

Eletrforese de proteínas séricas: interpretação e correlação clínica

Seric proteins electrophoresis: clinical interpretation and correlation

Roberta Oliveira de Paula e Silva¹; Aline de Freitas Lopes²; Rosa Malena Delbone de Faria³

RESUMO

¹ Médica Generalista, Mestranda em Patologia Geral pela Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais

² Médica Generalista

³ Hematologista. Profª de Patologia Clínica do Departamento de Propedêutica Complementar da Faculdade de Medicina da UFMG

A Eletrforese de Proteínas Séricas (EPS) é um método simples, que permite separar proteínas do plasma humano em frações. Sua interpretação traz informações úteis ao médico. Assim, ela é importante para a investigação e diagnóstico de diversas doenças. O exame consiste em aplicar a amostra do soro em um meio sólido e submetê-la a um potencial elétrico. As proteínas percorrem distâncias diferentes, formando bandas denominadas: albumina, alfa-1-globulina, alfa-2-globulina, betaglobulina e gamaglobulina. Essas bandas são, em seguida, quantificadas. Observa-se diminuição da concentração de albumina em situações que promovam sua perda, baixa ingestão proteica ou elevado catabolismo. As frações alfa-globulinas apresentam níveis aumentados em processos inflamatórios, infecciosos e imunes. O aumento da betaglobulina é observado em situações de perturbação do metabolismo lipídico ou na anemia ferropriva. A ausência ou diminuição da banda-gama indica imunodeficiências congênicas ou adquiridas. O seu aumento sugere elevação policlonal das imunoglobulinas associado às condições inflamatórias, neoplásicas ou infecciosas, além da elevação monoclonal observada no mieloma múltiplo e em outras desordens linfoproliferativas, como a macroglobulinemia de Waldenström. O conhecimento dos principais componentes de cada banda eletroforética facilita o raciocínio clínico e auxilia na identificação de padrões eletroforéticos, característicos de algumas doenças.

Palavras-chave: Eletrforese; Eletrforese das Proteínas Sanguíneas; Proteínas Sanguíneas/análise.

ABSTRACT

Seric proteins electrophoresis (SPE) is a simple method that allows the separation of the human plasma proteins in fractions. Its interpretation gives useful information to the physician, which makes it an important tool for several diseases investigation and diagnosis. The exam consists in applying the serum sample into a solid medium and put it under an electrical potential. The proteins run different distances, forming bands named: albumin, alpha-1-globulin, alpha-2-globulin, beta globulin and gamma globulin. These bands are then quantified. It is noted a reduction of the albumin concentration in situations that promote its loss, low protein ingestion or high catabolism. The Alpha globulin fractions present increased levels in inflammatory, infectious and immune processes. The increase of beta globulin may be noted in situations of the lipid metabolism disorder or in the iron deficiency anaemia. The absence or reduction of the band-gamma indicates congenital or acquired immunodeficiency, while the increase suggests immunoglobulin polyclonal elevation related to inflammatory, neoplastic or infectious conditions, besides the monoclonal elevation typically noted in the multiple myeloma and other lymphoproliferative disorders, such as Waldenström's macroglobulinemia. The knowledge of each electrophoretic band main components makes easy the clinical reasoning and helps in the identification of electrophoretic patterns that characterize given diseases.

Key words: Electrophoresis; Blood Proteins Electrophoresis; Blood Proteins /analysis.

Faculdade de Medicina – Departamento de Propedêutica Complementar Universidade Federal de Minas Gerais
Av. Alfredo Balena, nº190,
CEP: 30310-100
Belo Horizonte, Minas Gerais.

Endereço para correspondência:
Roberta Oliveira de Paula e Silva
Rua Costa Monteiro, 568/202
Sagrada Família
Belo Horizonte/MG
CEP: 31030480
e-mail:betaops@gmail.com

INTRODUÇÃO

As proteínas são macromoléculas compostas por aminoácidos, com ligações covalentes entre si, podem ser polares ou apolares, de acordo com o pH, devido à distribuição elétrica resultante das ligações covalentes ou iônicas de seus grupos estruturais.

A EPS é um método laboratorial simples para separar as proteínas presentes no plasma humano em frações, de acordo com suas respectivas cargas elétricas. Trata-se do teste de triagem mais utilizado para investigação de anormalidades proteicas presentes no sangue.^{1,3} É importante que o médico esteja apto a interpretá-la, uma vez que informações úteis podem ser inferidas com base no seu resultado, trazendo valiosos subsídios para a investigação diagnóstica.⁴

Existe, atualmente, elevado número de proteínas identificadas no soro, que diferem entre si estruturalmente e participam em vários processos fisiológicos, tais como anticorpos, carreadores de moléculas e íons, enzimas, inibidores enzimáticos, fatores da coagulação, entre outras funções. A análise das proporções de suas frações tem considerável valor na abordagem de desordens agudas e crônicas, fornecendo informações clinicamente úteis. Além disso, a EPS pode ser uma ferramenta importante para monitorar pacientes por longos períodos, quando existem alterações específicas nos níveis de determinadas proteínas, como no mieloma múltiplo, síndrome nefrótica e cirrose, por exemplo (Figura 1).^{1,3}

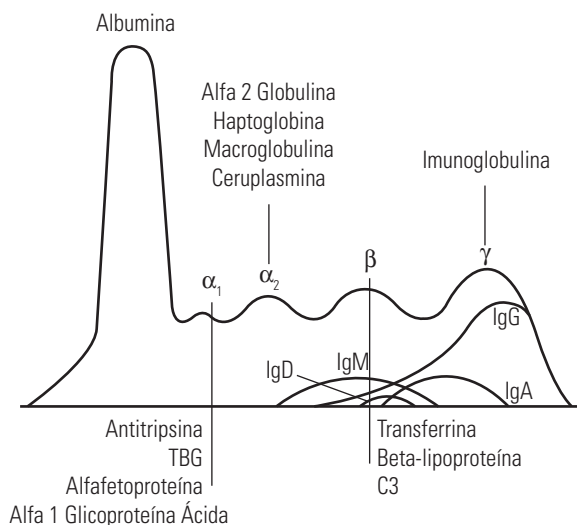


Figura 1 - Algumas das principais proteínas encontradas em cada banda eletroforética

ELETROFORESE

Todas as moléculas de proteínas são formadas por uma cadeia de aminoácidos, unidos entre si por ligações peptídicas. Os aminoácidos, por sua vez, possuem uma estrutura em comum, contendo um grupo amino e um grupo carboxil e o chamado grupamento lateral. Este último é a estrutura que fornece identidade ao aminoácido. A combinação de diferentes aminoácidos, bem como a quantidade de aminoácidos presentes em uma molécula de proteína, confere a ela peso e carga elétrica distinta.¹

A eletroforese é uma técnica de separação de proteínas utilizando-se de forças eletroforéticas e eletroosmóticas presentes no sistema. As frações separadas são visibilizadas a partir de corante sensível a proteínas. Os resultados devem ser sempre expressos sob forma percentual e de concentração das diversas frações e em forma gráfica. A amostra de soro humano, rica em proteínas, é aplicada sobre um meio composto de acetato de celulose ou gel de agarose e, em seguida, sofre a ação de um potencial elétrico gerado por um pólo positivo (ânodo) e outro negativo (cátodo). Esse potencial provoca a migração das proteínas em direção ao ânodo e, de acordo com o peso molecular e carga elétrica deste, elas percorrem distâncias distintas, gerando diferentes bandas, representadas por albumina e as globulinas alfa, beta e gama. Em seguida, é realizada a revelação das frações proteicas corando-se as bandas, o que gera o aspecto visto na Figura 2.^{1,3,5,6}

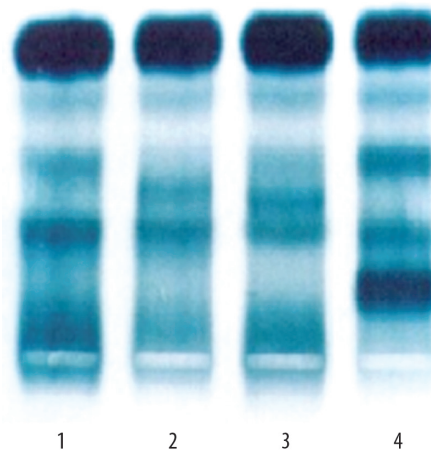


Figura 2 - Corrida eletroforética normal

As frações são quantificadas por densitometria ou eluição, gerando um gráfico (Figura 3) no qual as bandas podem ser comparadas, possibilitando melhor evidência de alguma anormalidade.^{1,3,5,6}

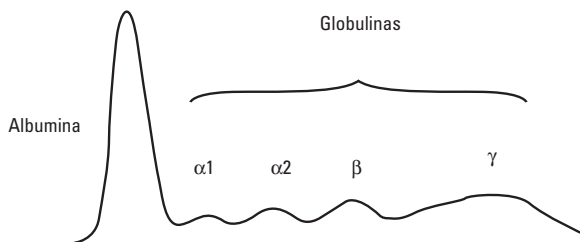


Figura 3 - Gráfico de corrida eletroforética normal

ALBUMINA

É a proteína mais abundante no plasma e corresponde a cerca de 60% da concentração total de proteínas.¹ É sintetizada exclusivamente no fígado e possui funções importantes no organismo, como transporte de diversas substâncias e manutenção da pressão oncótica.¹ Trata-se de uma das menores moléculas protéicas e, em conseqüência disso, tende a se perder na urina sempre que ocorre dano aos glomérulos renais.⁴

A hipoalbuminemia é uma condição altamente inespecífica e acompanha inúmeras doenças.⁴ Na EPS, pode se apresentar com um pico menor, significando queda em sua concentração sérica. Esse fato está relacionado a fatores comuns a diversas situações, como síntese prejudicada (cirrose hepática e hepatite viral), aumento do catabolismo (infecção bacteriana grave, neoplasias malignas, insuficiência cardíaca congestiva, doenças inflamatórias e infecciosas crônicas), ingestão protéica inadequada (desnutrição protéica) e perdas (por meio dos glomérulos renais e intestinos).^{1,2} Os menores níveis de albumina sérica estão presentes na síndrome nefrótica ou acompanhando as enteropatas perdedoras de proteínas² (Figura 4).

Outro aspecto relevante em relação ao estudo da albumina é o fato de que, em raras situações, pode-se encontrar mais de um tipo dessa proteína no soro humano, porém sem gerar manifestação clínica. Esse evento se reflete na EPS como um aumento na largura da faixa correspondente ou até mesmo na formação de duas faixas distintas.^{1,2}

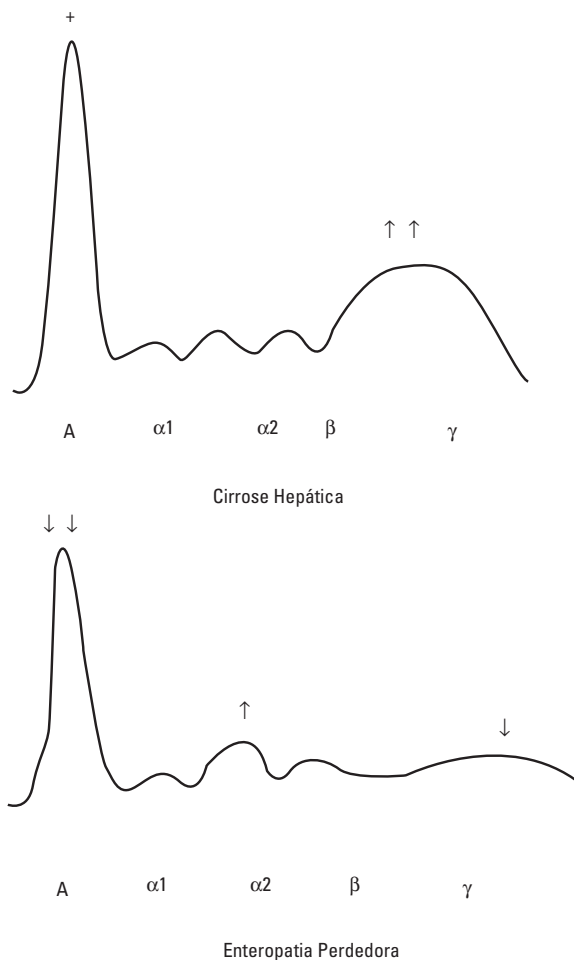


Figura 4 - Perfil eletroforético de entidades clínicas em que há redução da fração albumina. (A: albumina; α1: alfa-1-globulina; α2: alfa-2-globulina; β: betaglobulina e γ: gamaglobulina)

ALFA-1 GLOBULINAS

Esse grupo é constituído por um conjunto de várias proteínas, entre as quais a alfa-1-antitripsina, protrombina, transcortina, globulina ligadora de tiroxina e alfa-fetoproteína. Em geral, há aumento dessa fração em processos inflamatórios, infecciosos e imunes, de forma inespecífica.^{1,2,6}

A alfa-1-antitripsina corresponde a 90% do pico normal de alfa-1-globulina. Essa proteína é codificada por dois alelos co-dominantes denominados M (mais comum) e Z. A homozigose ZZ gera níveis insuficientes de alfa-1-antitripsina e está relacionada ao surgimento de enfisema panlobular grave, bem como uma forma rapidamente progressiva de cirrose, ambos de início ainda na primeira infância (Figura 5). Assim,

a EPS é adequado método de triagem perante a suspeita de deficiência grave dessa proteína. Diante da ausência da banda alfa-1 ou pico diminuído, é necessário completar a propedêutica com testes mais específicos.^{1,2}

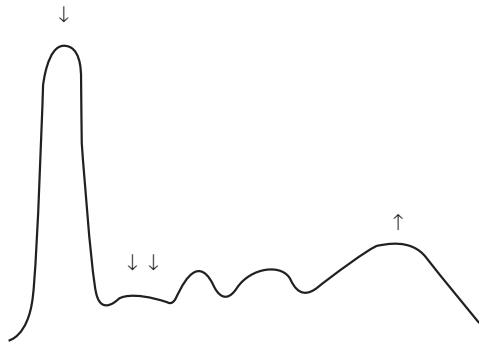


Figura 5 - Perfil eletroforético da deficiência de alfa-1 antitripsina

ALFA-2 GLOBULINAS

A banda alfa-2 é constituída por um grupo variado de proteínas, entre elas a haptoglobina, a alfa-2-macroglobulina, a ceruloplasmina, a eritropoetina e a colinesterase. Da mesma forma que as alfa-1-globulinas, as proteínas pertencentes a essa banda também se comportam como proteínas de fase aguda, aumentando sua concentração na presença de infecção, em processos inflamatórios e imunes^{1,2,6} (Figura 6). A alfa-2-macroglobulina e a haptoglobina correspondem à maior parte dessa banda.^{1,2}

A haptoglobina migra mais lentamente em

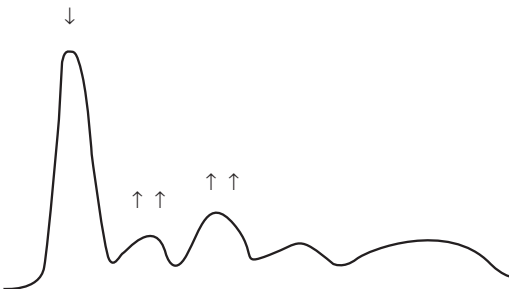


Figura 6 - Perfil eletroforético das proteínas de fase aguda

comparação com a alfa-2-macroglobulina e tem função de se ligar à hemoglobina circulante, permitindo que o complexo haptoglobina-hemoglo-

bina seja rapidamente removido da circulação.^{1,2} Após quadro de hemólise intravascular, no qual há importante gasto dessa proteína, os níveis séricos normais só são atingidos em torno de uma semana. A diminuição de seus níveis ou a ausência de haptoglobina (fenômeno presente em algumas populações) repercute formando uma banda mais clara na EPS.²

A alfa-2-macroglobulina é uma das maiores proteínas globulínicas presentes no plasma e sua concentração eleva-se em torno de 10 vezes ou mais na síndrome nefrótica, quando são perdidas as outras proteínas de peso molecular mais baixo. Nessa situação, pode atingir nível sérico igual ou maior que a albumina, conforme a Figura 7.

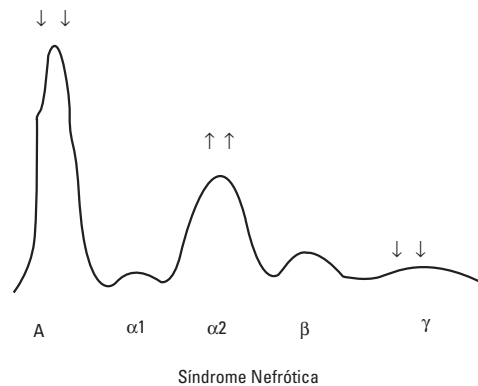


Figura 7 - Perfil eletroforético da síndrome nefrótica

BETAGLOBULINAS

Compostas por um grupo heterogêneo de proteínas, das quais as principais são: beta-lipoproteínas, transferrina e componente C3 do complemento. A transferrina possui o mais rápido padrão eletroforético das betaglobulinas e apresenta-se aumentada na anemia ferropriva, na gravidez e no uso de anovulatórios.^{1,2} O C3, por sua vez, é o componente com mais lenta migração e sua queda está relacionada às doenças glomerulares.²

A icterícia obstrutiva, o hipotireoidismo, alguns casos de *Diabetes mellitus* e aterosclerose podem apresentar excesso de colesterol sérico e, conseqüentemente, aumento das beta-lipoproteínas. A diminuição dessa fração é rara e, em geral, é utilizada como elemento de valor prognóstico, principalmente, nos processos de evolução crônica.⁷

GAMAGLOBULINAS

Fração constituída por imunoglobulinas (Igs) que são os anticorpos produzidos pelos plasmócitos, quando estimulados por antígenos ou devido à desordem clonal maligna dessas células. Há diferentes classes de Igs, sendo que todas são formadas por duas cadeias pesadas (G, A, M, D e E) e duas cadeias leves (kappa ou lambda), como mostra Figura 8.

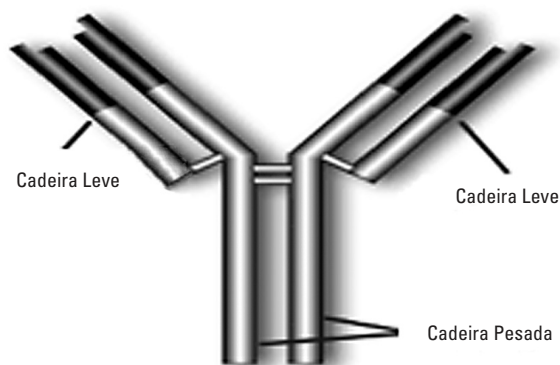


Figura 8 - Estrutura esquemática de imunoglobulina

A banda eletroforética da fração gamaglobulínica é composta pelas cinco maiores classes de Igs que, por ordem decrescente de concentração no plasma, são IgG, IgA, IgM, IgD e IgE (Tabela 1, Figura 9). Apenas a IgG apresenta migração por toda a banda da fração de gamaglobulinas. Assim, as alterações nessa banda refletem o que ocorre com esta imunoglobulina.² A IgA encontra-se na área de junção com a fração betaglobulina. A IgM, por sua vez, migra na região localizada entre IgA e IgG e é detectada quando estimulada (infecções agudas).

Tabela 1 - Características das imunoglobulinas

Tipo de Ig	Características
IgG	Migração por toda a fração gama Representa 73% das Igs normais Age contra antígenos bacterianos
IgA	Migração na junção das frações beta e gama Representa 19% das Igs normais Proteção de mucosas e fluidos corporais
IgM	Migração na junção das frações beta e gama Representa 5% das Igs normais Age na fase aguda de doenças infecciosas
IgD	Função desconhecida
IgE	Reação de hipersensibilidade

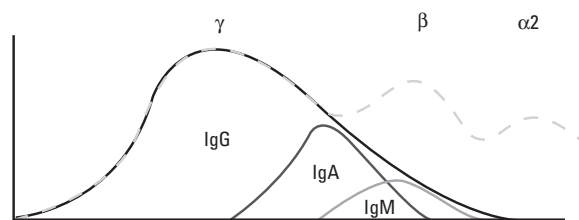


Figura 9 - Relação das imunoglobulinas com o padrão eletroforético de proteínas séricas

PRINCIPAIS PADRÕES ELETROFORÉTICOS DA FRAÇÃO GAMA

Pico policlonal - representa resposta imunológica simultânea de diversos clones plasmocitários a determinado estímulo antigênico, seja inflamatório, imune ou infeccioso, tais como tuberculose, esquistossomose, calazar, sarcoidose, linfogranuloma venéreo, sífilis, artrite reumatóide, lúpus eritmatoso sistêmico e politransusão de componentes sanguíneos, entre outros. Este padrão aparece como aumento difuso da fração gama, representado pela presença de uma curva de base larga, demonstrando a produção de todas as classes de imunoglobulinas^{1,2} (Figura10).

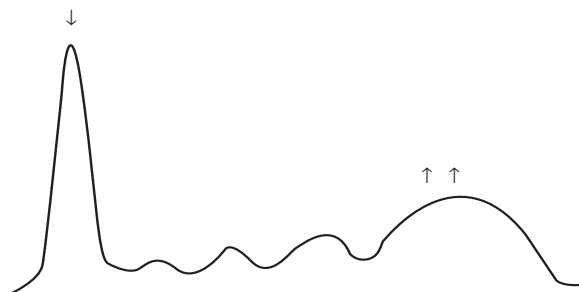


Figura 10 - Esquema ilustrativo de pico policlonal

Pico monoclonal - consiste no aumento homogêneo e fusiforme da fração gama, que representa a produção por um único clone plasmocitário de um tipo específico de imunoglobulina e, sendo essas moléculas idênticas entre si, apresentam a mesma mobilidade eletroforética, levando à produção de uma curva de base estreita conhecida como pico monoclonal^{1,2} (Figura 11). A proteína monoclonal geralmente gera um pico na fração gama, porém, este pode estar presente algumas vezes na fração beta, quando a imunoglobulina envolvida é a IgA. Esse padrão está associado às gamopatias monoclonais que constituem um grupo de desordens caracterizadas pela secreção de

imunoglobulina monoclonal ou fragmento desta. No mieloma múltiplo, principal entidade entre as gamopatias monoclonais, é fundamental a aplicação clínica da eletroforese de proteínas séricas como parte dos critérios diagnósticos.^{1, 8-10}

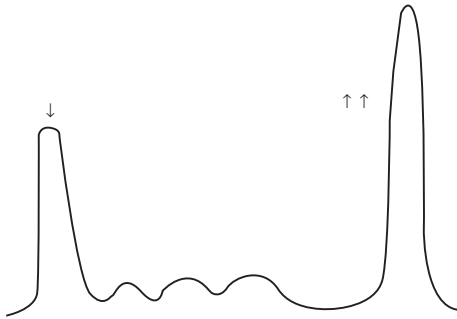


Figura 11 - Esquema ilustrativo de pico monoclonal

Hipogamaglobulinemia/ agamaglobulinemia – consiste na redução do nível das gamaglobulinas, geralmente sem alteração pronunciada nas outras regiões da globulina. Esta configuração é sugestiva da variante de cadeia leve do mieloma múltiplo (cerca de 20% dos casos de mieloma, no qual o pico monoclonal se encontra na eletroforese urinária e não na sérica, devido ao componente de cadeia leve exclusivo). Esse padrão também está presente nas hipo ou agamaglobulinemias congênicas ou secundárias, em que há ausência de um ou mais anticorpos específicos, que resulta em infecções freqüentes algumas vezes fatais.¹¹ (Figura 12).

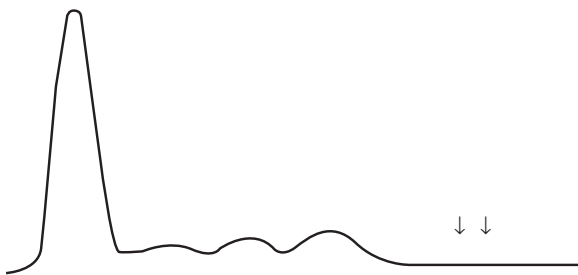


Figura 12 - Esquema ilustrativo de hipoglobulinemia/agamaglobulinemia

CONCLUSÕES

Para se conseguir interpretar bem o resultado de uma EPS, faz-se necessário conhecer o significado de cada banda das frações protéicas.¹ Assim, a albumina sofre alteração quando há pertur-

bação direta ou indireta na sua síntese, quando há consumo dessa proteína por diminuição da ingestão ou perda através de proteinúria ou via enteral. As frações alfa globulinas apresentam-se com níveis aumentados em todos os processos inflamatórios, infecciosos e imunes.^{1,2} O aumento das betaglobulinas representa perturbação do metabolismo dos lipídeos ou dificuldade na excreção biliar, verificadas nas colestases. O aumento na taxa da betaglobulina é encontrado, geralmente, nos casos de anemia ferropriva, por aumento da síntese de transferrina; e a queda dessa fração pode ter valor prognóstico nos processos de evolução crônica. A fração gamaglobulina apresenta taxas aumentadas todas as vezes que se verificar reação inflamatória, imune ou infecciosa, lembrando que tal aumento se dá de forma policlonal. Há também o aumento dessa fração de forma monoclonal presente em doenças linfoproliferativas, tais como o mieloma múltiplo. A hipogamaglobulinemia é verificada em anomalias congênicas ou em processos patogênicos que trazem a destruição do setor linfóide.⁷

É de grande importância médica conhecer e interpretar corretamente a EPS, uma vez que este exame facilita o diagnóstico de diversas doenças, possui baixo custo e é de fácil procedimento técnico. Apesar de sua finalidade não ser identificar proteínas específicas (uma vez que cada fração apresenta um conjunto de diversas proteínas), a proposta é o fornecimento dos componentes principais de cada fração protéica para facilitar o raciocínio clínico e auxiliar no diagnóstico de doenças que possuem padrões eletroforéticos característicos.

REFERÊNCIAS

1. McPherson RA. Proteínas específicas. In: Henry JB. Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais. 18ª ed. São Paulo: Manole; 1999. p.245-60.
2. Larson PH. Serum proteins: diagnostic significance of electrophoretic patterns. Hum Pathol. 1974 Nov; 5(6):629-40.
3. Moura RA, Wada CS, Purchio A, Almeida TV. Técnicas de laboratório. 3ª ed. São Paulo: Atheneu; 1998. p. 23-33.
4. Miller O, Gonçalves RR. Laboratório para o clínico. 6ª ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 1988. p.19-49.
5. Burtis CA, Ashwood ER. Fundamentos de química clínica. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998. p.96-102.

6. Guimarães RX, Guerra CCC. Clínica e laboratório: interpretação clínica de provas laboratoriais. 3ª ed. São Paulo: Sarvier; 1983. p.147-64.
7. Lima AO. Métodos de laboratório aplicados à clínica. 6ª ed Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1985. p.220-32.
8. Raikumar SV. MGUS and Smoldering Multiple Myeloma: update on pathogenesis, natural history, and management. *Hematology: Am Soc Hematol Educ Program*. 2005;340-5.
9. João MM, Menezes FL, Saavedra JA. Mieloma Múltiplo: a propósito de um caso raro de gamapatia biclonal IgD/lambda – Abordagem diagnóstica e atitudes terapêuticas. *Rev Soc Port Méd Intern*. 2002; 9 (3):167-76.
10. Dispenzieri A, Kyle RA Multiple myeloma: clinical features and indications for therapy. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2005;18(4):553-68.
11. Ravel R. Laboratório Clínico. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997.p.301-22.
12. Faria RMD, Silva CMF, Magalhães GHR. Mieloma Múltiplo- características clínicas ao diagnóstico. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2005, 27 (supl 2) :1-188, 165-166.
13. Hungria VTT, Maiolino A, Martinez G. Estudo retrospectivo do Mieloma Múltiplo em centros brasileiros- Aspectos epidemiológicos- Resultados preliminares. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2005, 27(Supl 2):1-188, 164.
14. International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol*. 2003; 121:749-57
15. Smith A, Wisloff F, Samson D Guidelines on the diagnosis and management of multiple myeloma 2005. *Br J Haematol*. 2005; 132:410-51.
16. Kyle RA, Rajkumar SV. Monoclonal gammopathies of undetermined significance: a review. *Immunol Rev*. 2003; 191:112-39.