2RCS2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RFX5 PE=4 SV=1
E2RR85	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAT4 PE=4 SV=2
J9P5R7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SEMA3B PE=4 SV=1
Q8MJZ1	Polymeric immunoglobulin receptor (Fragment) OS=Canis lupus familiaris PE=2 SV=1
F1Q3Y0	Profilin OS=Canis lupus familiaris GN=PFN1 PE=3 SV=1
F1PYF5	Matrix metalloproteinase-9 OS=Canis lupus familiaris GN=MMP9 PE=3 SV=2
E2R002	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PTGR1 PE=4 SV=2
E2R5T9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ACTN4 PE=4 SV=1
J9P540	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase OS=Canis lupus familiaris GN=LOC477441 PE=3 SV=1
F1PPE5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BOD1L1 PE=4 SV=2
E2R0T6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HSPA8 PE=3 SV=1
F1PCZ6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ABLIM2 PE=4 SV=2
J9NZP6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ABCA13 PE=4 SV=1
E2R8R1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZMYND8 PE=4 SV=2
F1PPN4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KCTD3 PE=4 SV=2
E2R498	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCDC88A PE=4 SV=2
F1Q0P9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=AHCTF1 PE=4 SV=2
E2RCL7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PICALM PE=4 SV=2
F1PBV5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SNTB2 PE=4 SV=2
J9P0A5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RBBP6 PE=4 SV=1
E2RAK2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ADGRF5 PE=3 SV=2
E2RH08	Oxysterol-binding protein OS=Canis lupus familiaris GN=OSBPL10 PE=3 SV=2
J9NSC8	Nibrin OS=Canis lupus familiaris GN=NBIN PE=4 SV=1
J9P7K2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TRAPPC6A PE=4 SV=1
F1P652	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GRIP1 PE=4 SV=2
F1PBI6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=THBS1 PE=4 SV=2
J9NZQ0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
J9NXT5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ARHGAP32 PE=4 SV=1
J9NZA2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DNM1L PE=3 SV=1

F1PLT6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FGD5 PE=4 SV=2
L7N0B2	Tubulin alpha chain OS=Canis lupus familiaris GN=TUBA1B PE=3 SV=1
F1Q3I3	Condensin complex subunit 2 OS=Canis lupus familiaris GN=NCAPH PE=3 SV=2
F1Q1B2	Phosphoinositide phospholipase C OS=Canis lupus familiaris GN=PLCH2 PE=4 SV=2
F1PFL2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=C17H2orf71 PE=2 SV=2
A0A0A0MPA9	Triadin OS=Canis lupus familiaris GN=TRDN PE=4 SV=1
J9P384	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCDC186 PE=4 SV=1
E2R0I9	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase OS=Canis lupus familiaris GN=G6PD PE=3 SV=2
F1PDJ7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=AZGP1 PE=3 SV=2
E2RCE4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PASK PE=4 SV=2
F1PX41	Phospholipid-transporting ATPase OS=Canis lupus familiaris GN=ATP11C PE=3 SV=2
E2RBC5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZFHX3 PE=4 SV=2
E2RNE1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SERPINA12 PE=3 SV=1
J9JHC0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAM186A PE=4 SV=1
F6XIT9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ALPK2 PE=4 SV=1
E2RIV6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ESCO1 PE=4 SV=2
F1PWZ7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DCLK1 PE=4 SV=2
J9P5P6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KMT2C PE=3 SV=1
E2RBM4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HELZ2 PE=4 SV=2
J9NYT7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RASGRF2 PE=4 SV=1
E2RSV0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=IPO4 PE=4 SV=2
F1PWM9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SGCZ PE=4 SV=2
F1PIU2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RDH5 PE=3 SV=2
J9P7X1	Histone H3 OS=Canis lupus familiaris GN=HIST2H3C PE=3 SV=1
J9P227	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KIAA1033 PE=4 SV=1
J9NYP9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RNF213 PE=4 SV=1
L7N094	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KRT3 PE=3 SV=1
F1PRR6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TP53BP1 PE=4 SV=2
F6UNT4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CEP57L1 PE=4 SV=1
F1PYQ4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DNA2 PE=4 SV=2
F1PXT8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SPTBN1 PE=4 SV=2
F6XAQ7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZNF292 PE=4 SV=1
F1PLL7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MLIP PE=4 SV=2
F1PGM8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
E2R111	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GCFC2 PE=4 SV=2
E2R1N6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LRWD1 PE=4 SV=2
E2RBG2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ASXL3 PE=4 SV=2
F1PEI3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NOL6 PE=4 SV=2
F1PVW0	L-lactate dehydrogenase OS=Canis lupus familiaris GN=LOC476882 PE=3 SV=2
F1PBT3	Fructose-bisphosphate aldolase OS=Canis lupus familiaris PE=3 SV=2
NDKA	Nucleoside diphosphate kinase A OS=Canis lupus familiaris GN=NME1 PE=2 SV=1
F1PRE6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RPTOR PE=4 SV=2
E2R959	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LOC608027 PE=3 SV=2
F1PZL0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GSDMA PE=4 SV=2
F1PSN4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=IQCH PE=4 SV=2
E2RRW1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ATAD2 PE=4 SV=2

J9P2F8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MAML2 PE=4 SV=1
E2RIB6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NCAPD3 PE=4 SV=2
J9P8M2	Fibronectin OS=Canis lupus familiaris GN=FN1 PE=4 SV=1
J9P4M1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TOR1AIP1 PE=4 SV=1
F1P907	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DOCK2 PE=3 SV=2
E2RGU4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SLC13A3 PE=4 SV=1
F1PQ97	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=A2ML1 PE=4 SV=2
J9P2H2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ATR PE=3 SV=1
E2QWU9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KDM3A PE=4 SV=1
F1P8L6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SZT2 PE=4 SV=2
F1PAX2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CP PE=3 SV=2
J9P0Q4	Serine/threonine-protein kinase PLK OS=Canis lupus familiaris GN=PLK1 PE=3 SV=1
E2R135	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZNF407 PE=4 SV=2
E2QXS8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KANSL3 PE=4 SV=2
J9P2D7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=EEA1 PE=4 SV=1
E2RCI4	Hyaluronidase OS=Canis lupus familiaris GN=LOC609321 PE=3 SV=2
E2RGP8	Uncharacterized protein (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=PTK2 PE=4 SV=2
F6XIY7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
E2RF44	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TCN1 PE=4 SV=2
F1PX82	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MCF2 PE=4 SV=2

Destas 758 proteínas únicas encontradas, 135(18%) apresentam caracterização e 623(82%) são proteínas não caracterizadas, como mostra o gráfico 1.

Gráfico 1 – Porcentagem de proteínas únicas caracterizadas (18%) e proteínas não caracterizadas (82%).

Em relação à condição clínica bucal de cada animal: das 758 proteínas únicas, foram encontradas 257 (34%) proteínas específicas em cães sem sinais clínicos de cálculo

dentário, 338 (44,5%) proteínas específicas em cães que apresentaram cálculo dentário e 163 (21,5%) proteínas em comum em todos os cães participantes. Como mostra o Diagrama de Venn abaixo:

Figura 3 – Diagrama de Venn mostrando a relação das proteínas encontradas em animais sem cálculo dentário (Sem CD) e animais com cálculo dentário (Com CD) e sua inter-relação.

A tabela 6 mostra a lista das proteínas que foram encontradas em cães sem cálculo dentário e a tabela 7 mostra as proteínas encontradas em cães com cálculo dentário.

Tabela 6 – Proteínas específicas identificadas em cães sem cálculo dentário.

Nº de acesso	Nome da proteína
E2QW50	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZNF532 PE=4 SV=1
F1PKA4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MTSS1 PE=4 SV=2
E2RKG0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DMKN PE=4 SV=2
F1PII4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
E2RTI2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CHD3 PE=4 SV=1
APOA1	Apolipoprotein A-I OS=Canis lupus familiaris GN=APOA1 PE=1 SV=2
A0A067ZW35	Can f 4 variant allergen OS=Canis lupus familiaris PE=2 SV=1
E2QX44	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SLC29A4 PE=4 SV=1
E2RC60	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GTPBP2 PE=4 SV=1
J9P1L8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=3 SV=1
F1PTY1	Keratin, type II cytoskeletal 1 OS=Canis lupus familiaris GN=KRT1 PE=3 SV=1
E2RSV0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=IPO4 PE=4 SV=2
J9NYT0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FGD6 PE=4 SV=1
E2RR25	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KIAA1107 PE=4 SV=2
F1PIL9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=IL1RAP PE=4 SV=2
F1PSR2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DOCK5 PE=3 SV=2
F1Q0K5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TKFC PE=4 SV=2

F6Y4F1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DCHS1 PE=4 SV=1
F1PBU5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SMG1 PE=3 SV=2
E2RF74	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=S1PR3 PE=3 SV=2
E2RM62	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAT2 PE=4 SV=1
E2RLI1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZFAT PE=4 SV=2
J9P7J1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1PL93	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ARHGDI1A PE=4 SV=2
F1PPJ4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KALRN PE=4 SV=2
E2R4W6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=WDR81 PE=4 SV=2
J9P2K3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RAD51AP2 PE=4 SV=1
F1PD21	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CLASP1 PE=4 SV=2
E2QWB0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CLIP1 PE=4 SV=2
J9NT00	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DNAH3 PE=4 SV=1
E2RBR8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
J9NW91	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCDC73 PE=4 SV=1
F6X9P0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=UBR1 PE=4 SV=1
F6XHX3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RBM23 PE=4 SV=1
J9JHK2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GLP1R PE=3 SV=1
F1PWU1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TTC14 PE=4 SV=2
E2R9D9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DTHD1 PE=4 SV=2
A0A0E4AY72	Mucin-like 1 OS=Canis lupus familiaris GN=MUC1 PE=4 SV=1
F6XNM6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=XRN1 PE=4 SV=1
F1PA94	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FRYL PE=4 SV=2
F1PDY0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FNIP2 PE=4 SV=2
J9JHE6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DNAH10 PE=4 SV=1
E2RL36	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCDC60 PE=4 SV=2
J9NXP4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SSFA2 PE=4 SV=1
F1PKI3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
F1P9U6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FRAS1 PE=4 SV=2
E2R083	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CDH7 PE=4 SV=2
F6V1W9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TF PE=4 SV=1
E2RKV1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=USP36 PE=3 SV=1
F1PJF4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAM179B PE=4 SV=2
J9P531	Phosphoinositide phospholipase C OS=Canis lupus familiaris GN=PLCE1 PE=4 SV=1
J9NTA9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RIC1 PE=4 SV=1
E2RME9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SGPL1 PE=3 SV=1
F1PJ23	Growth hormone receptor OS=Canis lupus familiaris GN=GHR PE=4 SV=2
F1PDJ7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=AZGP1 PE=3 SV=2
J9JHP1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PLIN4 PE=3 SV=1
J9NWV7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SCML2 PE=4 SV=1
J9NXB8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SCAF1 PE=4 SV=1
E2QVF3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MAPK6 PE=4 SV=1
J9NXA4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FARP2 PE=4 SV=1
J9P651	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NMUR1 PE=3 SV=1
E2RSG6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FNDC1 PE=4 SV=2
F1PXF9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HMCN1 PE=4 SV=2

F1PP02	Poly [ADP-ribose] polymerase OS=Canis lupus familiaris GN=PARP8 PE=4 SV=2
E2R0D7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=COL6A6 PE=4 SV=2
F1PS68	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TXNDC2 PE=4 SV=2
E2QZU9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FEM1C PE=4 SV=2
E2RCU2	Phosphodiesterase OS=Canis lupus familiaris GN=PDE4A PE=3 SV=2
E2QX62	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=POC5 PE=4 SV=2
E2QYQ5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HERC1 PE=4 SV=2
W5VNF7	Sphingosine-1-phosphate receptor 1 OS=Canis lupus familiaris GN=S1PR1 PE=2 SV=1
E2RPW2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DOCK3 PE=3 SV=2
E2RLR7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DMRT1 PE=4 SV=1
J9NZW2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MICALL2 PE=4 SV=1
J9P6D3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ARHGAP11A PE=4 SV=1
F1PY16	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FOXP1 PE=4 SV=1
UBP37	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 37 OS=Canis lupus familiaris GN=USP37 PE=3 SV=1
F1PIR4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PPFIA2 PE=4 SV=2
J9NX01	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PDCD4 PE=4 SV=1
F1PET0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TRPM8 PE=4 SV=1
F1PX41	Phospholipid-transporting ATPase OS=Canis lupus familiaris GN=ATP11C PE=3 SV=2
J9P4G3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
E2RBC5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZFHX3 PE=4 SV=2
E2RRC9	Phosphoglycerate kinase OS=Canis lupus familiaris GN=PGK1 PE=3 SV=1
E2R0X2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TMCO3 PE=4 SV=2
F1PNK7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PLXDC2 PE=4 SV=2
J9NYD2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PHIP PE=4 SV=1
E2R8Z5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KRT5 PE=3 SV=2
J9P9D4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KIAA1958 PE=4 SV=1
E2RNE1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SERPINA12 PE=3 SV=1
F1Q1Q3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SAMD11 PE=4 SV=2
F1PS33	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=OTOG PE=4 SV=2
F1PF27	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TREML2 PE=4 SV=2
E2QXV1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HCFC1 PE=4 SV=2
F1PZR4	Hemopexin OS=Canis lupus familiaris GN=HPX PE=3 SV=2
F1PWM9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SGCZ PE=4 SV=2
J9P7K0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PPIP5K1 PE=3 SV=1
J9PB22	Histone H3 OS=Canis lupus familiaris GN=HIST1H3C PE=3 SV=1
J9P019	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CLIP2 PE=4 SV=1
J9P8I1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CROCC PE=4 SV=1
F6XEW2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RNPS1 PE=4 SV=1
F1PYK4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BSN PE=4 SV=2
J9P957	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
J9NT91	Kinesin-like protein OS=Canis lupus familiaris GN=KIF12 PE=3 SV=1
F1PZC8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CARD11 PE=4 SV=2
E2QUK4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZNF827 PE=4 SV=2
F1P899	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=UNC5A PE=4 SV=2
L7N095	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KRT5 PE=3 SV=1
F1PQM1	Purine nucleoside phosphorylase OS=Canis lupus familiaris GN=PNP PE=3 SV=2

J9P7F1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=N4BP2 PE=4 SV=1
F1PHH4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LRRK2 PE=4 SV=2
F1PRB7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TEX15 PE=4 SV=2
E2QYK9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RPRD2 PE=4 SV=2
F1PJM6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MAP7D3 PE=4 SV=2
F1P8L4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAM208B PE=4 SV=2
F1PEV3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DTX3L PE=4 SV=2
E2RR11	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SLC12A1 PE=4 SV=2
J9NY55	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RGAG1 PE=4 SV=1
F1PJH2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAT3 PE=4 SV=2
F1PW92	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TMTC2 PE=4 SV=2
E2QXU0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCDC177 PE=4 SV=1
F1PW98	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KRT8 PE=3 SV=2
E2RKH7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=R3HCC1L PE=4 SV=1
Q9TU04	Integrin beta (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=ITGB2 PE=2 SV=1
E2RHR0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ARFGAP1 PE=4 SV=2
F1P9A1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=VPS13D PE=4 SV=2
Q06SM4	Pinin 2 OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
J9P893	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCR7 PE=3 SV=1
E2QY15	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=UNC13C PE=4 SV=2
F1PHH7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KIAA1324L PE=4 SV=2
J9NXB3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KCNH3 PE=4 SV=1
E2RMC0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ITPR3 PE=4 SV=2
J9P1H0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TBC1D5 PE=4 SV=1
J9NTU6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=YEATS2 PE=4 SV=1
J9NXW1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=IRS2 PE=4 SV=1
J9P755	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=AARS PE=3 SV=1
RPGF2	Rap guanine nucleotide exchange factor 2 OS=Canis lupus familiaris GN=RAPGEF2 PE=1 SV=2
F1PVD0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ARHGAP11A PE=4 SV=2
F6ULQ1	Voltage-dependent T-type calcium channel subunit alpha OS=Canis lupus familiaris GN=CACNA1G PE=3 SV=1
E2RK31	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CEP152 PE=4 SV=2
J9PAM5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
E2RC81	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=POLH PE=4 SV=1
J9NZ58	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
E2RJY9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=JADE3 PE=4 SV=2
J9JHC0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAM186A PE=4 SV=1
E2R9U9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FARP2 PE=4 SV=2
F1PS60	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=COBLL1 PE=4 SV=2
H9GWB1	Histone H2B OS=Canis lupus familiaris GN=LOC106558265 PE=3 SV=1
J9P6H9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GRHL2 PE=4 SV=1
F1PBJ2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=STK10 PE=4 SV=2
F1PKU2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PXDNL PE=4 SV=2
E2RAD4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BUB1 PE=4 SV=2
J9JHB1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NISCH PE=4 SV=1
J9P8B7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RAI1 PE=4 SV=1

F1Q323	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TTLL10 PE=4 SV=2
F1PBA3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MYOCD PE=4 SV=2
J9P446	Olfactory receptor OS=Canis lupus familiaris GN=COR13C13 PE=3 SV=1
F6UU59	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PRCC PE=4 SV=1
F6UQ63	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GAS2L1 PE=4 SV=1
E2RCE4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PASK PE=4 SV=2
F1PSY8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SNX13 PE=4 SV=2
F1PYU9	Keratin, type I cytoskeletal 10 OS=Canis lupus familiaris GN=KRT10 PE=3 SV=2
E2RMX4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CRY1 PE=4 SV=2
F6X834	Histone H2A OS=Canis lupus familiaris GN=H2AFZ PE=3 SV=1
F1P6G1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SVIL PE=4 SV=2
F1PIU2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RDH5 PE=3 SV=2
E2RSC5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TLN2 PE=4 SV=2
E2RK08	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 37 OS=Canis lupus familiaris GN=USP37 PE=3 SV=2
F6XXM1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAT1 PE=3 SV=1
J9NYT7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RASGRF2 PE=4 SV=1
F1PSA2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NLRP5 PE=4 SV=2
J9P0I1	Keratin, type I cytoskeletal 9 OS=Canis lupus familiaris GN=KRT9 PE=3 SV=1
F1PND5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ANKS1A PE=4 SV=2
E2RAI9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ADGRF1 PE=3 SV=2
J9PBL7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FBXO42 PE=4 SV=1
A0M8V2	Suppression of tumorigenicity 7, isoform a (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=ST7 PE=4 SV=1
E2RIW3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NFRKB PE=4 SV=2
F1Q2H7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KIF26B PE=3 SV=2
O77704	Desmocollin type 2 (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=DSC2 PE=2 SV=1
F1PCU6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KIAA1683 PE=4 SV=2
F1Q450	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HECTD4 PE=4 SV=2
J9P4J7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F6X406	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NRG2 PE=4 SV=1
F1PYA6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KIAA0368 PE=4 SV=2
F1PY47	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=AJAP1 PE=4 SV=2
F1PTK2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ANKS1B PE=4 SV=2
E2R698	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NCOA6 PE=4 SV=1
J9P4D0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PCNT PE=4 SV=1
J9P7S0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=USP31 PE=3 SV=1
F6XR48	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LOC100685565 PE=4 SV=1
J9P969	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=AHNAK PE=4 SV=1
F1PA81	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RANBP2 PE=4 SV=2
F1PYA1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=STARD9 PE=3 SV=2
F1PR91	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
F1PCJ4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=XIRP2 PE=4 SV=2
E2RBD1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NOLC1 PE=4 SV=2
E2R150	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KRT24 PE=3 SV=2
E2R7U2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KRT13 PE=3 SV=2
J9NXT6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NEDD4L PE=4 SV=1
E2RDY9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BOD1L1 PE=4 SV=2

J9P0W8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DST PE=4 SV=1
E2R8G0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SHPRH PE=4 SV=2
F1PTX5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ASXL1 PE=4 SV=2
E2R994	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ETAA1 PE=4 SV=2
J9NV26	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
J9NVZ8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BRIP1 PE=4 SV=1
F1PGN3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ASTN2 PE=4 SV=2
J9P1C1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KIF20B PE=3 SV=1
F1P674	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CELF2 PE=4 SV=2
F1P8W5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=COG2 PE=4 SV=2
J9P6I6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=OLIG2 PE=4 SV=1
E2R925	Reticulon OS=Canis lupus familiaris GN=RTN4 PE=4 SV=2
BRD2	Bromodomain-containing protein 2 OS=Canis lupus familiaris GN=BRD2 PE=3 SV=1
E2QXP7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MPHOSPH9 PE=4 SV=2
F1PYB7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CEP162 PE=4 SV=2
F1PST3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LRP4 PE=4 SV=2
F1Q2Z4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SRRM2 PE=4 SV=2
E2R4N3	Midasin OS=Canis lupus familiaris GN=MDN1 PE=3 SV=2
F1PX49	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ADGRG4 PE=3 SV=1
E2RT92	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=AFF4 PE=4 SV=2
F1PI49	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TICAM1 PE=4 SV=2
E2RKG1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CHM PE=4 SV=1
E2QWX9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CEP95 PE=4 SV=2
B7UAM6	BRCA2 (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=BRCA2 PE=4 SV=1
F1Q0H9	Amino acid transporter OS=Canis lupus familiaris GN=SLC1A4 PE=3 SV=2
J9NVL6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAM21C PE=4 SV=1
E2RHS3	Protein phosphatase 1 regulatory subunit OS=Canis lupus familiaris GN=PPP1R12B PE=4 SV=2
F1Q2N0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PCLO PE=4 SV=2
E2RME7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BCOR PE=4 SV=2
J9NWG7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DIP2C PE=4 SV=1
E2QUI2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SLMAP PE=4 SV=2
J9NYY3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
E2REK6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CALM1 PE=4 SV=1
J9P4F0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SACM1L PE=4 SV=1
F1PFI3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PLCB3 PE=4 SV=2
F1PB17	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZDBF2 PE=4 SV=2
F1PJJ8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RTTN PE=4 SV=2
E2REI0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HEATR5A PE=4 SV=2
E2RR69	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DNTTIP2 PE=4 SV=2
E2RDS3	Claudin OS=Canis lupus familiaris GN=CLDN14 PE=3 SV=1
E2RTH7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAM71A PE=4 SV=2
F1PPZ1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LRP1B PE=4 SV=2
F1P615	Amyloid beta A4 protein OS=Canis lupus familiaris GN=APP PE=4 SV=2
E2RHX5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FRMPD1 PE=4 SV=2
E2QWB6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NBEA PE=4 SV=2
F1PLQ4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=YTHDF1 PE=4 SV=2

E2R4S1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZFH4 PE=4 SV=1
F6XY29	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=E2F7 PE=3 SV=1
E2QXA3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ACADVL PE=3 SV=2
E2RRY0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZFYVE16 PE=4 SV=2
F1PXZ5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LMNTD2 PE=4 SV=2
F1PZC6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HRG PE=4 SV=2
J9NW12	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TAOK2 PE=4 SV=1
J9NTU9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NHSL1 PE=4 SV=1
F1PET2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ARHGEF12 PE=4 SV=2
F1PJ53	Oxysterol-binding protein OS=Canis lupus familiaris GN=OSBP2 PE=3 SV=2
F1PPQ9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TMEM234 PE=4 SV=1

Destas 257 proteínas específicas de cães sem cálculo dentário, apenas 37(14%) apresentam caracterização e 220(86%) são proteínas não caracterizadas, como mostra o gráfico 2.

Gráfico 2 – Porcentagem de proteínas específicas de cães sem cálculo dentário caracterizadas (14%) e proteínas não caracterizadas (86%).

Tabela 7 – Proteínas específicas identificadas em cães com cálculo dentário.

Nº de acesso	Nome da proteína
F1PPE5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BOD1L1 PE=4 SV=2
F1PQQ7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NCOR2 PE=4 SV=2
F1PI70	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=B9D2 PE=3 SV=2
E2R0T6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HSPA8 PE=3 SV=1
F1PSJ1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
Q4GX49	Zinc alpha-2-glycoprotein 1 (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=azgp1 PE=2 SV=1
F1PI98	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NCKAP5 PE=4 SV=2
E2RGH9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HECTD1 PE=4 SV=2
E2RF62	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ULK2 PE=4 SV=2

F1PVE1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PHLPP1 PE=4 SV=2
A2SXS6	Calcium-sensing receptor OS=Canis lupus familiaris GN=CASR PE=2 SV=1
E2R9S8	Voltage-dependent T-type calcium channel subunit alpha OS=Canis lupus familiaris GN=CACNA1I PE=3SV=2
E2RD14	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PLEKHA5 PE=4 SV=2
E2RSB9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MSTO1 PE=4 SV=2
J9P7C9	Poly [ADP-ribose] polymerase OS=Canis lupus familiaris GN=PARP14 PE=4 SV=1
E2R141	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=C8B PE=4 SV=1
F1P9Y0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NHSL1 PE=4 SV=2
J9P0U6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NHS PE=4 SV=1
E2RAB8	Multidrug and toxin extrusion protein (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=SLC47A2 PE=3 SV=2
F1P6R1	Phosphatase and actin regulator OS=Canis lupus familiaris GN=PHACTR4 PE=3 SV=2
E2RI37	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZNF318 PE=4 SV=1
F1PQJ4	Anion exchange protein OS=Canis lupus familiaris GN=SLC4A9 PE=3 SV=2
F1PZD3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=EEA1 PE=4 SV=1
H9GW87	Transaldolase OS=Canis lupus familiaris GN=LOC475937 PE=3 SV=1
E2RQ26	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KMT2D PE=3 SV=2
F1P988	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=VPS13D PE=4 SV=2
F1PK60	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TGM3 PE=4 SV=1
F6Y3D7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=WDFY4 PE=4 SV=1
F6UMN8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SETD1A PE=3 SV=1
F1Q455	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PKHD1L1 PE=4 SV=2
H9GWM8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
E2R135	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZNF407 PE=4 SV=2
F1P6H5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ATXN7L1 PE=4 SV=2
F1PSN4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=IQCH PE=4 SV=2
E2RRL5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SLC24A1 PE=3 SV=2
F6V6J5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NEK4 PE=4 SV=1
E2R959	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LOC608027 PE=3 SV=2
E2R8B4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCNB2 PE=3 SV=1
E2QYB1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
F1PNX3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=EPB41L4A PE=4 SV=2
E2RA54	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BRWD3 PE=4 SV=2
F1P8L6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SZT2 PE=4 SV=2
F6XGX8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=APC2 PE=4 SV=1
E2RF44	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TCN1 PE=4 SV=2
J9P2H2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ATR PE=3 SV=1
E2QWG7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=UBN1 PE=4 SV=2
F1PRS3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
F1PQ19	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
F1PRM0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
E2QYD7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CDK5RAP1 PE=3 SV=1
F1PFM0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZCCHC11 PE=4 SV=2
F1PBV5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SNTB2 PE=4 SV=2
E2RCL7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PICALM PE=4 SV=2
J9NZP6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ABCA13 PE=4 SV=1

J9P0A5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RBBP6 PE=4 SV=1
F1P907	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DOCK2 PE=3 SV=2
J9P7A6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1PRR6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TP53BP1 PE=4 SV=2
J9P196	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCDC18 PE=4 SV=1
K22E	Keratin, type II cytoskeletal 2 epidermal OS=Canis lupus familiaris GN=KRT2 PE=2 SV=1
Q0QET4	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=GAPDH PE=2 SV=1
B3VMJ2	Ataxia telangiectasia mutated protein OS=Canis lupus familiaris GN=ATM PE=2 SV=1
F1PAS6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PALM3 PE=4 SV=2
J9NTE9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=UNC80 PE=4 SV=1
F1P7Y5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PCDH9 PE=4 SV=2
J9NZA2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DNM1L PE=3 SV=1
F6UNT4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CEP57L1 PE=4 SV=1
J9P0E3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PRKAR1B PE=4 SV=1
E2QUN6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FOCAD PE=4 SV=2
F6XA80	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LYST PE=4 SV=1
F1PX82	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MCF2 PE=4 SV=2
E2QYQ8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZC2HC1C PE=4 SV=1
F6ULF5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAM83D PE=4 SV=1
J9P7Y3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FLT3 PE=3 SV=1
J9NY52	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=VPS13B PE=4 SV=1
F6V1Y9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TRIM67 PE=4 SV=1
E2RFI5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ARID3B PE=4 SV=2
E2RJD3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FRMD6 PE=4 SV=2
F1PK51	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=IL15RA PE=4 SV=2
F1PEI3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NOL6 PE=4 SV=2
F1PQC8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CMYA5 PE=4 SV=2
F1Q4F1	Oxysterol-binding protein OS=Canis lupus familiaris GN=OSBP PE=3 SV=2
F1PVA2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ADGRV1 PE=4 SV=2
F1PAX2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CP PE=3 SV=2
F1PYF5	Matrix metalloproteinase-9 OS=Canis lupus familiaris GN=MMP9 PE=3 SV=2
J9P7V7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
E2QWJ6	Protein phosphatase 1 regulatory subunit OS=Canis lupus familiaris GN=PPP1R12A PE=4 SV=2
F1PE00	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FBXO43 PE=4 SV=2
E2RDX4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HCFC2 PE=4 SV=1
E2QZV8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CEP250 PE=4 SV=2
F1PHB6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CSTA PE=4 SV=2
E2RR85	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAT4 PE=4 SV=2
ALL1	Major allergen Can f 1 OS=Canis lupus familiaris PE=1 SV=1
E2QSF3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SPATS2 PE=4 SV=1
J9P884	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=VCAN PE=4 SV=1
E2RLU4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=IRS4 PE=4 SV=2
E2RCI4	Hyaluronidase OS=Canis lupus familiaris GN=LOC609321 PE=3 SV=2
J9NTZ2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ATAD5 PE=4 SV=1
F1PT90	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TRIM66 PE=4 SV=2

E2R2M8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PPP1R3A PE=4 SV=1
J9P2D7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=EEA1 PE=4 SV=1
E2R785	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LOC608989 PE=4 SV=2
E2QWQ6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SH2D4A PE=4 SV=1
E2RIB6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NCAPD3 PE=4 SV=2
F1PCY9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PACS1 PE=4 SV=2
F1PLL7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MLIP PE=4 SV=2
Q5I9W4	Protein kinase B (Fragment) OS=Canis lupus familiaris PE=2 SV=1
E2R5I7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZMYM1 PE=4 SV=2
F1P798	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TNR PE=4 SV=2
F1PHF2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PPP1R26 PE=4 SV=2
F1PNG3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CEP350 PE=4 SV=2
F1P6U6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CDH11 PE=4 SV=2
F6XQD6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MAP1B PE=4 SV=1
F1Q0A7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SVEP1 PE=4 SV=2
J9P5G6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1Q3I3	Condensin complex subunit 2 OS=Canis lupus familiaris GN=NCAPH PE=3 SV=2
J9PA89	Uncharacterized protein (Fragment) OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1PWZ7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DCLK1 PE=4 SV=2
E2R8R1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZMYND8 PE=4 SV=2
E2RCN2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=VRK1 PE=3 SV=2
F1PYL8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PECAM1 PE=4 SV=2
F1P6L4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SASH1 PE=4 SV=2
J9P0E7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DENND2A PE=4 SV=1
F1PU46	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PPP1R9A PE=4 SV=2
J9JHY9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NUP153 PE=4 SV=1
F1Q178	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PLEKHG4B PE=4 SV=2
E2R002	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PTGR1 PE=4 SV=2
F1PBT3	Fructose-bisphosphate aldolase OS=Canis lupus familiaris PE=3 SV=2
F1PUR3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TENM1 PE=4 SV=2
E2RH04	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCP110 PE=4 SV=1
F1Q3Y0	Profilin OS=Canis lupus familiaris GN=PFN1 PE=3 SV=1
E2QUN9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
E2R220	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NCOA3 PE=4 SV=1
E2R0N1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TIAM1 PE=4 SV=2
E2RCW6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=EFR3A PE=4 SV=2
F1P6B7	Annexin OS=Canis lupus familiaris GN=ANXA1 PE=3 SV=1
J9P5P6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KMT2C PE=3 SV=1
E2RBG2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ASXL3 PE=4 SV=2
J9P9F0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TSNAXIP1 PE=4 SV=1
F1PNU9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CACNB4 PE=4 SV=1
E2RGP8	Uncharacterized protein (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=PTK2 PE=4 SV=2
F1PGY0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CTNND2 PE=4 SV=2
F1PLT6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FGD5 PE=4 SV=2
F1PBK3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RBL1 PE=4 SV=2
F1PPN4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KCTD3 PE=4 SV=2

F1PBL2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TIAM2 PE=4 SV=2
F6ULU4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PDZD8 PE=4 SV=1
E2QXS8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KANS3 PE=4 SV=2
F1PGM8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
A0A0C5E1H5	Cellular tumor antigen p53 OS=Canis lupus familiaris PE=2 SV=1
F1PLJ6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
J9NYP9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RNF213 PE=4 SV=1
J9P6D2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TACC2 PE=4 SV=1
KV1	Ig kappa chain V region GOM OS=Canis lupus familiaris PE=1 SV=1
F1PUS9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DST PE=4 SV=2
J9P282	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=C22orf31 PE=4 SV=1
E2RHH5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NHSL2 PE=4 SV=2
L7N0B2	Tubulin alpha chain OS=Canis lupus familiaris GN=TUBA1B PE=3 SV=1
Q004B1	Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 isoform 4S OS=Canis lupus familiaris GN=CEACAM1 PE=2 SV=1
F1PYQ4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DNA2 PE=4 SV=2
J9P227	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KIAA1033 PE=4 SV=1
H9GWC2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NARF PE=3 SV=2
F1PQN7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ABTB2 PE=4 SV=2
A0A0A0MPA9	Triadin OS=Canis lupus familiaris GN=TRDN PE=4 SV=1
E2RRI2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GATAD2A PE=4 SV=2
E2RRE1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HBP1 PE=4 SV=2
F1PBM0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ADGRG6 PE=3 SV=2
E2RS10	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=EIF2AK4 PE=4 SV=1
NDKA	Nucleoside diphosphate kinase A OS=Canis lupus familiaris GN=NME1 PE=2 SV=1
F1PCB8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ATMIN PE=4 SV=2
F1PYE3	Heat shock protein 27 kDa beta-1 OS=Canis lupus familiaris GN=HSPB1 PE=3 SV=1
E2RQ48	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CEMIP PE=4 SV=2
J9P0Q4	Serine/threonine-protein kinase PLK OS=Canis lupus familiaris GN=PLK1 PE=3 SV=1
F1PZL0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GSDMA PE=4 SV=2
J9NRG5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SEC31A PE=4 SV=1
F1PS92	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NLRP9 PE=4 SV=2
F1PIG3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZEB1 PE=4 SV=2
F1PMA5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=THSD7A PE=4 SV=2
Q6SL11	Hypoxia-inducible factor 1 alpha subunit (Fragment) OS=Canis lupus familiaris PE=2 SV=1
J9P384	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCDC186 PE=4 SV=1
E2RN40	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PRUNE2 PE=4 SV=2
F6UT09	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SIPA1L1 PE=4 SV=1
J9NSC8	Nibin OS=Canis lupus familiaris GN=NBIN PE=4 SV=1
F1PZK8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DNHD1 PE=4 SV=2
E2RGU4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SLC13A3 PE=4 SV=1
F6XM35	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HUWE1 PE=4 SV=1
J9NXT5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ARHGAP32 PE=4 SV=1
F1PWL0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SNPH PE=4 SV=2
J9NUA5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TMPRSS7 PE=3 SV=1
F1P769	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FBF1 PE=4 SV=2
F1PGE3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PKD2 PE=4 SV=2

J9P127	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TMSB4X PE=4 SV=1
J9NUZ2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DNAH8 PE=4 SV=1
F1PQA7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SHE PE=4 SV=2
F6XIY7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1PRE6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RPTOR PE=4 SV=2
C7G0W1	Interleukin 31 OS=Canis lupus familiaris GN=IL-31 PE=2 SV=1
E2RGU6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=C4orf17 PE=4 SV=2
F1PQ33	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MYO7B PE=4 SV=2
F1PRF8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PDXDC1 PE=4 SV=2
E2QUX2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ABCA1 PE=4 SV=2
Q8MJZ1	Polymeric immunoglobulin receptor (Fragment) OS=Canis lupus familiaris PE=2 SV=1
F1PQK8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=STAB2 PE=4 SV=2
E2QXI3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=AIMP1 PE=4 SV=2
J9P562	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
E2RCJ5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MMRN1 PE=4 SV=1
Q867A1	Laminin alpha 3 (Fragment) OS=Canis lupus familiaris PE=2 SV=1
F1PBZ4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NQO1 PE=4 SV=1
F1PUX3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SRGAP2 PE=4 SV=2
E2RCK4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RB1CC1 PE=4 SV=1
F6Y4R5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PNPLA8 PE=4 SV=1
J9NRW0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SHB PE=4 SV=1
E2R111	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GCFC2 PE=4 SV=2
PEBP1	Phosphatidylethanolamine-binding protein 1 OS=Canis lupus familiaris GN=PEBP1 PE=1 SV=1
F1P780	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=EXPH5 PE=4 SV=1
F6XIT9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ALPK2 PE=4 SV=1
J9P295	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
E2RHX3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SPPL3 PE=4 SV=2
J9P540	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase OS=Canis lupus familiaris GN=LOC477441 PE=3 SV=1
J9P4H9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KRT13 PE=3 SV=1
E2RCS2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RFX5 PE=4 SV=1
J9JHF7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LOC100855540 PE=3 SV=1
J9P992	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MYO18A PE=3 SV=1
E2R0Z7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BTBD10 PE=4 SV=2
F1Q447	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SYBU PE=4 SV=2
E2R266	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MYO9B PE=4 SV=2
J9P9U0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DCDC1 PE=4 SV=1
E2R1X1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NOL10 PE=4 SV=1
F1PYN3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TSPYL1 PE=3 SV=2
COHA1	Collagen alpha-1(XVII) chain OS=Canis lupus familiaris GN=COL17A1 PE=2 SV=2
F1PNC2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FAM217A PE=4 SV=2
F1PSC1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MAP4K4 PE=4 SV=2
E2R498	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCDC88A PE=4 SV=2
F1PVW0	L-lactate dehydrogenase OS=Canis lupus familiaris GN=LOC476882 PE=3 SV=2
F1PAK8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
J9P266	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CAD PE=4 SV=1

J9P7X1	Histone H3 OS=Canis lupus familiaris GN=HIST2H3C PE=3 SV=1
J9P4M1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TOR1AIP1 PE=4 SV=1
F1PBI6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=THBS1 PE=4 SV=2
F1PCZ6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ABLIM2 PE=4 SV=2
F2Y836	CDKN2A interacting protein (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=CDKN2AIP PE=4 SV=1
E2R8C0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ACIN1 PE=4 SV=1
E2QWE9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZNF385D PE=4 SV=2
F1PTL5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=WDR62 PE=4 SV=2
F1Q0I9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=AFAP1L2 PE=4 SV=2
E2QZJ2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MLH3 PE=4 SV=1
F6XPI4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GPR179 PE=4 SV=1
J9P1J2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NCOR1 PE=4 SV=1
J9NV51	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NUP153 PE=4 SV=1
J9P7Q2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCDC187 PE=4 SV=1
E2RHE6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SCYL2 PE=4 SV=2
F1P9N9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=JMJD1C PE=4 SV=2
J9NXP0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TTC3 PE=4 SV=1
E2RAK2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ADGRF5 PE=3 SV=2
F1P7Y7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HTT PE=4 SV=2
J9PAE6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TNRC6A PE=4 SV=1
F1PXT8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SPTBN1 PE=4 SV=2
F2Z4N7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ACTC1 PE=3 SV=1
E2RE65	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=WNK2 PE=4 SV=2
F1Q3L3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CCDC186 PE=4 SV=2
J9P7R7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1PQP1	Oxygen-regulated protein 1 OS=Canis lupus familiaris GN=RP1 PE=4 SV=1
F1PUW7	Amino acid transporter OS=Canis lupus familiaris GN=SLC1A1 PE=3 SV=1
F1P652	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GRIP1 PE=4 SV=2
F1PFV5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PCNX2 PE=4 SV=2
J9P747	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ABCA4 PE=4 SV=1
J9PAQ0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CLASP1 PE=4 SV=1
E2RH08	Oxysterol-binding protein OS=Canis lupus familiaris GN=OSBPL10 PE=3 SV=2
J9P7K2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TRAPPC6A PE=4 SV=1
E2RSB4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NFATC4 PE=4 SV=2
J9P5R7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SEMA3B PE=4 SV=1
J9NZQ0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
J9NRQ4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TRIP12 PE=4 SV=1
E2RDB9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PHLDB2 PE=4 SV=2
E2QZR7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=YTHDC2 PE=4 SV=2
E2QWV3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=UBOX5 PE=4 SV=2
J9NW94	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ALMS1 PE=4 SV=1
J9NYB8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
E2RIV6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ESCO1 PE=4 SV=2
F1Q0P9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=AHCTF1 PE=4 SV=2
E2R9H9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CDK12 PE=4 SV=1
L7N094	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KRT3 PE=3 SV=1

F6XJT6	Phosphoinositide phospholipase C OS=Canis lupus familiaris GN=PLCB4 PE=4 SV=1
F1PGK6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=RAB3IP PE=4 SV=2
E2QUC1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CAMK1G PE=3 SV=1
J9P8M2	Fibronectin OS=Canis lupus familiaris GN=FN1 PE=4 SV=1
F1Q4D5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=POLE PE=4 SV=2
J9NXQ1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MYOF PE=4 SV=1
E2RDF7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PEX6 PE=4 SV=1
F6XAQ7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZNF292 PE=4 SV=1
E2RRW1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ATAD2 PE=4 SV=2
F6X8I2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CEP170 PE=4 SV=1
F1Q0N7	Keratin, type I cytoskeletal 9 OS=Canis lupus familiaris GN=KRT9 PE=3 SV=1
E2RKG5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SCAF11 PE=4 SV=1
F1PFL2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=C17H2orf71 PE=2 SV=2
J9P782	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GTF2F1 PE=4 SV=1
E2RQ88	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=C2CD2L PE=4 SV=2
E2R5T9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ACTN4 PE=4 SV=1
E2R0I9	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase OS=Canis lupus familiaris GN=G6PD PE=3 SV=2
E2R0N4	Olfactory receptor DOPRH02 OS=Canis lupus familiaris GN=OR10K2 PE=3 SV=2
F1PUB3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HEG1 PE=4 SV=2
J9P287	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CDK13 PE=4 SV=1
E2R8T7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CAPN3 PE=3 SV=1
J9NV14	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PARVA PE=4 SV=1
F1PEK4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DSCAML1 PE=4 SV=2
F1PRZ2	Death domain-associated protein 6 OS=Canis lupus familiaris GN=DAXX PE=4 SV=1
E2RRA9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ARHGAP29 PE=4 SV=2
J9P2F8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MAML2 PE=4 SV=1
J9P6J1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MUC1 PE=4 SV=1
F1PJH8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ARHGAP21 PE=4 SV=2
E2QU22	Poly [ADP-ribose] polymerase OS=Canis lupus familiaris GN=TNKS PE=4 SV=1
F1PJ59	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SNED1 PE=4 SV=2
F1Q0K3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MICAL3 PE=4 SV=2
J9P1Y3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1P818	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SART1 PE=4 SV=2
F1PKP9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SCUBE2 PE=4 SV=2
F1PQ97	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=A2ML1 PE=4 SV=2
F1PLR1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CLASP2 PE=4 SV=2
F1PC59	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PRDX6 PE=4 SV=1
J9P8X2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TATDN2 PE=4 SV=1
J9NV61	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=L3MBTL1 PE=4 SV=1
F1Q263	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZNF280D PE=4 SV=2
E2RHY5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MAP3K10 PE=4 SV=2
J9NWD8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HERC1 PE=4 SV=1
F1PBY2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CDK18 PE=4 SV=2
J9NSZ4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
B7UAP0	BRCA2 (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=BRCA2 PE=4 SV=1
J9NSZ6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DNAH8 PE=4 SV=1

F1PBH4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=FSIP1 PE=4 SV=2
E2QWU9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KDM3A PE=4 SV=1
J9NZV9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
J9P3S5	Nucleoside diphosphate kinase OS=Canis lupus familiaris PE=3 SV=1
E2RLW7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TTBK1 PE=4 SV=2
J9P8U3	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
F1P6C4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=OLFM2 PE=4 SV=2
E2R1N6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LRWD1 PE=4 SV=2
F1Q1B2	Phosphoinositide phospholipase C OS=Canis lupus familiaris GN=PLCH2 PE=4 SV=2
E2RKU0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DDX28 PE=4 SV=2

Destas 338 proteínas específicas de cães com cálculo dentário, 53(16%) apresentam caracterização e 285(84%) são proteínas não caracterizadas, como mostra o gráfico 3.

Gráfico 3 – Porcentagem de proteínas específicas de cães com cálculo dentário caracterizadas (16%) e proteínas não caracterizadas (84%).

2.4.4 FUNÇÕES BIOLÓGICAS DAS PROTEÍNAS

Dentre as 758 proteínas únicas encontradas, as 20 mais abundantes tiveram suas funções biológicas analisadas por meio do UniProt (www.uniprot.org), sendo elas: Albumina sérica, Hemoglobina subunidade β , Apolipoproteína A-I, Hemoglobina subunidade α , Proteína S100, Haptoglobina e diversas proteínas não caracterizadas (Uncharacterized protein). Essas proteínas foram relacionadas às funções de transporte, resposta imune, estrutural, regulador enzimático e metabolismo (Tabela 8).

Tabela 8 – Funções das proteínas mais abundantes identificadas.

Funções	Número de acesso/Nome da proteína
Transporte	F2Z4Q6 Serum albumin OS=Canis lupus familiaris GN=ALB PE=3 SV=1
	ALBU Serum albumin OS=Canis lupus familiaris GN=ALB PE=1 SV=3
	HBB Hemoglobin subunit beta OS=Canis lupus familiaris GN=HBB PE=1 SV=1
	J9P430 Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TF PE=3 SV=1
	APOA1 Apolipoprotein A-I OS=Canis lupus familiaris GN=APOA1 PE=1 SV=2
	HBA Hemoglobin subunit alpha OS=Canis lupus familiaris GN=HBA PE=1 SV=1
	F1Q3K7 Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LOC481674 PE=3 SV=2
	F1PBS8 Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LCN1 PE=4 SV=1
Resposta imune	J9P732 Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=3 SV=1
	E2RCC8 Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
	C0LQL0 Protein S100 OS=Canis lupus familiaris GN=S100A8 PE=2 SV=1
	F1PSX2 Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
	F1PCH3 Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=3 SV=2
	HPT Haptoglobin OS=Canis lupus familiaris GN=HP PE=1 SV=2
	F1PR54 Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LTF PE=3 SV=1
Estrutural	F1PQL8 Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ACTG1 PE=3 SV=2
Regulador enzimático	E2R0H6 Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PIP PE=4 SV=2
	F1PGM1 Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=C3 PE=4 SV=2
	F6USN4 Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=LOC611455 PE=4 SV=1
Metabolismo	F1PE28 Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TKT PE=4 SV=2

Em relação às 257 proteínas específicas encontradas em cães sem cálculo dentário, as 20 mais abundantes foram analisadas, sendo elas: Apolipoproteína A-I, Variante de alérgeno Can f 4, Queratina tipo II (citoesqueleto I) e diversas proteínas não caracterizadas (Uncharacterized protein). Essas proteínas foram relacionadas às funções de transporte, resposta imune, transcrição, estrutural, regulador enzimático, metabolismo e transdução de sinal (Tabela 9).

Tabela 9 – Funções das proteínas específicas mais abundantes identificadas em cães sem cálculo dentário.

Funções	Número de acesso/Nome da proteína	
Transporte	APOA1	Apolipoprotein A-I OS=Canis lupus familiaris GN=APOA1 PE=1 SV=2
	A0A067ZW35	Can f 4 variant allergen OS=Canis lupus familiaris PE=2 SV=1
	E2QX44	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SLC29A4 PE=4 SV=1
	E2RSV0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=IPO4 PE=4 SV=2
Resposta imune	E2RF74	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=S1PR3 PE=3 SV=2
	F1PIL9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=IL1RAP PE=4 SV=2
Transcrição	F1PII4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=1
Estrutural	F1PKA4	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MTSS1 PE=4 SV=2
	F1PTY1	Keratin, type II cytoskeletal 1 OS=Canis lupus familiaris GN=KRT1 PE=3 SV=1
Regulador enzimático	E2RKG0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DMKN PE=4 SV=2
	J9P1L8	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=3 SV=1
Metabolismo	E2QW50	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ZNF532 PE=4 SV=1
	E2RTI2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=CHD3 PE=4 SV=1
	F6Y4F1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DCHS1 PE=4 SV=1
	F1PBU5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=SMG1 PE=3 SV=2
	F1Q0K5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=TKFC PE=4 SV=2
Transdução de sinal	F1PSR2	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=DOCK5 PE=3 SV=2
	E2RC60	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=GTPBP2 PE=4 SV=1
Não caracterizada	E2RR25	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=KIAA1107 PE=4 SV=2

E em meio a 338 proteínas específicas encontradas em cães com cálculo dentário, as 20 mais abundantes foram analisadas, sendo elas: Receptor de detecção de cálcio, Canal de cálcio tipo T dependente da voltagem subunidade α , Proteína de extrusão de multidroga e toxina (Fragmento), Regulador de fosfatase e actina, Poli [ADP-ribose] polimerase, Zinco-alfa 2 Glicoproteína (Fragmento) e diversas proteínas não caracterizadas (Uncharacterized protein). Essas proteínas foram relacionadas às funções de transporte, resposta imune, estrutural, regulador enzimático, metabolismo transdução de sinal e transcrição (Tabela 10).

Tabela 10 – Funções das proteínas específicas mais abundantes identificadas em cães com cálculo dentário.

Funções	Número de acesso/Nome da proteína	
Transporte	A2SXS6	Calcium-sensing receptor OS=Canis lupus familiaris GN=CASR PE=2 SV=1
	E2R9S8	Voltage-dependent T-type calcium channel subunit alpha OS=Canis lupus familiaris GN=CACNA1I PE=3 SV=2
	E2RAB8	Multidrug and toxin extrusion protein (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=SLC47A2 PE=3 SV=2
Resposta imune	F1PI70	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=B9D2 PE=3 SV=2
	E2R141	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=C8B PE=4 SV=1
	F1PSJ1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris PE=4 SV=2
Regulador enzimático	E2RGH9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HECTD1 PE=4 SV=2
	F1PVE1	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PHLPP1 PE=4 SV=2
	F1P6R1	Phosphatase and actin regulator OS=Canis lupus familiaris GN=PHACTR4 PE=3 SV=2
Metabolismo	E2R0T6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=HSPA8 PE=3 SV=1
	E2RF62	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=ULK2 PE=4 SV=2
	E2RD14	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=PLEKHA5 PE=4 SV=2
	J9P7C9	Poly [ADP-ribose] polymerase OS=Canis lupus familiaris GN=PARP14 PE=4 SV=1
Transdução de sinal	E2RSB9	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=MSTO1 PE=4 SV=2
Transcrição	F1PQQ7	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NCOR2 PE=4 SV=2
Não caracterizada	F1PPE5	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=BOD1L1 PE=4 SV=2
	Q4GX49	Zinc alpha-2-glycoprotein 1 (Fragment) OS=Canis lupus familiaris GN=azgp1 PE=2 SV=1
	F1PI98	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NCKAP5 PE=4 SV=2
	F1P9Y0	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NHSL1 PE=4 SV=2
	J9P0U6	Uncharacterized protein OS=Canis lupus familiaris GN=NHS PE=4 SV=1

2.4.5 VISUALIZAÇÃO EM GEL SDS-PAGE

Foi observado também a caracterização do perfil proteômico salivar por meio da separação baseada na diferença de peso molecular, utilizando a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) a 12%. As amostras de cães (macho e fêmea) foram comparadas com a de humanos (homem e mulher), onde foi possível visualizar uma menor concentração de proteínas em todo o gel e principalmente na banda 60KDa.

Figura 4. Representação SDS-PAGE de cães (macho e fêmea) comparados com humanos

2.5 DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo caracterizar o proteoma salivar de cães. A coleta de saliva total foi realizada por estimulação mecânica com o auxílio de um dispositivo próprio para tal finalidade. Encontram-se estudos com o uso do dispositivo Salivette® (Sarstedt, Nümbrecht, Germany), (WENGER-RIGGENBACH et al., 2010; DE SOUSA-PEREIRA et al., 2013, 2015), entretanto há algumas desvantagens como, por exemplo, a retenção de substâncias em sua parte absorvente, a qual é composta por algodão, como a adiponectina (TODA; MORIMOTO, 2008), o cortisol, a IgA (STRAZDINS et al., 2005) e a proteína catiônica eosinofílica (WONG et al., 2008). Além disso, foi relatado ainda que o Salivette® retém glicoproteínas e diminui os níveis de proteínas em 60% (KAMODYOVÁ; CELEC, 2011), deste modo o uso deste dispositivo poderia prejudicar os resultados referentes ao perfil proteômico. Outra desvantagem do dispositivo é de que não é possível visualizar imediatamente o volume de saliva coletado, possibilitando-se saber se houve saliva suficiente para as análises somente após a primeira centrifugação quando a saliva retida na parte absorvente do coletor é transferida para o microtubo, esta desvantagem também foi observada por Takagi et al., (2013). Para fazer uso deste dispositivo, demandar-se-ia que as coletas fossem realizadas e centrifugadas imediatamente no mesmo local, fato que não ocorreu neste estudo, pois as coletas foram realizadas na Clínica Veterinária e na casa dos proprietários dos cães. A fim de suprir essa deficiência, o dispositivo utilizado neste estudo foi o Saliva

Collection Device (Oasis Diagnostics® Corporation - Vancouver, WA, EUA), que não utiliza celulose em sua composição (KHURSHID et al., 2016) e permite visualização imediata do volume da saliva através da compressão da parte absorvente no tubo de plástico pertencente ao kit, onde o êmbolo é empurrado firmemente para baixo transferindo a saliva absorvida para o microtubo.

Em relação à coleta, esta apresentou algumas dificuldades. Foi obtido um volume variado de amostra devido a movimentos de defesa do cão, tais como: sacudir a cabeça ou tentar sair do lugar onde estava sendo contido pelo proprietário. Essas dificuldades também foram descritas pelos proprietários de cães no estudo de Wenger-Riggenbach et al. (2010). Desta forma, não foi possível calcular o fluxo salivar dos cães, porque como relatado, houve a necessidade de interrupções da coleta em alguns breves momentos impossibilitando estimar o tempo exato de coleta de cada animal. Além disso, alguns cães se recusaram a abrir a boca e ficaram agressivos, sendo dispensados da coleta. Houve ainda um caso em que o cão não apresentou nenhum fluxo salivar, mesmo com a estimulação mecânica.

O exame clínico visual realizado demonstrou que dos 20 cães analisados, 8 (40%) não apresentaram sinais de cálculo dentário e 12 (60%) apresentaram algum grau de cálculo dentário; estes cães tem em média 4 anos de idade. No que se refere às raças estudadas, as raças Shih tzu e Lhasa apso possuem crânio braquicefálico, conhecido como “cabeça curta” (GIOSO; CARVALHO, 2005), estas raças pequenas apresentam o mesmo número de dentes das raças maiores, e por terem um crânio menor, tendem a apresentar má oclusão, apinhamento dentário e rotação (HARVEY; NIEVES, 1991), o que facilita o acúmulo de cálculo dentário. Sabe-se que o cálculo dentário é um fator predisponente a doença periodontal; que por sua vez, é mais frequente em animais de mais idade (acima de 7 anos) e de porte pequeno (abaixo de 10kg) (VENTURINI, 2006). Apesar de ter sido observado que 60% dos cães participantes do estudo apresentavam algum sinal de cálculo dentário, não foi possível fazer uma avaliação clínica completa, pois se evitou anestesiá-los ou sedar os cães para a coleta de saliva e avaliação periodontal, devido aos riscos de morte no período pós-operatório, os quais foram descritos como de 47% no estudo de Brodbelt et al., (2008) e de 70% (81/115) no estudo de Matthews et al., (2017), sendo que 60% (69/115) das mortes deste último estudo ocorreram após a saída do hospital.

Ao ser realizada a quantificação de proteínas totais e posteriormente, a comparação entre os grupos com e sem cálculo dentário, não foram identificadas diferenças estatisticamente significante ($p=0,892$), o que pode comprovar a similaridade de condições em que o estudo foi realizado. Após a quantificação e preparo das amostras para análise por

espectrometria de massas, os resultados obtidos apresentaram que das 758 proteínas únicas identificadas na saliva dos cães participantes, apenas 18% das proteínas já foram caracterizadas e a grande maioria (82%) não possuem caracterização nem nome definido, algumas delas apresentam apenas funções biológicas. Ainda que tenham sido realizados experimentos iniciais com 20 cães e apenas 2 raças, a identificação destas proteínas na saliva dos cães amplia o número total de proteínas salivares únicas vistas, uma vez que no estudo de Sousa-Pereira et al. em 2015, identificaram no cão apenas 249 proteínas.

Todavia, foram comparadas as proteínas mais abundantes encontradas no estudo de Sousa-Pereira et al., (2015) com as que estão relatadas neste trabalho, e observou-se 10 proteínas em comum, sendo que 4 estão presentes em todos os cães, 3 apenas em cães saudáveis e 3 apenas em cães com cálculo dentário. Entretanto, não há descrição sobre a saúde bucal dos animais avaliados no estudo de Sousa-Pereira (2015) e nem das funções das proteínas. Já neste estudo, as funções biológicas mais desempenhadas pelas proteínas mais abundantes identificadas foram de: transporte, resposta imune, estrutural, regulador enzimático e metabolismo, e algumas proteínas desempenham funções ainda desconhecidas.

Dentre as proteínas únicas identificadas, notou-se a presença da albumina sérica na amostra de todos os cães, isso se deve ao fato que, como descrito em humanos, um pequeno volume de fluido crevicular gengival que entra na cavidade oral mesmo em indivíduos saudáveis, ou seja, livres de gengivite, faz com que resulte na mensuração de níveis deste componente do soro na saliva (OPPENHEIM, 2008). Outros componentes do soro também foram identificados na saliva dos cães deste estudo, entre eles estão a Hemoglobina subunidade β , Apolipoproteína A-I, Hemoglobina subunidade α e Haptoglobina.

Houve ainda a identificação da presença das proteínas mucina e lisozima C. As mucinas são glicoproteínas de alto peso molecular com uma estrutura alongada que contribuem significativamente para o comportamento viscoelástico da saliva (CARPENTER, 2013), também desempenham uma função antibacteriana modulando seletivamente a adesão de microrganismos a superfícies do tecido oral, o que contribui para o controle da colonização bacteriana e fúngica (HUMPHREY; WILLIAMSON, 2001). Já as lisozimas, são enzimas com atividades hidrolíticas, ou seja, promovem a lise celular nas bactérias (IDE et al., 2016), visto que bioquimicamente hidrolisam a ligação β -1,4 entre resíduos do ácido N-acetilmurâmico (Mur2Ac) e N-Acetil-D-glucosamina (GlcNAc) de peptidoglicano bacteriano, o qual é parte essencial das paredes celulares bacterianas, proporciona rigidez estrutural e neutraliza a pressão osmótica do citoplasma (YU et al., 2013). Por esta razão, a lisozima é

considerada um antibiótico natural e uma parte importante do sistema imune inato (PRAGER; JOLLES, 1996; MAGNADOTTIR, 2006; YU et al., 2013). As lisozimas do tipo C, como as identificadas, são as principais lisozimas produzidas por vertebrados (CALLEWAERT; MICHELS, 2010).

Foram avaliadas também as proteínas de acordo com a condição da saúde bucal como descrito na metodologia. Não existem trabalhos descritos até o presente momento na literatura relacionando o cálculo dentário com a saliva de cães, por isso, este estudo é pioneiro nessa avaliação. As proteínas mais abundantes do grupo dos cães sem cálculo dentário são, em sua maioria, proteínas específicas capazes de participarem do metabolismo, enquanto no grupo com cálculo dentário, a maioria apresentaram funções ainda desconhecidas.

Em meio às proteínas específicas de cães sem cálculo dentário, observou-se a presença da proteína receptor 1 de esfingosina-1-fosfato (S1P1). Esta proteína é altamente expressa em humanos nas células endoteliais, no cérebro, no coração e nas células do sistema imune (GOETZL; AN, 1998; ZHANG et al., 1999); encontra-se acoplada à proteína G e se liga a esfingosina-1-fosfato, a qual é um esfingolípido bioativo que se comporta como mensageiro intracelular de algumas citocinas e também como mediador extracelular autócrino e parácrino (LEMOES, 2014). Além disso, a esfingosina-1-fosfato estimula eventos de sinalização intracelular, como ativação de fosfolipase C, aumento da concentração de cálcio citoplasmático, regulação da adenilato ciclase, ativação da via das MAP quinase e da cascata de Rho (MURATA et al., 2000). Quando ligados, participam de diversos processos celulares como proliferação, diferenciação, adesão, motilidade, angiogênese, apoptose, migração, morfogênese e mudanças no citoesqueleto (OKAJIMA, 2002; ALLENDE et al., 2004). Identificou-se ainda a proteína canal de cálcio tipo T dependente da voltagem subunidade α (gene CACNA1G), no entanto, a mesma proteína, mas com o gene CACNA1I também foi identificada na saliva de cães com cálculo dentário. Acredita-se que as proteínas de canais de cálcio do tipo T desempenhem papéis importantes na atividade neuronal, tendo sido descritas em estudos com ratos (LEE et al., 1999) e humanos (MURBARTIÁN et al., 2002); contudo não há relatos na literatura relacionando estas proteínas com a saliva de cães.

Sobre as proteínas específicas identificadas em cães com presença de cálculo dentário, uma das mais abundantes foi o receptor de detecção de cálcio (CaSR), cuja função é transportadora. Em humanos, o CaSR é um receptor acoplado à proteína G que detecta os níveis extracelulares de cálcio (Ca^{2+}), o qual é expresso nas membranas plasmáticas de uma ampla variedade de tecidos epiteliais incluindo paratireoide, rim e trato gastrointestinal (VEZZOLI; SOLDATI; GAMBARO, 2009; BANDYOPADHYAY et al., 2012). No estudo

de Bandyopadhyay et al., (2012), sugere-se que a entrada de Ca^{2+} regulada pela CaSR através da membrana apical nos ductos celulares representa um potencial mecanismo de reabsorção de Ca^{2+} que pode explicar a diminuição da concentração de Ca^{2+} na saliva primária à medida que flui para baixo no sistema ductal. Todavia, um aumento descontrolado da concentração de Ca^{2+} na saliva ductal poderia contribuir para a formação de cálculos nas glândulas salivares, que consiste essencialmente em fosfato de cálcio. Também é importante notar que no rim, a formação de cálculos está associada a alterações na reabsorção de cálcio, gerando hipercalcemia (VEZZOLI; SOLDATI; GAMBARO, 2009; BANDYOPADHYAY et al., 2012). Anteriormente, o estudo de Mathias et al., (2001) fornece evidências sobre a CaSR em diferentes estágios do desenvolvimento dentário em humanos. Ainda assim, pesquisas adicionais são necessárias para entender melhor a relevância da CaSR para os processos fisiológicos e fisiopatológicos humanos, visto que é expressa em um número considerável de tecidos humanos (VEZZOLI; SOLDATI; GAMBARO, 2009). Ademais, o papel desta proteína necessita de estudos direcionados aos cães, pois ela pode ou não estar relacionada com a presença de cálculo dentário em cães, uma vez que foi identificada somente no grupo de cães com cálculo dentário. Ainda em relação às proteínas relacionadas aos cães com cálculo dentário, observou-se a presença de fragmentos da proteína receptor polimérico de imunoglobulina (pIgR), a qual foi descrita em saliva humana tendo a função de transportadora de IgA, o principal anticorpo salivar (CARPENTER, 2013).

Nos últimos anos têm sido realizados diversos estudos sobre análise proteômica, entre estes estudos está o de Sousa-Pereira et al., (2015), onde analisaram o proteoma salivar de diferentes mamíferos, incluindo os cães, no qual identificaram dentre outras proteínas, a proteína α -amilase. Além disso, o mesmo estudo identificou as proteínas estaterina e histatinas apenas na saliva de humanos. No presente estudo não foi encontrada a α -amilase, acredita-se que devido à dieta, os cães não possuem esta proteína e por serem naturalmente carnívoros não necessitam de amilase salivar, esta hipótese é confirmada nos estudos de Arendt et al., (2014) e Boehlke; Zierau; Hannig, (2015). A estaterina é uma proteína salivar que apresenta uma forte afinidade para a ligação com hidroxiapatita (HA) (OPPENHEIM et al., 2007), esta proteína possui o maior potencial de inibição da precipitação com fosfato de cálcio e, assim, acredita-se ser a principal proteína relacionada com a manutenção da saliva no estado supersaturado (NANCOLLAS; MOHAN, 1970). Este estado supersaturado na saliva é de substancial importância para o entendimento do mecanismo fisiológico do hospedeiro, pois está relacionado com os processos de prevenção das fases iniciais da cárie dentária e fatores contribuintes locais que levam ao desenvolvimento da doença periodontal, como por exemplo,

a formação de cálculo dentário. Já as histatinas, além das propriedades antifúngicas (KONOPKA et al., 2010), possuem atividades antibacterianas (GUSMAN et al., 2001; DE SOUSA-PEREIRA et al., 2013), participação na formação da película adquirida, proteção contra o processo de desmineralização (SIQUEIRA et al., 2010) e possível efeito cicatricial (OUDHOFF et al., 2009). Essas proteínas não foram identificadas neste estudo, fato que pode estar relacionado a duas hipóteses. A primeira seria que os cães não possuem essas proteínas, o que corrobora com o estudo de Sousa-Pereira et al., (2015), uma vez que estas proteínas foram encontrados apenas em humanos. Contudo, a presença da caseína em todas as espécies estudadas, exceto em humanos, por de Sousa-Pereira et al., (2015) pode revelar uma estratégia adaptativa estabelecida por estas espécies para suprir a ausência da estaterina e histatinas, já que na cavidade oral a caseína parece prevenir a adesão de componentes salivares e bactérias no esmalte dentário, protegendo os tecidos duros (DE SOUSA-PEREIRA et al., 2015). A caseína também não foi identificada no presente estudo, porém isto poderia estar relacionado à segunda hipótese: de que essas proteínas/peptídeos estaterina e histatina façam complexos com outras proteínas, ou ainda, as proteínas de maior abundância encontradas neste estudo como a albumina e hemoglobina, mascarariam a presença desses peptídeos ou de outros que possam ter funções similares e não foram identificados. A alternativa para a possível identificação seria analisar a saliva por meio da separação baseada na diferença de peso molecular, utilizando a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) a 12% seguida pela digestão no gel, a qual promove uma identificação mais clara dos seus componentes proteicos, onde o gel seria dividido em bandas maiores e menores de acordo com a concentração das proteínas, e então seriam avaliadas conforme o seu peso molecular, com o auxílio da espectrometria de massa.

Com relação ao gel de eletroforese SDS-PAGE realizado, foram visualmente observadas diferenças nas proteínas encontradas na saliva de cães (macho e fêmea) quando comparadas com a saliva de humanos (homem e mulher), sendo que nos cães foi possível observar uma menor concentração de proteínas em todo o gel. No entanto, não foram realizadas análises das bandas, a figura 4 representa apenas a aparência do gel SDS-PAGE após ser submetido à eletroforese e corado com azul-de-Coomassie.

Uma limitação do presente estudo é de ter sido realizado apenas a caracterização das proteínas salivares. Estudos futuros são necessários para a avaliação de parâmetros como os valores de pH, que podem variar de acordo com a concentração de cálcio e fosfato (DAWES, 2003; AHMADI-MOTAMAYEL et al., 2016) e determinação da atividade tampão de cada amostra de saliva coletada. Devido à presença de bicarbonato/carbonato e, em menor

extensão, íons de fosfato e as proteínas, a saliva tem uma capacidade de tamponamento, podendo neutralizar ácidos produzidos na cavidade oral ou ingeridos (AHMADI-MOTAMAYEL et al., 2016). Contudo, as suas concentrações e capacidade de tampão são dependentes da velocidade à qual a saliva é produzida (BARDOW et al., 2000). Deverá ainda ser realizada a quantificação dos eletrólitos como cálcio e fosfato, que participam da formação do cálculo dentário e de processos de desmineralização e remineralização do esmalte dentário; e também sódio, potássio, zinco e magnésio, que participam do metabolismo das glândulas salivares (SIQUEIRA et al., 2004, 2007). Esses dados podem sugerir uma correlação positiva ou negativa quando comparados entre os cães com ou sem cálculo dentário.

Sendo assim, este trabalho abre novas fronteiras para a correlação das proteínas salivares com a formação do cálculo dentário em cães, assim como aumenta o número de proteínas salivares vistas até o presente momento.

2.6 CONCLUSÃO

Neste presente estudo foi caracterizado o perfil proteômico de cães com identificação de 758 proteínas únicas, apresentando funções como de transporte, resposta imune, estrutural, regulação enzimática, metabolismo e algumas proteínas desempenham funções ainda desconhecidas.

2.7 REFERÊNCIAS

- AEBERSOLD, R.; GOODLETT, D. R. Mass Spectrometry in Proteomics. **Chem Rev.**, v. 2, n. 101, p. 269–96, 2001.
- AHMADI-MOTAMAYEL, F. et al. Comparison of salivary pH, buffering capacity and alkaline phosphatase in smokers and healthy non-smokers: Retrospective cohort study. **Sultan Qaboos University Medical Journal**, v. 16, n. 3, p. e317–e321, 2016.
- ALESSIO, T. L.; KRIEGER, E. M. Transient unilateral vision loss in a dog following inadvertent intravitreal injection of bupivacaine during a dental procedure. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 246, n. 9, p. 990–993, 2015.
- ALLENDE, M. L. et al. Expression of the Sphingosine 1-Phosphate Receptor, S1P1, on T-cells Controls Thymic Emigration. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 15, p. 15396–15401, 2004.
- ARENDT, M. et al. Amylase activity is associated with AMY2B copy numbers in dog: Implications for dog domestication, diet and diabetes. **Animal Genetics**, v. 45, n. 5, p. 716–722, 2014.

BANDYOPADHYAY, B. C. et al. Extracellular Ca^{2+} sensing in salivary ductal cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 287, n. 36, p. 30305–30316, 2012.

BARDOW, A. et al. The buffer capacity and buffer systems of human whole saliva measured without loss of CO_2 . **Archives of Oral Biology**, v. 45, n. 1, p. 1–12, 2000.

BOEHLKE, C.; ZIERAU, O.; HANNIG, C. **Salivary amylase - The enzyme of unspecialized euryphagous animals** *Archives of Oral Biology*, 2015.

BORAH, B. M. et al. Kinetics of canine dental calculus crystallization: An in vitro study on the influence of inorganic components of canine saliva. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 425, p. 20–26, 2014.

BRODBELT, D. C. et al. The risk of death: The confidential enquiry into perioperative small animal fatalities. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 35, n. 5, p. 365–373, 2008.

CALLEWAERT, L.; MICHIELS, C. W. Lysozymes in the animal kingdom. **J Biosci**, v. 35, n. 1, p. 127–160, 2010.

CAMARGO, A.; NOVAIS, A. A.; JÚNIOR, D. F. Doença Periodontal em Cães e Gatos Atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Mato Grosso , Campus de Sinop , MT Periodontal Disease in Dogs and Cats Referred to the Veterinary Hospital of UFMT , Campus Sinop , MT. v. 3, n. Id, p. 16–24, 2015.

CARPENTER, G. H. The Secretion, Components, and Properties of Saliva. **Annu. Rev. Food Sci. Technol**, v. 4, p. 267–76, 2013.

CLELAND, W. P. Opportunities and obstacles in veterinary dental drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 50, n. 3, p. 261–275, 2001.

COIGNOUL, E.; CHEVILLE, N. Calcified microbial plaque. Dental calculus of dogs. **The American journal of pathology**, v. 117, n. 3, p. 499–501, 1984.

DAWES, C. What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? **Journal (Canadian Dental Association)**, v. 69, n. 11, p. 722–724, 2003.

DE MEIJER, L. M. et al. [Veterinary dentistry in dogs and cats; a survey among veterinarians]. **Tijdschr Diergeneeskde**, v. 116, n. 15–16, p. 777–781, 1991.

DE SOUSA-PEREIRA, P. et al. An evolutionary perspective of mammal salivary peptide families: Cystatins, histatins, statherin and PRPs. **Archives of Oral Biology**, v. 58, n. 5, p. 451–458, 2013.

DE SOUSA-PEREIRA, P. et al. Evolution of C, D and S-type cystatins in mammals: An extensive gene duplication in primates. **PLoS ONE**, v. 9, n. 10, p. 1–7, 2014.

DE SOUSA-PEREIRA, P. et al. Cross-species comparison of mammalian saliva using an LC-MALDI based proteomic approach. **Proteomics**, v. 15, n. 9, p. 1598–1607, 2015.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. . **Tratado de anatomia veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Ltd, 2010.

EMILY P., PENMAN S. **Handbook of small animal dentistry**. 2.ed. Oxford: Pergamon, 1994. 117p.

- EMILY P. Diagnóstico e profilaxia de uma periodontopatia. In: BOJRAB, M.J. (Eds). **Técnicas atuais em cirurgia de pequenos animais**. 3.ed. São Paulo: Roca, p.158-162, 1996.
- FERNANDES, N. A. et al. Prevalence of periodontal disease in dogs and owners' level of awareness - a prospective clinical trial. **Revista Ceres**, v. 59, n. 4, p. 446–451, 2012.
- GIOSO, M. A.; CARVALHO, V. G. G. Oral anatomy of the dog and cat in veterinary dentistry practice. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 35, n. 4 SPEC. ISS., p. 763–780, 2005.
- GOETZL, E. J.; AN, S. Diversity of cellular receptors and functions for the lysophospholipid growth factors lysophosphatidic acid and sphingosine 1-phosphate. **FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 12, n. 15, p. 1589–98, 1998.
- GUSMAN, H. et al. Salivary histatin 5 is an inhibitor of both host and bacterial enzymes implicated in periodontal disease. **Infection and Immunity**, v. 69, n. 3, p. 1402–1408, 2001.
- HARVEY, C. E. Periodontal disease in dogs. Etiopathogenesis, prevalence, and significance. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**, v. 28, n. 5, p. 1111–28, vi, 1998.
- HARVEY, C. E.; NIEVES, M. A. Perspectives on veterinary dental care: issues and answers. **Small Animal Scope**, v. 11, n. 1, p. 12–15, 1991.
- HELMERHORST, E. J.; OPPENHEIM, F. G. Saliva: a Dynamic Proteome. **J Dent Res**, v. 86, n. 8, p. 680–693, 2007.
- HENNET, P. R.; DELILLE, B.; DAVOT, J. L. Oral malodor measurements on a tooth surface of dogs with gingivitis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 59, n. 3, p. 255–257, 1998.
- HUMPHREY, S. P.; WILLIAMSON, R. T. A review of saliva: normal composition, flow, and function. **The Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 2, n. 85, p. 162–9, 2001.
- IDE, M. et al. Relationship between salivary immunoglobulin a , lactoferrin and lysozyme flow rates and lifestyle factors in Japanese children : a cross-sectional study. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 0, n. 0, p. 000, 2016.
- JEPSEN, S. et al. Calculus removal and the prevention of its formation. **Periodontology** 2000, v. 55, n. 1, p. 167–188, 2011.
- KAMODYOVÁ, N.; CELEC, P. Salivary markers of oxidative stress and Salivette collection systems. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 49, n. 11, p. 1887–1890, 2011.
- KHURSHID, Z. et al. Human saliva collection devices for proteomics: An update. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 6, 2016.
- KONOPKA, K. et al. Susceptibility of Candida biofilms to histatin 5 and fluconazole. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 97, n. 4, p. 413–417, 2010.
- LAMY, E. et al. Sheep and goat saliva proteome analysis: a useful tool for ingestive behavior research? **Physiology & behavior**, v. 98, n. 4, p. 393–401, 2009.
- LARMAS, M.; SCHEININ, A. Studies on dog saliva. I. Some physico-chemical

characteristics. **Acta Odontol Scand.**, v. 2, n. 29, p. 205–14, 1971.

LEE, J. H. et al. Cloning and expression of a novel member of the low voltage-activated T-type calcium channel family. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 19, n. 6, p. 1912–21, 1999.

LEE, Y. H. et al. Proteomic Evaluation of Acquired Enamel Pellicle during In Vivo Formation. **PLoS ONE**, v. 8, n. 7, 2013.

LEGEROS, R. Z.; SHANNON, I. L. The Crystalline Components of Dental Calculi: Human vs. Dog. **Journal of Dental Research**, v. 58, n. 12, p. 2371–2377, 1979.

LE MOS, J. P. **Papel do receptor 1 de esfingosina-1-fosfato nos distúrbios de migração celular intratímica em camundongos NOD**. Rio de Janeiro; 2014: 103f. Dissertação (Mestrado) Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular. Disponível em: < http://157.86.8.8/reports/mestrado_bibcb/julia_lemos_ioc_mest_2014.pdf>. Acesso em: 3 abril 2017.

LENDENMANN, U.; GROGAN, J.; OPPENHEIM, F. G. Saliva and dental pellicle--a review. **Advances in dental research**, v. 14, p. 22–28, 2000.

LORENZO, M. A. DE et al. Incidência de cálculo dentário e doença periodontal por grupo dentário, arcada dentária e faixa etária em cães da raça Beagle. v. 9732, p. 275–283, 2014.

MAGNADOTTIR, B. Innate immunity of fish (overview). *Fish and Shellfish Immunology*. Feb;20(2):137-51, 2006.

MATHIAS, R. S. et al. Identification of the calcium-sensing receptor in the developing tooth organ. **Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research**, v. 16, n. 12, p. 2238–44, 2001.

MATTHEWS, N. S. et al. Small Animals & Exotic Factors associated with anesthetic-related death in dogs and cats in primary care veterinary hospitals. v. 250, n. 6, p. 655–665, 2017.

MURATA, N. et al. Interaction of sphingosine 1-phosphate with plasma components, including lipoproteins, regulates the lipid receptor-mediated actions. **The Biochemical journal**, v. 352 Pt 3, p. 809–15, 2000.

MURBARTIÁN, J. et al. Alternative splicing of the rat Cav3.3 T-type calcium channel gene produces variants with distinct functional properties. **FEBS Letters**, v. 528, n. 1–3, p. 272–278, 2002.

NANCOLLAS, G. H.; MOHAN, M. S. The growth of hydroxyapatite crystals. **Archives of Oral Biology**, v. 15, n. 8, p. 731–745, 1970.

OKAJIMA, F. Plasma lipoproteins behave as carriers of extracellular sphingosine 1-phosphate: Is this an atherogenic mediator or an anti-atherogenic mediator? **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**, 2002.

OPPENHEIM, F. G. et al. Salivary proteome and its genetic polymorphisms. **Ann N Y Acad Sci**. Mar;1098:22-50, 2007.

OPPENHEIM F.G. Historial perspectives and present. In: Wong D.T. **Salivary Diagnostics**. Iowa – EUA: Wiley-Blackwell, 2008. Cap. 2, p. 81.

LOUDHOFF, M. J. et al. Structure-activity analysis of histatin, a potent wound healing peptide from human saliva: cyclization of histatin potentiates molar activity 1,000-fold. **The FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 23, p. 3928–3935, 2009.

PINTO, A. B. F. et al. Tripolifosfato de sódio e hexametáfosfato de sódio na prevenção do cálculo dentário em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 6, p. 1426–1431, 2008.

PRAGER, E. M.; JOLLES, P. Animal lysozymes c and g: an overview. **EXS**, v. 75, p. 9–31, 1996.

ROBERTS-HARRY, E. A; CLEREHUGH, V. Subgingival calculus: where are we now? A comparative review. **Journal of Dentistry**, v. 28, n. 2, p. 93–102, 2000.

ROSENBERG, H. M.; REHFELD, C. E.; EMMERING, T. E. A method for the epidemiologic assessment of periodontal health-disease state in a beagle hound colony. **J Periodontol**, v. 3, p. 208–213, 1966.

SCHIPPER, R. G.; SILLETTI, E.; VINGERHOEDS, M. H. Saliva as research material: Biochemical, physicochemical and practical aspects. **Archives of Oral Biology**, v. 52, n. 12, p. 1114–1135, 2007.

SIQUEIRA, W. L. et al. Electrolyte concentrations in saliva of children aged 6-10 years with Down syndrome. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, v. 98, n. 1, p. 76–79, 2004.

SIQUEIRA, W. L. et al. Salivary parameters in infants aged 12 to 60 months with Down syndrome. **Special Care in Dentistry**, v. 27, n. 5, p. 202–205, 2007.

SIQUEIRA, W. L.; OPPENHEIM, F. G. Small molecular weight proteins/peptides present in the in vivo formed human acquired enamel pellicle. **Arch Oral Biol.**, v. 5, n. 54, p. 437–44, 2009.

SIQUEIRA, W. L. et al. Evidence of intact histatins in the in vivo acquired enamel pellicle. **J Dent Res.**, v. 6, n. 89, p. 626–30, 2010.

SIQUEIRA, W. L. et al. Quantitative proteomic analysis of the effect of fluoride on the acquired enamel pellicle. **PLoS ONE**, v. 7, n. 8, 2012.

SIQUEIRA, W. L.; CUSTODIO, W.; MCDONALD, E. E. New insights into the composition and functions of the acquired enamel pellicle. **J Dent Res**, v. 91, n. 12, p. 1110–1118, 2012.

STRAZDINS, L. et al. Impact of saliva collection methods on sIgA and cortisol assays and acceptability to participants. **Journal of Immunological Methods**, v. 307, n. 1–2, p. 167–171, 2005.

TAKAGI, K. et al. Development of a saliva collection device for use in the field. **Clinica Chimica Acta**, v. 425, p. 181–185, 2013.

TODA, M.; MORIMOTO, K. Comparison of saliva sampling methods for measurement of salivary adiponectin levels. **Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation**, v. 68, n. 8, p. 823–825, 2008.

VENTURINI, M.A.F.A. **Estudo retrospectivo de 3055 animais atendidos no ODONTOVET (Centro Odontológico Veterinário) durante 44 meses.** São Paulo. 2006, 103 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10137/tde-14052007-081635/pt-br.php>>. Acesso em: 3 abril 2017.

VEZZOLI, G.; SOLDATI, L.; GAMBARO, G. Roles of calcium-sensing receptor (CaSR) in renal mineral ion transport. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 10, n. 3, p. 302–310, 2009.

WEIDNER, S.; PROBST, A.; KNEISSL, S. MR Anatomy of Salivary Glands in the Dog. **Journal of Veterinary Medicine Series C: Anatomia Histologia Embryologia**, v. 41, n. 2, p. 149–153, 2012.

WENGER-RIGGENBACH, B. et al. Salivary cortisol concentrations in healthy dogs and dogs with hypercortisolism. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n. 3, p. 551–556, 2010.

WONG, T. Y. et al. The effect of cotton-based collection methods on eosinophil cationic protein (ECP) concentrations detected in saliva. **Journal of asthma and allergy**, v. 1, p. 45–48, 2008.

XIAO, Y. et al. Hydroxyapatite Growth Inhibition Effect of Pellicle Statherin Peptides. **Journal of Dental Research**, v. 94, n. 8, p. 1106–1112, 2015.

YAMAMOTO, K. C. M. et al. Avaliação fisiológica e comportamental de cães utilizados em terapia assistida por animais (TAA). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 3, p. 568–576, 2012.

YU, L. P. et al. Characterization of a c-type lysozyme of *Scophthalmus maximus*: Expression, activity, and antibacterial effect. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 34, n. 1, p. 46–54, 2013.

ZHANG, G. et al. Comparative analysis of three murine G-protein coupled receptors activated by sphingosine-1-phosphate. **Gene**, v. 227, p. 89–99, 1999.

ZIMMERMAN, J. N. et al. Proteome and peptidome of human acquired enamel pellicle on deciduous teeth. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 1, p. 920–934, 2013.

3 Discussão

3 DISCUSSÃO

O propósito deste estudo inédito foi a caracterização do perfil proteômico da saliva de cães. Para tanto foi feita a coleta de saliva total por estimulação mecânica com o auxílio de um kit próprio para tal finalidade, o Saliva Collection Device (Oasis Diagnostics® Corporation - Vancouver, WA, EUA). Apesar do Salivette® (Sarstedt, Nümbrecht, Germany) ser muito utilizado para esta finalidade, Wenger-Riggenbach et al., (2010); de Sousa-Pereira et al., (2013; 2015), este não foi usado no presente estudo pelas desvantagens relatadas na literatura. Entre elas a retenção de substâncias em sua parte absorvente que é composta por algodão, substâncias como a adiponectina, o cortisol, a IgA e a proteína catiônica eosinofílica como foi descrito pelos estudos de Strazdins et al., (2005); Wong et al., (2008); Toda; Morimoto, (2008). Além disso, Kamodyová; Celec, (2011) relataram que o Salivette® retém glicoproteínas e diminui os níveis de proteínas em 60%, condição esta que poderia prejudicar os resultados referentes ao perfil proteômico. Soma-se a estas, o fato de que não é possível visualizar imediatamente o volume de saliva coletado, sendo que isto ocorrerá somente após a primeira centrifugação, quando a saliva retida na parte absorvente do coletor é transferida para o microtubo, condição esta relatada no estudo de Takagi et al., (2013). Para fazer uso deste dispositivo, demandar-se-ia que as coletas fossem realizadas e centrifugadas imediatamente, no mesmo local, fato que não ocorreu neste estudo, pois as coletas foram realizadas numa Clínica Veterinária e em alguns casos, na casa dos proprietários dos animais. O kit Saliva Collection Device (Oasis Diagnostics® Corporation - Vancouver, WA, EUA) utilizado no presente estudo, que não utiliza celulose em sua composição (KHURSHID et al., 2016) permite a visualização imediata do volume da saliva por meio da compressão da parte absorvente no tubo de plástico pertencente ao kit, onde o êmbolo é empurrado firmemente para baixo transferindo a saliva absorvida para o microtubo.

Tal qual ocorreu na coleta de saliva de cães deste trabalho, Wenger-Riggenbach et al. (2010) relatou em seu estudo, o volume variado de amostra devido a movimentos de defesa dos cães, tais como: sacudir a cabeça ou tentar sair do lugar onde estava sendo contido pelo proprietário. Desta forma, não foi possível calcular o fluxo salivar dos cães, porque como relatado, houve a necessidade de interrupções da coleta em alguns breves momentos impossibilitando estimar o tempo exato de coleta de cada animal.

O exame clínico visual realizado demonstrou que dos 20 cães analisados, 8 (40%) não apresentaram sinais de cálculo dentário e 12 (60%) apresentaram algum grau de cálculo dentário; estes cães tinham em média 4 anos de idade. No que se refere às raças estudadas, as

raças Shih tzu e Lhasa apso possuem crânio braquicefálico, conhecido como “cabeça curta” (GISO; CARVALHO, 2005), estas raças pequenas apresentam o mesmo número de dentes das raças maiores, e por terem um crânio menor, tendem a apresentar má oclusão, apinhamento dentário e rotação (HARVEY; NIEVES, 1991), o que facilita o acúmulo de cálculo dentário. Sabe-se que o cálculo dentário é um fator predisponente a doença periodontal; que por sua vez, é mais frequente em animais de mais idade (acima de 7 anos) e de porte pequeno (abaixo de 10kg) (VENTURINI, 2006). Apesar de ter sido observado que 60% dos cães participantes do estudo apresentavam algum sinal de cálculo dentário, não foi possível fazer uma avaliação clínica completa, pois se evitou anestesiá-los ou sedar os cães para a coleta de saliva e avaliação periodontal, devido aos riscos no período pós-operatório, os quais foram descritos como de 47% no estudo de Brodbelt et al., (2008) e de 70% (81/115) no estudo de Matthews et al., (2017), sendo que 60% (69/115) das mortes deste último estudo ocorreram após a saída do hospital.

Ao ser realizada a quantificação de proteínas totais e posteriormente, a comparação entre os grupos com e sem cálculo dentário, não foram identificadas diferenças estatisticamente significante ($p=0,892$), o que pode comprovar a similaridade de condições em que o estudo foi realizado. Após a quantificação e preparo das amostras para análise por espectrometria de massa, os resultados obtidos apresentaram que das 758 proteínas únicas identificadas na saliva dos cães participantes, apenas 18% das proteínas já foram caracterizadas e a grande maioria (82%) não possuem caracterização nem nome definido, algumas delas apresentam apenas funções biológicas. Ainda que tenham sido realizados experimentos iniciais com 20 cães e apenas 2 raças, a identificação destas proteínas na saliva dos cães amplia o número total de proteínas salivares únicas vistas, uma vez que no estudo de Sousa-Pereira et al. em 2015, identificaram no cão apenas 249 proteínas.

Todavia, foram comparadas as proteínas mais abundantes encontradas no estudo de Sousa-Pereira et al., 2015 com as que estão relatadas neste trabalho, e observou-se 10 proteínas em comum, sendo que 4 estão presentes em todos os cães, 3 apenas em cães saudáveis e 3 apenas em cães com cálculo dentário. Entretanto, não há descrição sobre a saúde bucal dos animais avaliados no estudo de Sousa-Pereira (2015) e nem das funções das proteínas. Já neste estudo, as funções biológicas mais desempenhadas pelas proteínas mais abundantes identificadas foram de: transporte, resposta imune, estrutural, regulador enzimático e metabolismo, e algumas proteínas desempenham funções ainda desconhecidas.

Dentre as proteínas únicas identificadas, notou-se a presença da albumina sérica na amostra de todos os cães, isso se deve ao fato que, como descrito em humanos, um

pequeno volume de fluido crevicular gengival que entra na cavidade oral mesmo em indivíduos saudáveis, ou seja, livres de gengivite, faz com que resulte na mensuração de níveis deste componente do soro na saliva (OPPENHEIM, 2008). Outros componentes do soro também foram identificados na saliva dos cães deste estudo, entre eles estão a Hemoglobina subunidade β , Apolipoproteína A-I, Hemoglobina subunidade α e Haptoglobina.

Houve ainda a identificação da presença das proteínas mucina e lisozima C. As mucinas são glicoproteínas de alto peso molecular com uma estrutura alongada que contribuem significativamente para o comportamento viscoelástico da saliva (CARPENTER, 2013), também desempenham uma função antibacteriana modulando seletivamente a adesão de microrganismos a superfícies do tecido oral, o que contribui para o controle da colonização bacteriana e fúngica (HUMPHREY; WILLIAMSON, 2001). Já as lisozimas, são enzimas com atividades hidrolíticas, ou seja, promovem a lise celular nas bactérias (IDE et al., 2016), visto que bioquimicamente hidrolisam a ligação β -1,4 entre resíduos do ácido N-acetilmurâmico (Mur2Ac) e N-Acetil-D-glucosamina (GlcNAc) de peptidoglicano bacteriano, o qual é parte essencial das paredes celulares bacterianas, proporciona rigidez estrutural e neutraliza a pressão osmótica do citoplasma (YU et al., 2013). Por esta razão, a lisozima é considerada um antibiótico natural e uma parte importante do sistema imune inato (PRAGER; JOLLES, 1996; MAGNADOTTIR, 2006; YU et al., 2013). As lisozimas do tipo C, como as identificadas, são as principais lisozimas produzidas por vertebrados (CALLEWAERT; MICHIELS, 2010).

Foram avaliadas também as proteínas de acordo com a condição da saúde bucal como descrito na metodologia. Não existem trabalhos descritos até o presente momento na literatura relacionando o cálculo dentário com a saliva de cães, por isso, este estudo é pioneiro nessa avaliação. As proteínas mais abundantes do grupo dos cães sem cálculo dentário são, em sua maioria, proteínas específicas capazes de participarem do metabolismo, enquanto no grupo com cálculo dentário, a maioria, apresentaram funções ainda desconhecidas.

Em meio às proteínas específicas de cães sem cálculo dentário, observou-se a presença da proteína receptor 1 de esfingosina-1-fosfato (S1P1). Esta proteína é altamente expressa em humanos nas células endoteliais, no cérebro, no coração e nas células do sistema imune (GOETZL; AN, 1998; ZHANG et al., 1999); encontra-se acoplada à proteína G e se liga a esfingosina-1-fosfato, a qual é um esfingolípido bioativo que se comporta como mensageiro intracelular de algumas citocinas e também como mediador extracelular autócrino e parácrino (LEMOS, 2014). Além disso, a esfingosina-1-fosfato estimula eventos de

sinalização intracelular, como ativação de fosfolipase C, aumento da concentração de cálcio citoplasmático, regulação da adenilato ciclase, ativação da via das MAP quinase e da cascata de Rho (MURATA et al., 2000). Quando ligados, participam de diversos processos celulares como proliferação, diferenciação, adesão, motilidade, angiogênese, apoptose, migração, morfogênese e mudanças no citoesqueleto (OKAJIMA, 2002; ALLENDE et al., 2004). Identificou-se ainda a proteína canal de cálcio tipo T dependente da voltagem subunidade α (gene CACNA1G), no entanto, a mesma proteína, mas com o gene CACNA1I também foi identificada na saliva de cães com cálculo dentário. Acredita-se que as proteínas de canais de cálcio do tipo T desempenhem papéis importantes na atividade neuronal, tendo sido descritas em estudos com ratos (LEE et al., 1999) e humanos (MURBARTIÁN et al., 2002); contudo não há relatos na literatura relacionando estas proteínas com a saliva de cães.

Sobre as proteínas específicas identificadas em cães com presença de cálculo dentário, uma das mais abundantes foi a receptor de detecção de cálcio (CaSR), cuja função é transportadora. Em humanos, a CaSR é um receptor acoplado à proteína G que detecta os níveis extracelulares de cálcio (Ca^{2+}), o qual é expresso nas membranas plasmáticas de uma ampla variedade de tecidos epiteliais incluindo paratireoides, rim e trato gastrointestinal (VEZZOLI; SOLDATI; GAMBARO, 2009; BANDYOPADHYAY et al., 2012). No estudo de Bandyopadhyay et al., 2012, sugere-se que a entrada de Ca^{2+} regulada pela CaSR através da membrana apical nos ductos celulares representa um potencial mecanismo de reabsorção de Ca^{2+} que pode explicar a diminuição da concentração de Ca^{2+} na saliva primária à medida que flui para baixo no sistema ductal. Todavia, um aumento descontrolado da concentração de Ca^{2+} na saliva ductal poderia contribuir para a formação de cálculos nas glândulas salivares, que consiste essencialmente em fosfato de cálcio. Também é importante notar que no rim, a formação de cálculos está associada a alterações na reabsorção de cálcio, gerando hipercalcemia (VEZZOLI; SOLDATI; GAMBARO, 2009; BANDYOPADHYAY et al., 2012). Anteriormente, o estudo de Mathias et al., (2001) fornece evidências sobre a CaSR em diferentes estágios do desenvolvimento dentário em humanos. Ainda assim, pesquisas adicionais são necessárias para entender melhor a relevância da CaSR para os processos fisiológicos e fisiopatológicos humanos, visto que é expressa em um número considerável de tecidos humanos (VEZZOLI; SOLDATI; GAMBARO, 2009). Ademais, o papel desta proteína necessita de estudos direcionados aos cães, pois ela pode ou não estar relacionada com a presença de cálculo dentário em cães, uma vez que foi identificada somente no grupo de cães com cálculo dentário. Ainda em relação às proteínas relacionadas aos cães com cálculo dentário, observou-se a presença de fragmentos da proteína receptor polimérico de

imunoglobulina (pIgR), a qual foi descrita em saliva humana tendo a função de transportadora de IgA, o principal anticorpo salivar (CARPENTER, 2013).

Nos últimos anos têm sido realizados diversos estudos sobre análise proteômica, entre estes estudos está o de Sousa-Pereira et al., (2015), onde analisaram o proteoma salivar de diferentes mamíferos, incluindo os cães, no qual identificaram dentre outras proteínas, a proteína α -amilase. Além disso, o mesmo estudo identificou as proteínas estaterina e histatinas apenas na saliva de humanos. No presente estudo não foi encontrada a α -amilase, acredita-se que devido à dieta, os cães não possuem esta proteína e por serem naturalmente carnívoros não necessitam de amilase salivar, esta hipótese é confirmada nos estudos de Arendt et al., (2014) e Boehlke; Zierau; Hannig, (2015). A estaterina é uma proteína salivar que apresenta uma forte afinidade para a ligação com hidroxiapatita (HA) (OPPENHEIM et al., 2007), esta proteína possui o maior potencial de inibição da precipitação com fosfato de cálcio e, assim, acredita-se ser a principal proteína relacionada com a manutenção da saliva no estado supersaturado (NANCOLLAS; MOHAN, 1970). Este estado supersaturado na saliva é de substancial importância para o entendimento do mecanismo fisiológico do hospedeiro, pois está relacionado com os processos de prevenção das fases iniciais da cárie dentária e fatores contribuintes locais que levam ao desenvolvimento da doença periodontal, como por exemplo, a formação de cálculo dentário. Já as histatinas, além das propriedades antifúngicas (KONOPKA et al., 2010), possuem atividades antibacterianas (GUSMAN et al., 2001; DE SOUSA-PEREIRA et al., 2013), participação na formação da película adquirida, proteção contra o processo de desmineralização (SIQUEIRA et al., 2010) e possível efeito cicatricial (OUDHOFF et al., 2009). Essas proteínas não foram identificadas neste estudo, fato que pode estar relacionado a duas hipóteses. A primeira seria que os cães não possuem essas proteínas, o que corrobora com o estudo de Sousa-Pereira et al., (2015), uma vez que estas proteínas foram encontrados apenas em humanos. Contudo, a presença da caseína em todas as espécies estudadas, exceto em humanos, por de Sousa-Pereira et al., (2015) pode revelar uma estratégia adaptativa estabelecida por estas espécies para suprir a ausência da estaterina e histatinas, já que na cavidade oral a caseína parece prevenir a adesão de componentes salivares e bactérias no esmalte dentário, protegendo os tecidos duros (DE SOUSA-PEREIRA et al., 2015). A caseína também não foi identificada no presente estudo, porém isto poderia estar relacionado à segunda hipótese: de que essas proteínas/peptídeos estaterina e histatina façam complexos com outras proteínas, ou ainda, as proteínas de maior abundância encontradas neste estudo como a albumina e hemoglobina, mascarariam a presença desses peptídeos ou de outros que possam ter funções similares e não foram identificados. A alternativa para a possível

identificação seria analisar a saliva por meio da separação baseada na diferença de peso molecular, utilizando a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) a 12% seguida pela digestão no gel, a qual promove uma identificação mais clara dos seus componentes proteicos, onde o gel seria dividido em bandas maiores e menores de acordo com a concentração das proteínas, e então seriam avaliadas conforme o seu peso molecular, com o auxílio da espectrometria de massa.

Com relação ao gel de eletroforese SDS-PAGE realizado, foram visualmente observadas diferenças nas proteínas encontradas na saliva de cães (macho e fêmea) quando comparadas com a saliva de humanos (homem e mulher), sendo que nos cães foi possível observar uma menor concentração de proteínas em todo o gel. No entanto, não foram realizadas análises das bandas, a figura 4 representa apenas a aparência do gel SDS-PAGE após ser submetido à eletroforese e corado com azul-de-Coomassie.

Uma limitação do presente estudo é de ter sido realizado apenas a caracterização das proteínas salivares. Estudos futuros são necessários para a avaliação de parâmetros como os valores de pH, que podem variar de acordo com a concentração de cálcio e fosfato (DAWES, 2003; AHMADI-MOTAMAYEL et al., 2016) e determinação da atividade tampão de cada amostra de saliva coletada. Devido à presença de bicarbonato/carbonato e, em menor extensão, íons de fosfato e as proteínas, a saliva tem uma capacidade de tamponamento, podendo neutralizar ácidos produzidos na cavidade oral ou ingeridos (AHMADI-MOTAMAYEL et al., 2016). Contudo, as suas concentrações e capacidade de tampão são dependentes da velocidade à qual a saliva é produzida (BARDOW et al., 2000). Deverá ainda ser realizada a quantificação dos eletrólitos como cálcio e fosfato, que participam da formação do cálculo dentário e de processos de desmineralização e remineralização do esmalte dentário; e também sódio, potássio, zinco e magnésio, que participam do metabolismo das glândulas salivares (SIQUEIRA et al., 2004, 2007). Esses dados podem sugerir uma correlação positiva ou negativa quando comparados entre os cães com ou sem cálculo dentário.

Sendo assim, este trabalho abre novas fronteiras para a correlação das proteínas salivares com a formação do cálculo dentário em cães, assim como aumenta o número de proteínas salivares vistas até o presente momento.

4 Referências Bibliográficas

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMADI-MOTAMAYEL, F. et al. Comparison of salivary pH, buffering capacity and alkaline phosphatase in smokers and healthy non-smokers: Retrospective cohort study. **Sultan Qaboos University Medical Journal**, v. 16, n. 3, p. e317–e321, 2016.
- ALLENDE, M. L. et al. Expression of the Sphingosine 1-Phosphate Receptor, S1P1, on T-cells Controls Thymic Emigration. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 15, p. 15396–15401, 2004.
- ARENDT, M. et al. Amylase activity is associated with AMY2B copy numbers in dog: Implications for dog domestication, diet and diabetes. **Animal Genetics**, v. 45, n. 5, p. 716–722, 2014.
- BANDYOPADHYAY, B. C. et al. Extracellular Ca²⁺ sensing in salivary ductal cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 287, n. 36, p. 30305–30316, 2012.
- BARDOW, A. et al. The buffer capacity and buffer systems of human whole saliva measured without loss of CO₂. **Archives of Oral Biology**, v. 45, n. 1, p. 1–12, 2000.
- BOEHLKE, C.; ZIERAU, O.; HANNIG, C. **Salivary amylase - The enzyme of unspecialized euryphagous animals** *Archives of Oral Biology*, 2015.
- BRODBELT, D. C. et al. The risk of death: The confidential enquiry into perioperative small animal fatalities. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 35, n. 5, p. 365–373, 2008.
- CALLEWAERT, L.; MICHIELS, C. W. Lysozymes in the animal kingdom. **J Biosci**, v. 35, n. 1, p. 127–160, 2010.
- CARPENTER, G. H. The Secretion, Components, and Properties of Saliva. **Annu. Rev. Food Sci. Technol**, v. 4, p. 267–76, 2013.
- CLELAND, W. P. **Opportunities and obstacles in veterinary dental drug delivery** *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2001.
- COIGNOUL, E.; CHEVILLE, N. Calcified microbial plaque. Dental calculus of dogs. **The American journal of pathology**, v. 117, n. 3, p. 499–501, 1984.
- DAWES, C. What is the critical pH and why does a tooth dissolve in acid? **Journal (Canadian Dental Association)**, v. 69, n. 11, p. 722–724, 2003.
- DE SOUSA-PEREIRA, P. et al. An evolutionary perspective of mammal salivary peptide families: Cystatins, histatins, statherin and PRPs. **Archives of Oral Biology**, v. 58, n. 5, p. 451–458, 2013.
- DE SOUSA-PEREIRA, P. et al. Evolution of C, D and S-type cystatins in mammals: An extensive gene duplication in primates. **PLoS ONE**, v. 9, n. 10, p. 1–7, 2014.
- DE SOUSA-PEREIRA, P. et al. Cross-species comparison of mammalian saliva using an LC-MALDI based proteomic approach. **Proteomics**, v. 15, n. 9, p. 1598–1607, 2015.
- DOMINGUES, L. M.; ALESSI, A. C.; SCHOKEN-ITURRINO, L. . Microbiota saprófita associada à doença periodontal em cães. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v. 51, p. 329–332, 1999.

EMILY, P. Diagnóstico e profilaxia de uma periodontopatia. In: BOJRAB, M.J. (Eds). **Técnicas atuais em cirurgia de pequenos animais**. 3.ed. São Paulo: Roca, 1996. p.158-162.

EMILY, P.; PENMAN, S. **Handbook of small animal dentistry**. 2.ed. Oxford: Pergamon, 1994. 117p.

FERNANDES, N. A. et al. Prevalence of periodontal disease in dogs and owners' level of awareness - a prospective clinical trial. **Revista Ceres**, v. 59, n. 4, p. 446–451, 2012.

GENGLER WR, et al. Evaluation of a barrier dental sealant in dogs. **J Vet Dent**. 2005 Sep;22(3):157-9.

GIOSO, M. A. **Odontologia Veterinária: Pequenos Animais**. 3. ed. São Paulo: FMVZUSP, 1994.

GIOSO, M. A.; CARVALHO, V. G. G. Oral anatomy of the dog and cat in veterinary dentistry practice. **Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, v. 35, n. 4 SPEC. ISS., p. 763–780, 2005.

GOETZL, E. J.; AN, S. Diversity of cellular receptors and functions for the lysophospholipid growth factors lysophosphatidic acid and sphingosine 1-phosphate. **FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 12, n. 15, p. 1589–98, 1998.

GOLDSTEIN, E. J.; CITRON, D. M.; FINEGOLD, S. M. Dog bite wounds and infection: a prospective clinical study. **Annals of emergency medicine**, v. 9, n. 10, p. 508–12, 1980.

GORREL C. **Veterinary dentistry for the general practitioner**. Philadelphia: W.B. Saunders, 2004. 240 p.

GUSMAN, H. et al. Salivary histatin 5 is an inhibitor of both host and bacterial enzymes implicated in periodontal disease. **Infection and Immunity**, v. 69, n. 3, p. 1402–1408, 2001.

HART, B. L.; POWELL, K. L. Antibacterial properties of saliva: Role in maternal periparturient grooming and in licking wounds. **Physiology and Behavior**, v. 48, n. 3, p. 383–386, 1990.

HARVEY, C. E.; NIEVES, M. A. Perspectives on veterinary dental care: issues and answers. **Small Animal Scope**, v. 11, n. 1, p. 12–15, 1991.

HARVEY C.E.; EMILY P.P: Hyperplastic gingivitis. In: Harvey CE, Emily PP (eds): **Small Animal Dentistry**. St. Louis, Mosby-Year Book, p 104, 1993.

HARVEY C.E.; SHOFR F.S.; LASTER L. Correlation of diet, other chewing activities and periodontal disease in North Amercian client-owned dogs. **J Vet Dent**. 1996 Sep;13(3):101-5.

HARVEY, C. E. Periodontal disease in dogs. Etiopathogenesis, prevalence, and significance. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**, v. 28, n. 5, p. 1111–28, vi, 1998.

HELMERHORST, E. J.; OPPENHEIM, F. G. Saliva: a Dynamic Proteome. **J Dent Res**, v. 86, n. 8, p. 680–693, 2007.

HENNET, P.; SERVET, E.; VENET, C. Effects of feeding a daily oral hygiene chew on dental deposits in small breed dogs: a 4-month trial. In: **EUROPEAN CONGRESS OF VETERINARY DENTISTRY**, 13., 2004, Krakov. Proceedings...Krakow, 2004. p.47-48.

HUMPHREY, S. P.; WILLIAMSON, R. T. A review of saliva: normal composition, flow, and function. **The Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 2, n. 85, p. 162–9, 2001.

IDE, M. et al. Relationship between salivary immunoglobulin a , lactoferrin and lysozyme flow rates and lifestyle factors in Japanese children: a cross-sectional study. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 0, n. 0, p. 000, 2016.

JEPSEN, S. et al. Calculus removal and the prevention of its formation. **Periodontology** 2000, v. 55, n. 1, p. 167–188, 2011.

KAMODYOVÁ, N.; CELEC, P. Salivary markers of oxidative stress and Salivette collection systems. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**, v. 49, n. 11, p. 1887–1890, 2011.

KHURSHID, Z. et al. Human saliva collection devices for proteomics: An update. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 6, 2016.

KONOPKA, K. et al. Susceptibility of Candida biofilms to histatin 5 and fluconazole. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 97, n. 4, p. 413–417, 2010.

LARSEN, J. Oral products and dental disease. **Compendium (Yardley, PA)**, v. 32, n. 9, p. E1–E3, 2010.

LEE, J. H. et al. Cloning and expression of a novel member of the low voltage-activated T-type calcium channel family. **The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 19, n. 6, p. 1912–21, 1999.

LEGEROS, R. Z.; SHANNON, I. L. The Crystalline Components of Dental Calculi: Human vs. Dog. **Journal of Dental Research**, v. 58, n. 12, p. 2371–2377, 1979.

LEMONS, J. P. **Papel do receptor 1 de esfingosina-1-fosfato nos distúrbios de migração celular intratímica em camundongos NOD** . Rio de Janeiro; 2014: 103f. Dissertação (Mestrado) Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular. Disponível em: < http://157.86.8.8/reports/mestrado_bibcb/julia_lemos_ioc_mest_2014.pdf>. Acesso em: 3 abril 2017.

MAGNADOTTIR, B. Innate immunity of fish (overview). **Fish and Shellfish Immunology**. Feb;20(2):137-51, 2006.

MATHIAS, R. S. et al. Identification of the calcium-sensing receptor in the developing tooth organ. **Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research**, v. 16, n. 12, p. 2238–44, 2001.

MATTHEWS, N. S. et al. Small Animals & Exotic Factors associated with anesthetic-related death in dogs and cats in primary care veterinary hospitals. v. 250, n. 6, p. 655–665, 2017.

MURATA, N. et al. Interaction of sphingosine 1-phosphate with plasma components, including lipoproteins, regulates the lipid receptor-mediated actions. **The Biochemical journal**, v. 352 Pt 3, p. 809–15, 2000.

MURBARTIÁN, J. et al. Alternative splicing of the rat Cav3.3 T-type calcium channel gene produces variants with distinct functional properties. **FEBS Letters**, v. 528, n. 1–3, p. 272–278, 2002.

NANCOLLAS, G. H.; MOHAN, M. S. The growth of hydroxyapatite crystals. **Archives of Oral Biology**, v. 15, n. 8, p. 731–745, 1970.

OKAJIMA, F. Plasma lipoproteins behave as carriers of extracellular sphingosine 1-phosphate: Is this an atherogenic mediator or an anti-atherogenic mediator? **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**, 2002.

OPPENHEIM, F. G. et al. Salivary proteome and its genetic polymorphisms. **Ann N Y Acad Sci**. Mar;1098:22-50, 2007.

OPPENHEIM F.G. Historial perspectives and present. In: Wong D.T. **Salivary Diagnostics**. Iowa – EUA: Wiley-Blackwell, 2008. Cap. 2, p. 81.

LOUDHOFF, M. J. et al. Structure-activity analysis of histatin, a potent wound healing peptide from human saliva: cyclization of histatin potentiates molar activity 1,000-fold. **The FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 23, p. 3928–3935, 2009.

PAIVA, A. C. et al. Eficácia dos coadjuvantes de higiene bucal utilizados na alimentação de cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 5, p. 1177–1183, 2007.

PINTO, A. B. F. et al. Tripolifosfato de sódio e hexametáfosfato de sódio na prevenção do cálculo dentário em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 6, p. 1426–1431, 2008.

PRAGER, E. M.; JOLLES, P. Animal lysozymes c and g: an overview. **EXS**, v. 75, p. 9–31, 1996.

SCHIPPER, R. G.; SILLETTI, E.; VINGERHOEDS, M. H. Saliva as research material: Biochemical, physicochemical and practical aspects. **Archives of Oral Biology**, v. 52, n. 12, p. 1114–1135, 2007.

SIQUEIRA, W. L. et al. Electrolyte concentrations in saliva of children aged 6-10 years with Down syndrome. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, v. 98, n. 1, p. 76–79, 2004.

SIQUEIRA, W. L. et al. Salivary parameters in infants aged 12 to 60 months with Down syndrome. **Special Care in Dentistry**, v. 27, n. 5, p. 202–205, 2007.

SIQUEIRA, W. L. et al. Evidence of intact histatins in the in vivo acquired enamel pellicle. **J Dent Res.**, v. 89, n. 6, p. 626–30, 2010.

STRAZDINS, L. et al. Impact of saliva collection methods on sIgA and cortisol assays and acceptability to participants. **Journal of Immunological Methods**, v. 307, n. 1–2, p. 167–171, 2005.

TAKAGI, K. et al. Development of a saliva collection device for use in the field. **Clinica Chimica Acta**, v. 425, p. 181–185, 2013.

TODA, M.; MORIMOTO, K. Comparison of saliva sampling methods for measurement of salivary adiponectin levels. **Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation**, v. 68, n. 8, p. 823–825, 2008.

-
- VENTURINI, M.A.F.A. **Estudo retrospectivo de 3055 animais atendidos no ODONTOVET (Centro Odontológico Veterinário) durante 44 meses.** São Paulo. 2006, 103 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10137/tde-14052007-081635/pt-br.php>>. Acesso em: 3 abril 2017.
- VEZZOLI, G.; SOLDATI, L.; GAMBARO, G. Roles of calcium-sensing receptor (CaSR) in renal mineral ion transport. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v. 10, n. 3, p. 302–310, 2009.
- WENGER-RIGGENBACH, B. et al. Salivary cortisol concentrations in healthy dogs and dogs with hypercortisolism. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n. 3, p. 551–556, 2010.
- WONG, T. Y. et al. The effect of cotton-based collection methods on eosinophil cationic protein (ECP) concentrations detected in saliva. **Journal of asthma and allergy**, v. 1, p. 45–48, 2008.
- XIAO, Y. et al. Hydroxyapatite Growth Inhibition Effect of Pellicle Statherin Peptides. **Journal of Dental Research**, v. 94, n. 8, p. 1106–1112, 2015.
- YU, L. P. et al. Characterization of a c-type lysozyme of *Scophthalmus maximus*: Expression, activity, and antibacterial effect. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 34, n. 1, p. 46–54, 2013.
- ZHANG, G. et al. Comparative analysis of three murine G-protein coupled receptors activated by sphingosine-1-phosphate. **Gene**, v. 227, p. 89–99, 1999.

Anexos

ANEXO A

Aprovação do trabalho pelo Comitê de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais da Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo (CEEPA FOB/USP).

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru

Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em
Animais

CEEPA-Proc. Nº 002/2016

Bauru, 15 de março de 2016.

Senhora Professora,

Informamos que Projeto de Pesquisa denominado "*Caracterização do perfil proteômico salivar de cães*", tendo Vossa Senhoria como Pesquisador Responsável, que envolve a utilização de animais (roedores), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 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 da Experimentação Animal (CONCEA), foi analisado e considerado **APROVADO COM RECOMENDAÇÃO** pela Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais (CEEPA), em reunião realizada no dia **11 de março de 2016**.

Recomendação: Considerando que a pesquisadora executora, Mayara Bringel dos Santos, não possui treinamento em experimentação animal, a mesma deverá realizar treinamento para contenção de cães com o Médico Veterinário da seção de Biotério da FOB/USP, em data a ser agendada, **antes do início da pesquisa**.

Vigência do projeto:	Abri/2016 a Dezembro/2017
Espécie/Linhagem:	<i>Canis lupus familiaris</i> (pequena parte)
Nº de animais:	n=20 (Grupo 1= 10 jovens; grupo 2=10 adultos)
Peso/Idade	Grupo 1 = até 1 ano; grupo 2 = a partir de 2 anos de idade
Sexo:	Machos e Fêmeas
Origem:	De proprietários particulares

Esta CEEPA solicita que ao final da pesquisa seja enviado um Relatório com os resultados obtidos para análise ética e emissão de parecer final, o qual poderá ser utilizado para fins de publicação científica.

Atenciosamente,

Profª Drª Ana Paula Campanelli

Presidente da Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

Prof.a Dr.a Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado
Docente do Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva

ANEXO B

TERMO DE CONSENTIMENTO

Convido-lhe como dono do cão _____, a participar da pesquisa “**Caracterização do perfil proteômico salivar de cães**”, tendo como pesquisador responsável Profa Dra Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado e pesquisador executor Mayara Bringel dos Santos, a qual será realizada na Faculdade de Odontologia de Bauru/USP.

O objetivo da pesquisa é caracterizar o perfil proteômico salivar (conjunto de proteínas da saliva) de cães. Serão selecionados 20 cães das raças Shih tzu e Lhasa apso, a partir de 3 meses de idade, de ambos os gêneros, sem e com sinais clínicos de presença de cálculo, que estejam vermifugados, com vacina antirrábica em dia, que não tenham realizado antibioticoterapia sistêmica por pelo menos 6 meses antes da data da coleta e em caso de fêmeas, fora do período de cio. Após o consentimento do responsável será realizada a coleta de saliva.

Será coletada a saliva pelo pesquisador executor juntamente com o médico veterinário durante atendimento na Clínica Veterinária Nova Bauru, localizada na Rua Rio Branco 23-75, obedecendo às normas de biossegurança, e por não ser um procedimento invasivo, não causa riscos em potencial para o cão que fizer parte do estudo, podendo-se afirmar que os riscos são próximos de zero. A coleta será realizada com o auxílio de um coletor apropriado para tal finalidade, onde a parte absorvente (um rolo de algodão) será passada por toda cavidade bucal do cão, mucosas, assoalho da língua por aproximadamente 5 a 10 minutos e após a coleta, os tubos contendo a porção de material absorvente embebidos com a saliva serão mantidos em uma caixa isotérmica com gelo para transporte e processamento em no máximo 1 hora após a coleta. Todo o volume coletado, podendo variar de acordo com o fluxo salivar de cada animal, será analisado. O benefício deste estudo será trazer novas informações relacionadas ao proteoma salivar (conjunto de proteínas) que ajudarão no processo de compreensão mais aprofundada sobre a formação e prevenção do cálculo dentário. E o benefício imediato será avaliação da saúde bucal. Durante o período de coleta da saliva, os proprietários acompanharão os animais. Não haverá despesas nem danos decorrentes da participação na pesquisa.

Para qualquer esclarecimento de dúvida sobre a participação na pesquisa, você poderá entrar em contato com a pesquisadora responsável, Profa Dra Maria Aparecida de Andrade Moreira Machado, Departamento de Odontopediatria, Ortodontia e Saúde Coletiva, por meio do telefone (14) 3235-8224, email mmachado@fob.usp.br, na Faculdade de Odontologia de Bauru-USP, Alameda Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75.

Caso queira relatar algum problema ou denúncia sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com a Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais, da Faculdade de Odontologia de Bauru-USP, Alameda Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75, telefone (14)3235-8356, e-mail: ceepa@fob.usp.br; no prédio do setor de Pós-Graduação, de segunda à sexta-feira, no horário das 14 às 17 horas.

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr. (a) _____, responsável pelo cão _____, portador da cédula de identidade _____, após leitura detalhada das informações constantes neste Termo de Consentimento, DECLARO ciência e FIRMO o CONSENTIMENTO concordando em participar da pesquisa proposta. Fica claro que o participante da pesquisa, pode a qualquer momento retirar seu CONSENTIMENTO e deixar de participar desta pesquisa e ciente de que todas as informações prestadas tornar-se-ão confidenciais e

guardadas por força de sigilo profissional (Art. 9º do Código de Ética Odontológica).

Por fim, como pesquisador(a) responsável pela pesquisa, DECLARO o cumprimento com os preceitos na Lei nº 11.794, de 8 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 da Experimentação Animal (CONCEA).

Por estarmos de acordo com o presente termo o firmamos em duas vias igualmente válidas (uma via para o participante da pesquisa e outra para o pesquisador) que serão rubricadas em todas as suas páginas e assinadas ao seu término.

Bauru, SP, _____ de _____ de _____.

Assinatura do Participante da Pesquisa

Machado

Assinatura do Pesquisador(a) Responsável

Profª Drª Maria Aparecida de Andrade Moreira

A Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais-CEEPA, organizada pela Faculdade de Odontologia de Bauru da Universidade de São Paulo-FOB-USP, é um colegiado interdisciplinar e independente, de caráter consultivo, deliberativo e educativo, criado com a finalidade principal de avaliar, aprovar e acompanhar as atividades de ensino e pesquisa com animais nas dependências da FOB-USP, garantindo atividades acadêmicas dentro dos padrões éticos e, por extensão, monitorar e exigir o cumprimento:

I - da Lei no 11.794 (08/10/2008 - D.O.U. de 09/10/2008), que regulamentou o inciso VII, do § 1o, do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais e revogou a Lei no 6.638 (08/05/1979 - D.O.U. de 10/05/1979);

II - das Resoluções do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal-CONCEA, do Ministério de Ciência e Tecnologia-MCT, e seus órgãos assessores.

Qualquer denúncia e/ou reclamação poderá ser reportada a esta CEEPA:

Horário e local de funcionamento:

Comissão de Ética no Ensino e Pesquisa em Animais

Faculdade de Odontologia de Bauru-USP - Prédio da Pós-Graduação (bloco E - pavimento superior), de segunda à sexta-feira, no horário das 14hs às 17 horas, em dias úteis.

Alameda Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75

Vila Universitária – Bauru – SP – CEP 17012-901

Telefone/FAX(14)3235-8356

e-mail: ceepa@fob.usp.br