

GUIA DE
INTERPRETAÇÃO
DE ELETROFORESE
DE PROTEÍNAS - 2017

Prof. Dr. Ary Elias Aboud Dutra
Dr. Cristiano da Silva Felix

nutriparme
SAÚDE ANIMAL

poligyn

DESENVOLVIDO PARA O ESPECIALISTA.



criari

*IMAGEM MERAMENTE ILUSTRATIVA

SAC: (65) 3025-1763
atendimento@nutripharme.com.br

AV. TANCREDO NEVES, 428 - JARDIM KENNEDY - CUIABÁ/MT

nutripharme
SAÚDE ANIMAL

GUIA DE INTERPRETAÇÃO DE ELETROFORESE DE PROTEÍNAS

Prof. Dr. Ary Elias Aboud Dutra

Aboud-Dutra A.E. - ARY ELIAS ABOUD DUTRA - Médico Veterinário, Mestre em Parasitologia Veterinária-UFR-RJ, Doutor pelo PPGCTIA- UFRRJ, Alergologista Veterinária Veteservice, Prof. da UCB-Rio de Janeiro; aeadutra@hotmail.com

Dr. Cristiano da Silva Felix

FELIX-CRISTIANO, S. - CRISTIANO DA SILVA FELIX - Médico Veterinário, Diretor P&D Nutripharme | Brazil, Imunonutricionista; Av. Tancredo Neves , 428, Cuiabá/MT, Brazil
ZIP CODE: 78.065-230 | Fone: +55 65 3025-1763
contato@nutripharme.com.br
www.nutripharme.com.br

Todos os direitos reservados a Nutripharme Saúde Animal
2017



INTRODUÇÃO

Proteínas são moléculas nitrogenadas encontradas estruturalmente em qualquer ser vivo, ligadas a múltiplas funções biológicas, podendo ser estruturais ou livres; as livres podem ser proteínas carreadoras, anticorpos, enzimas, inibidores enzimáticos ou fatores da coagulação, e podem ser encontrados no plasma.

A análise das proteínas livres, de forma quantitativa e qualitativa podem auxiliar na identificação de diversas patologias. Uma dessas possibilidades é a análise da variação de proteínas inflamatórias, das proteínas do sistema complemento e dos anticorpos.

A avaliação das concentrações de proteínas séricas e as proporções de suas diferentes frações podem ser de considerável valor no diagnóstico em desordens agudas e crônicas e avaliação da gravidade de alterações clínicas hematológicas, assim como no diagnóstico de processos inflamatórios, gamopatias e disproteinemias.

Variadas são as técnicas para o fracionamento e análise de proteínas, algumas estão sendo melhoradas ao longo dos tempos, proporcionando melhor estudo e compreensão, facilitando o emprego da análise em várias situações.

O soro contém uma variedade de proteínas diferentes que são separadas pelas técnicas de eletroforese em cinco ou seis frações (de acordo com o método laboratorial). As frações, “bandas”, “zonas” ou “regiões”, como são chamadas são descritas como: Albumina, Alfa globulinas, Beta globulinas e Gamaglobulinas.

As técnicas variam, mas estão relacionadas com a separação das proteínas por sua carga elétrica, as moléculas serão agrupadas em relação ao seu potencial de cargas e peso molecular.

A interpretação clínica da eletroforese é baseada nas variações das frações e na detecção de paraproteínas (proteína imunologicamente homogênea).

“A avaliação das concentrações de proteínas séricas e as proporções de suas diferentes frações podem ser de considerável valor no diagnóstico em desordens agudas e crônicas e avaliação da gravidade de alterações clínicas hematológicas, assim como no diagnóstico de processos inflamatórios, gamopatias e disproteinemias.”

COLETA, ESTOCAGEM E ARMAZENAMENTO:

Muito embora a maioria das proteínas avaliadas tenha meia vida acima de vinte dias e temperaturas de 4 a 8 graus Celsius sejam estabilizadores das proteínas, variações de pH, adsorção proteica entre outros podem interferir no material, além da interferência na revelação da corrida da eletroforese que é feita por adição de corantes. Muito embora a lipemia não seja um fator de interferência, solicita-se o jejum de mais de 4 horas para coleta do sangue.

É preciso não haver hemólise na amostra, pois interfere na revelação e corrida, o soro deve ser separado por centrifugação para evitar o risco de hemólise pós coleta por transporte ou fragmentação espontânea celular, por exemplo.

As proteínas podem degradar em velocidades diferentes e tempos prolongados mesmo em refrigeração podem atrapalhar a análise, por isso o congelamento da amostra evita mudanças e falsas interpretações.

“Remessa de amostra: Soro Congelado sem Hemólise..”

PROTEÍNAS CONSTITUINTES DAS FRAÇÕES:

As principais frações proteicas, separadas de acordo com sua eletropositividade, são Albumina, Alfa-1-globulina, Alfa-2-globulina, Beta-1-globulina, Beta-2-globulina e Gamaglobulina. De acordo com o nível de resolução do método eletroforético, poderemos ter muitas outras frações intermediárias.

Os principais componentes destas frações são:

Fração Albumina: A albumina é a mais abundante proteína do plasma e que responde por cerca de 80% da pressão osmótica coloidal. Está envolvida no transporte de inúmeras substâncias (bilirrubina, cálcio, hormônios, fármacos etc.) e pode se apresentar bipartida (bialbuminemia) por uma variação genética ou por sobrecarga na ligação a determinadas substâncias, que alteram sua carga elétrica. Apresenta-se diminuída por falha em sua síntese no fígado, por perda renal, intestinal ou cutânea, por condições que aumentam a permeabilidade capilar, como os

processos inflamatórios, e em estados de má absorção e subnutrição. Níveis elevados ocorrem na desidratação ou por estase venosa excessiva (por exemplo, por garroteamento prolongado).

Pré-Albumina: É uma banda fraca e espalhada, com migração eletroforética mais rápida que a albumina e por essa razão foi denominada por pré-albumina, constituída por cinco frações distintas e ainda pouco estudadas. Sua principal função está relacionada com o transporte do hormônio tireóideo, entretanto o significado clínico desta proteína não está relacionado com sua propriedade fisiológica. Diante desse fato a diminuição da Pré-albumina é observada nos processos inflamatórios agudos de etiologia diversa, porém, mais interessante é a diminuição precoce e marcante que se associa à insuficiência das células hepáticas. Assim, a pré-albumina é um indicador hepatocelular de mais utilidade que a albumina, cujas modificações são constantes e tardias. Por outro lado, elevações da pré-albumina estão relacionadas com herança genética familiar, sem que tenha evidenciado significados com patologias específicas.

Pós-Albumina: É uma banda pouco comum que pode surgir pela degradação ocorrida por ausência de conservação da amostra, outra possibilidade é associada a transporte de hormônios tireoidianos a ser esclarecido, pois há pouco trabalho sobre o assunto.

Fração alfa-1-globulina: Tem na alfa-1-antitripsina seu principal componente. Esta glicoproteína atua na inibição de enzimas proteolíticas, podendo estar aumentada em processos inflamatórios agudos, em neoplasias e doenças hepáticas. Sua diminuição pode ser relacionada a defeito genético grave e à doença pulmonar ou hepática na infância, e presença de corticóides ou ainda não congelamento adequado da amostra. Pode estar aumentada também nos hepato-carcinomas, em que há grandes concentrações de alfa-feto-proteína.

Fração alfa-2-globulina: É constituída por duas proteínas principais: alfa-2-macroglobulina e a haptoglobina. Quando a fração alfa-2 está muito elevada, pode-se sus-

peitar de um processo inflamatório agudo (pelo aumento da haptoglobina) ou de síndrome nefrótica (pelo aumento da alfa-2-macroglobulina, acompanhada de diminuição da albumina). Quando reduzida, pode-se pensar numa síndrome hemolítica, pela diminuição da haptoglobina, presença de corticoides ou ainda não congelamento adequado da amostra.

Fração beta-1-globulina: É constituída pela transferrina sintetizada no fígado, responde pelo transporte de ferro plasmático. Mostra-se bastante aumentada nos casos de carência de ferro, anemia ferropriva e diminuída em casos de doenças hepáticas.

Fração beta-2-globulina: É constituída principalmente pelo C3 e pode subir em processos inflamatórios e baixar em doenças auto-imunes ou por deposição de imunocomplexos, também encontramos frações de Imunoglobulinas M e A aumentos significativos devem ser acompanhados de dosagem específica e imunoeletroforese.

Fração gamaglobulina: É constituída predominantemente pelas imunoglobulinas G, parte da M e A, sendo a fração eletroforética de grande interesse clínico. A diminuição (hipogamaglobulinemia) ocorre em imunodeficiências congênicas ou adquiridas, geralmente relacionadas com terapias imunossupressoras. Sempre devem ser associadas a dosagens nefelométricas das imunoglobulinas. O aumento da fração gama denomina-se hipergamaglobulinemia, que pode ser monoclonal, na forma de um pico agudo, refletindo a elevação de uma única imunoglobulina, produzida por um clone específico de plasmócitos. As gamopatias monoclonais detectadas pela eletroforese devem ser estudadas por imunoeletroforese ou por imunofixação, para caracterizar a imunoglobulina e/ou cadeia leve envolvida.

A hipergamaglobulinemia pode ser policlonal, em função do aumento de várias imunoglobulinas. Está relacionada a doenças auto-imunes, a processos inflamatórios crônicos e a lesões hepáticas severas. Em casos de cirrose hepática, há uma união entre as frações beta e gama, relacionada à elevação acentuada de IgA.

VALORES DE REFERÊNCIA PARA CÃES:

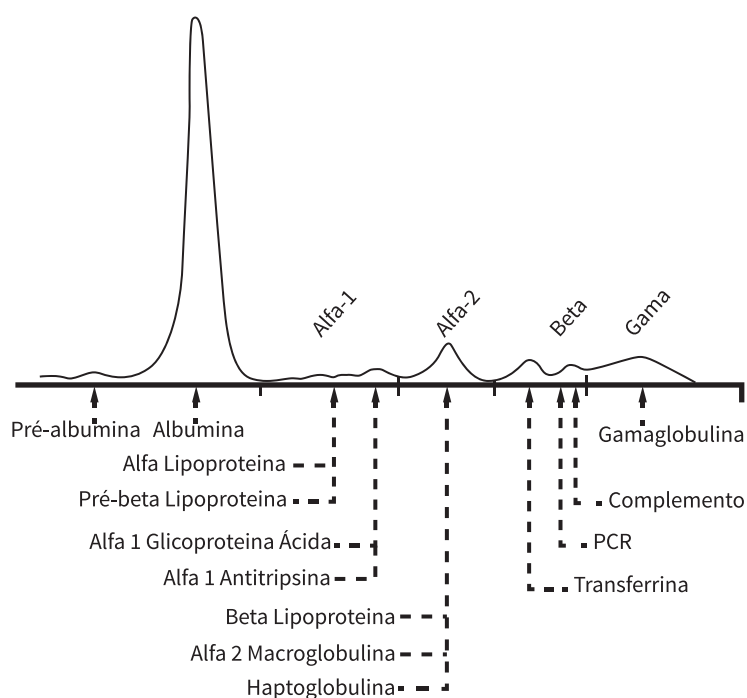
- As dosagens séricas normais para cães são relatadas no quadro abaixo:

Quadro 1: Valores de referência da eletroforese de proteínas.

	Referências
Proteínas Totais (g/dl):.....	(5,30 a 7,80)
Albumina (g/dl):.....	(2,30 a 3,80)
Alfa 1 Globulina (g/dl):.....	(0,20 a 0,50)
Alfa 2 Globulina (g/dl):.....	(0,35 a 1,10)
Beta 1 (g/dl):.....	(0,50 a 1,10)
Beta 2 (g/dl):.....	(0,30 a 0,70)
Beta (1+2) (g/dl):.....	(1,20 a 2,70)
Gama Globulina (g/dl):.....	(0,80 a 2,20)
Relação A:G.....	(0,50 A 1,70)

- **Análise gráfica:**

Gráfico 1: Exemplificação das bandas de eletroforese.

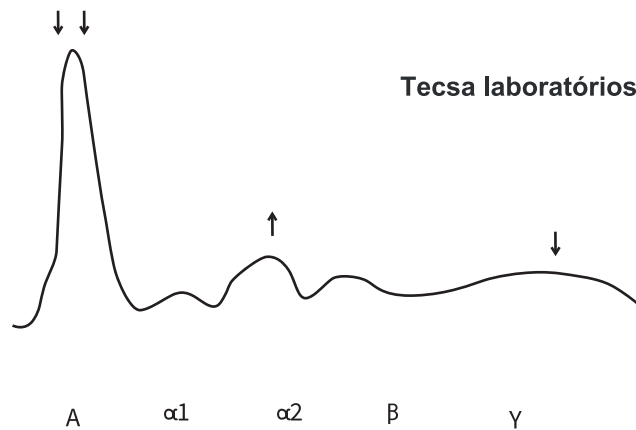


<http://www.sergiofranco.com.br/bioinforme/index.asp?cs=Bioquimica&ps=eletroforeseProteinasSericas>

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

● Redução de Albumina:

Gráfico 2: Redução de Albumina

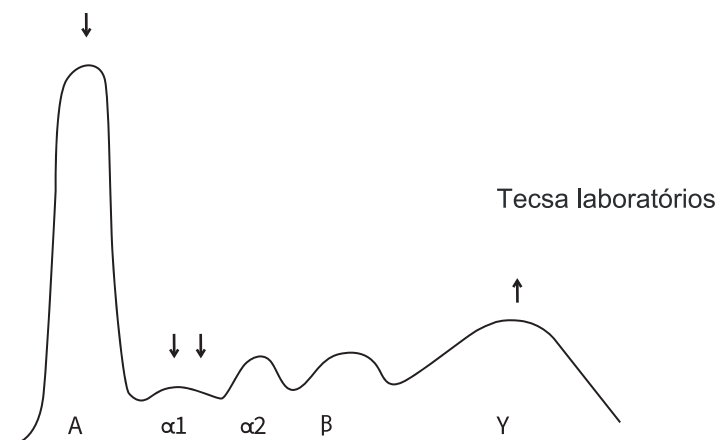


Perfil eletroforético em que há perda de albuminas.

Discussão: Em algumas condições pode-se observar a redução de Albumina: inflamação aguda ou crônica, doença hepática, glomerulopatias, lesão tubular, enteropatia perdedora de proteínas, doença inflamatória intestinal, linfomas, leucemia, desnutrição protéica, hipertireoidismo, Leishmaniose Visceral e uso de corticóides.

● Redução de Alfa 1:

Gráfico 3: Com perda de Alfa 1

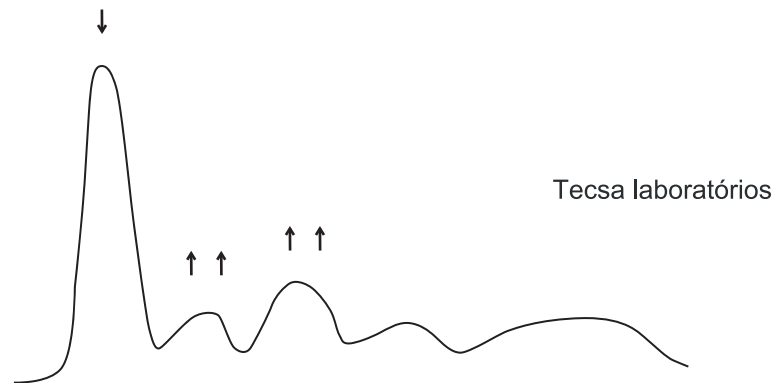


Perfil eletroforético em que há perda de alfa-1antitripsina.

Discussão: A redução dessas proteínas ocorre na hepatite viral aguda, má absorção, enfisema pulmonar, jejum prolongado, síndrome nefrótica.

- **Elevação da alfa-2-macroglobulina associada a redução da albumina:**

Gráfico 4 - Perfil de eletroforese em aumento de proteínas de fase aguda

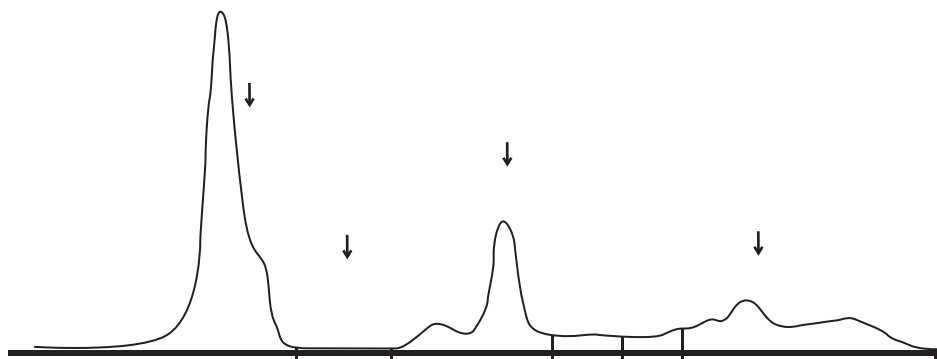


Perfil eletroforético das proteínas de fase aguda.

Discussão: A elevação da alfa-2-macroglobulina associada a redução da albumina ocorre na síndrome nefrótica. A haptoglobina sofre uma redução em sua concentração quando há uma hepatopatia grave, hemólise e durante terapias com corticóides e estrógenos. A ceruloplasmina aumenta durante uma terapia com estrógenos e sofre uma queda quando há desnutrição, síndrome nefrótica e em enteropatias com perda de proteínas.

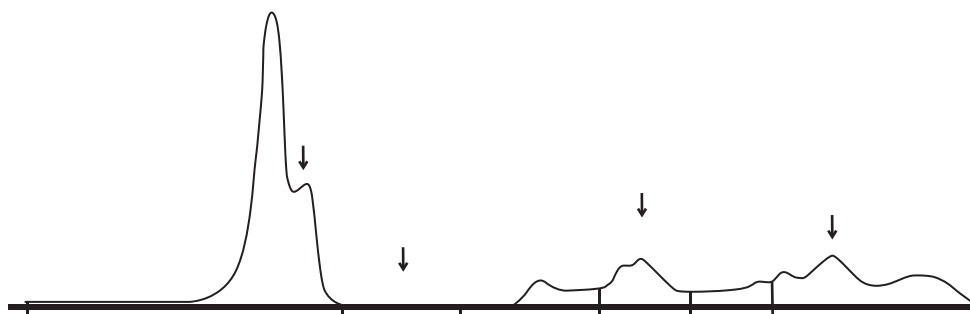
- **Interpretando as Curvas do Gráfico:**

Gráfico 5- Interpretação da curva



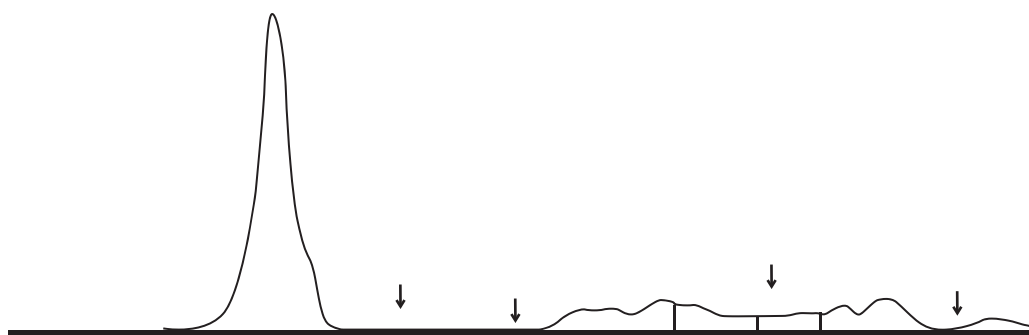
Discussão: Variação de Albumina com possível início de degradação, redução de Alfa 1, pico em Alfa 2 e picos em globulina. Paciente com doença inflamatória aguda e síndrome nefrótica. Esse paciente tem redução de C3 e Suspeita de LES (lúpus eritematoso sistêmico).

Gráfico 6 – Interpretação da Curva



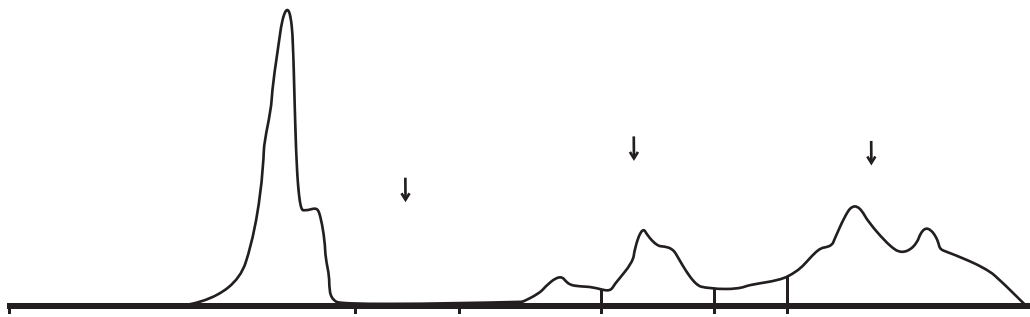
Discussão: Variação de Albumina com possível início de degradação, redução de Alfa 1, pico em Alfa 2 e picos em globulina. Paciente com doença inflamatória aguda e síndrome nefrótica. Sem Redução de C3 e Redução de IgA secundária. Doença Hepática.

Gráfico 7 – Interpretação da Curva



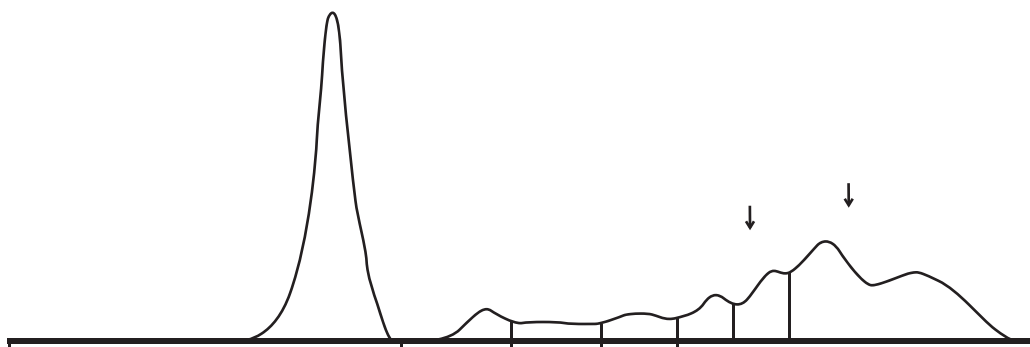
Discussão: Redução de Alfa 1, em Alfa 2, em Beta 2 e em picos em globulina. Paciente com doença supressiva, associado a redução de Alfa 1 pode ser de falha genética.

Gráfico 8 – Interpretação da Curva



Discussão: Redução de Alfa 1, pico de beta 1 e picos policlonais em globulina. Paciente com infecção, com possível doença nefrótica e/ou anemia ferropriva. Esclarecer a possibilidade de Hemoparasita.

Gráfico 9 – Interpretação da Curva



Discussão: Redução de Alfa 1, pico de beta 2 e picos policlonais em globulina. Paciente com infecção, com possível doença hepática.

• **Guia de Interpretação:**

Quadro 10 – Guia de Interpretação Resumido

Banda	Redução	Aumento
Albumina	Má absorção Desnutrição Gestação Doença Renal/Hepática Doenças inflamatórias Síndromes com perda proteica Leishmaniose Visceral	Desidratação
Alpha 1 globulina	Enfisema congênito Doença hepática grave. Presença de corticoide Alteração Genética (com Albumina Normal).	Doenças inflamatórias agudas ou crônicas
Alpha 2 globulina	Hipertireoidismo Doença hepática grave Hemólise Presença de corticóide.	Doença renal (síndrome nefrótica) Doença inflamatória aguda ou crônica
Beta 1 globulina	Anemia Ferropriva Carência de Ferro	Doença Hepática
Beta 2 globulina	Doenças Autoimunes Imunossupressão. (Dosar C3 ?)	Inflamação Infecção bacteriana
Gamaglobulina	Diversas doenças imunes genéticas Supressão Iatrogênica (Corticoides ou Imunossupressores)	- Policlonal Doença inflamatória crônica Artrite Reumatóide LES Cirrose Doença hepática crônica Infecção aguda e crônica Imunização recente - Monoclonal Mieloma múltiplo Gamopatia monoclonal (MGUS)

REFERÊNCIAS

- 1- BURTIS, C. A.; ASHWOOD E. R. Tietz, Fundamentals of Clinical Chemistry 5th Ed., 2001.
- 2- BUSH, B. M. Interpretação de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais. São Paulo: Roca. 384 p. 2004.
- 3- CASTRO, T. A. M. G.; PIRES, R. M. L.; PIRES, F. G. Uso da eletroforese no diagnóstico de alterações morfológicas de sêmen de bovinos. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária. n.3, 2004.
- 4- CERÓN, J. J.; CALDIN, M.; MARTINEZ-SUBIELA, S. Electrophoresis and acute phase protein measurement In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. editors. Schalm's veterinary hematology, 6th ed. Iowa: Blackwell Publishing. p.1157-61. 2010.
- 5- CERÓN, J.J.; ECKERSALL, P. D.; MARTINEZ-SUBIELA, S. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. Vet Clin Pathol. v.34, p.85-99. 2005.
- 6- COSTA, G. L.; SANDRINI, C. N. M.; JACOMINI, L. A.; SILVA, A. R. B.; SOUZA, S. N.; MAGGIOLI, M. F.; FIORAVANTI, M. C. S. Eletroforese das proteínas séricas de bovinos alimentados com diferentes tipos de capins. Universidade Federal de Goiás (UFG); 2006.
- 7- ECKERSALL, P. D.; BELL, R. Acute phase proteins: biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. Vet J. v.185, p.23-27, 2010.
- 8- ECKERSALL, P. D. Proteins, proteomics and the dysproteinemias. In: KANEKO J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. Clinical biochemistry of domestic animals. 6th ed. Burlington: Academic Press. p.117-155, 2008.

9-FABRETTI, A. K.; FONSECA, I. B.; PANCIERI, I. V. C.; KNUPP, F. C.; BORDINI, D. M.; PEREIRA, P. M. Avaliação clínica, laboratorial e perfil eletroforético na determinação do prognóstico de cães hospitalizados. *Semina.v.35, n.6, p.3113-26, 2014,*

10- FAVERO, P. R.; LEONART, M. S. S.; NASCIMENTO, A. J. Eletroforese de proteínas de membrana eritrocítica no diagnóstico de doença hemolítica por defeito de membrana. *Rev Acta Bioquim Clín Latinoam.v.38, n.3, p.313-7, 2004.*

11 - FIGUEIRA, P.T. Caracterização eletroforética de proteínas musculares de aves de interesse comercial. Universidade Estadual Paulista (UNESP); 2011.

12 - GEROU-FERRIANI, M.; MCBREARTY, A. R.; BURCHMORE, R. J.; JAYAWARDENA, K. G.; ECKERSALL, P. D.; MORRIS, J. S. Agarose gel serum protein electrophoresis in cats with and without lymphoma and preliminary results of tandem mass fingerprinting analysis. *Vet Clin Pathol.v.40, n.2, p.159-73, 2011.* Jornada do conhecimento Tecsa 16/09 – on line- www.tecsa.com.br

13 - MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; TECLES, F.; PARRA, M. D.; CERÓN, J. J. Proteínas de fase aguda: conceptos básicos y principales aplicaciones clínicas en medicina MCPHERSON, R. A. Specific Proteins. In: MCPHERSON, R. A.; PINCUS, M. R. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 22. ed. Philadelphia, Pa: Elsevier Saunders. p. 259- 272, 2011.*

14 - VIEIRA, M. C. Eletroforetograma de proteínas séricas em cães linfomatosos, submetidos ao protocolo quimioterápico de Madison-Wisconsin [Tese]. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.



Rua E Quadra com 1/2, lote 53,54,55 B
Distrito Industrial - Cuiabá-MT

SAC:(65)3025-1763
www.nutripharme.com.br