

## **CAPÍTULO 13: PROTEÍNAS PLASMÁTICAS DE INTERESSE CLÍNICO**

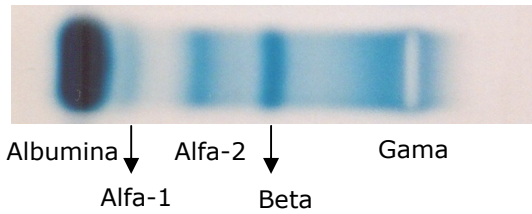
**Autores: Prof. Dr. Paulo Cesar Naoum**

**Biólogo: Paulo Francisco Naoum**

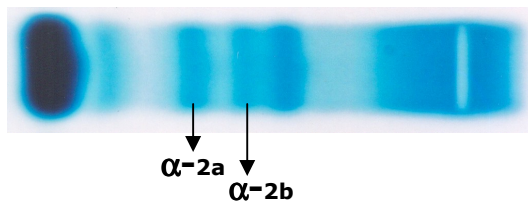
### **Introdução**

Cerca de 100 tipos diferentes de proteínas plasmáticas foram identificadas até o presente utilizando-se de técnicas sofisticadas e de alta sensibilidade. Entretanto, os métodos eletroforéticos e cromatográficos disponíveis para a investigação clínica permitem o fracionamento de cinco a sete frações: albumina, alfa-1, alfa-2, beta e gama, em geral, e pode ocorrer o sub-fracionamento de alfa-2 em duas frações, da beta globulina em duas frações, do complemento C3 na interzona beta-gama, e da proteína C-reativa na região distal da zona de gama. A figura 13.1a mostra o fracionamento padrão das proteínas séricas e as figuras 13.1b a 13.1e mostram as frações que raramente são fracionadas em eletroforese de rotina.

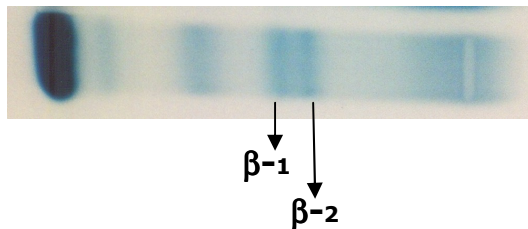
O uso de procedimentos eletroforéticos de alta resolução para as proteínas plasmáticas ou séricas, notadamente em gel de poliacrilamida e focalização isoelétrica, permitiram identificar várias proteínas que estão incluídas nas cinco zonas básicas de albumina, alfa-1, alfa-2, beta e gama, conforme mostra a tabela 13.1.



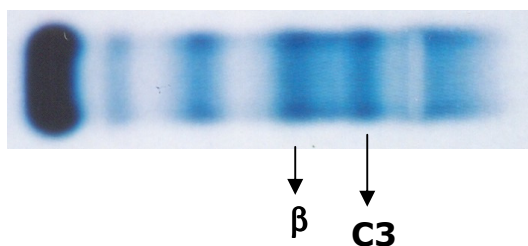
**Figura 13.1a:** Padrão normal com cinco frações: Albumina, alfa-1, alfa-2, beta e gama.



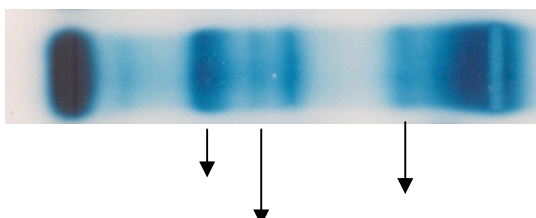
**Figura 13.1b:** Fracionamento com seis frações: Albumina, alfa-1, alfa-2a, alfa-2b, beta e gama\*.



**Figura 13.1c:** Fracionamento com seis frações: Albumina, alfa-1, alfa-2, beta-1, beta-2 e gama.



**Figura 13.1d:** Fracionamento com seis frações: Albumina, alfa-1, alfa-2, beta, complemento C3 e gama.



**Figura 13.1e:** Fracionamento com sete frações: Albumina, alfa-1, alfa-2a, alfa 2-b, beta, gama e proteína C reativa (PCR).

**Tabela 13.1 – Componentes protéicos das cinco zonas fracionadas em eletroforese de proteínas.**

<b>Zonas</b>	<b>Componentes Protéicos</b>
Albumina	Pré-albumina e Albumina
Alfa-1	Alfa-1 glicoproteína ácida, orosomucóide, alfa-1 antitripsina, alfa-lipoproteína
Alfa-2	Alfa-2 macroglobulina, haptoglobina, ceruloplasmina, alfa-1 antiqumotripsina, globulina insolúvel e pré-beta lipoproteína
Beta	Transferrina, hemopexina, beta lipoproteína, IgA, complemento C3
Gama	IgM, IgG, proteína C reativa e fibrinogênio (visível somente no plasma)

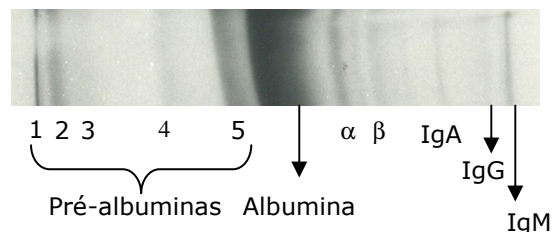
### **Componentes específicos**

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. Sua concentração normal é variável entre 5 e 7% ou 0,3 e 0,5 g/dL. 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 (figura 13.2). De forma geral, a pré-albumina pela sua pouca resolutividade eletroforética não tem sido considerada nas análises de eletroforeses de proteínas. Apesar disso, o interesse científico deverá desvendar no futuro outras relações com a pré-albumina, pois o fracionamento em gel de poliacrilamida revela que a pré-albumina é composta por pelo menos cinco sub-frações, conforme mostra um fracionamento obtido em nosso laboratório (figura 13.3).



**Figura 13.2:** Fracionamento de proteínas séricas por meio de eletroforese em acetato de celulose com alta resolução em hidragel. A foto mostra um caso com pré-albumina elevada (8% de concentração).



**Figura 13.3:** Fracionamento de proteínas séricas por meio de eletroforese em gel de poliacrilamida. Observe os subfracionamentos da pré-albumina em cinco pequenas frações além dos fracionamentos de IgA, IgG e IgM na zona de gama globulina.

Albumina – É a proteína com maior concentração no fracionamento das proteínas séricas ou plasmáticas (50 a 63% e 3,2 a 5,0 g/dL). As principais funções estão relacionadas com a atividade osmótica do plasma e a função específica do transporte de produtos de várias substâncias

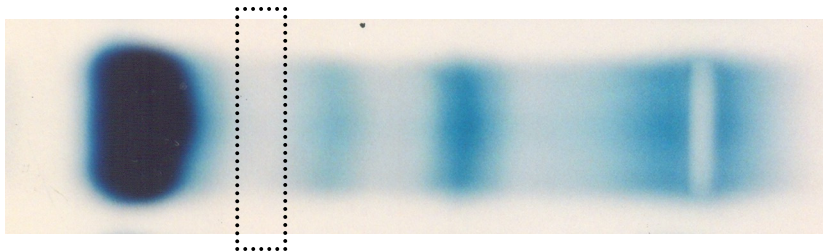
endógenas e exógenas, bilirrubina, ácidos graxos, corantes, cálcio e fármacos. A união com algumas substâncias, principalmente em casos de bilirrubinemia, modifica a carga elétrica da albumina, e isto se evidencia durante a eletroforese em que é possível observar uma fração de cor amarela (bilirrubina + albumina) que se destaca da própria albumina. Ao corar a eletroforese, a albumina associada ao conjugado de bilirrubina + albumina se revela como uma fração discretamente alongada (albumina rápida) em direção ao ânodo ou pólo positivo. A diminuição acentuada da concentração de albumina tem importantes significados clínicos, quer seja pela baixa síntese desta proteína no fígado (ex. hepatopatias), ou por acentuadas perdas: renal (ex. síndrome nefrótica), intestinal (ex. enteropatias) e cutânea (ex. queimaduras graves). Outras situações de diminuição discreta a moderada da concentração de albumina ocorrem nos processos inflamatórios agudos, subnutrição, má absorção e caquexia neoplásica. O aumento de albumina, por sua vez, se destaca em situações de hipogamaglobulinemia em que há intenso desequilíbrio da relação albumina/globulina (figura 13.4).



**Figura 13.4:** Agamaglobulinemia ou ausência de gama (eletroforese superior) desequilibra a relação albumina/globulinas e evidencia a supremacia quantitativa de albumina.

Alfa-1 globulina – Apesar desta fração ser composta por quatro proteínas específicas (ver tabela 13.1), somente a alfa-1 antitripsina é responsável pela sua revelação com os corantes usuais de eletroforese (Ponceau,

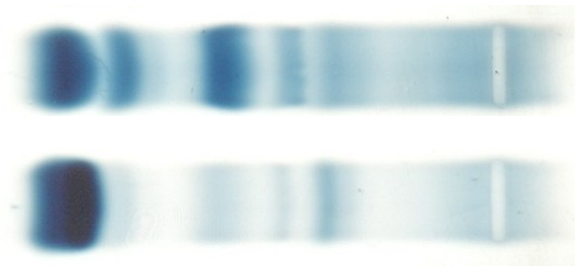
Negro de Amido e Azul de Bromofenol). Esta proteína é o componente mais importante entre os “inibidores de proteases”, termo usado para um grupo de proteínas que tem a função de neutralizar as atividades das enzimas proteolíticas, seja de natureza bacteriana ou leucocitária. Por essa razão a alfa-1-globulina aumenta sua concentração nos processos inflamatórios agudos. O comportamento desta fração é muito peculiar nas hepatopatias crônicas e agudas; em fases de consolidação da doença ocorre a elevação da alfa-1-antitripsina, e que tende a diminuir nas fases terminais da cirrose hepática. Por outro lado a deficiência hereditária de alfa-1-atitripsina, que se traduz em visível diminuição e até completa ausência da fração alfa-1 na eletroforese, é devido a uma variante genética desta proteína capaz de causar graves lesões fibrosantes do tecido pulmonar (enfisema na fase de adolescência e em adultos jovens), ou cirrose hepática na infância (figura 13.5).



**Figura 13.5:** Completa ausência da fração alfa-1 globulinas (linha pontilhada) em paciente com enfisema pulmonar crônico desde a adolescência.

Alfa-2-Globulina – Essa zona é determinada principalmente por duas proteínas (alfa-2-macroglobulina e haptoglobina) entre outras expostas na tabela 13.1. A alfa-2-macroglobulina, apesar de fazer parte dos “inibidores de proteases” tem interesse clínico específico, por exemplo sua elevação constante em pacientes com a síndrome da deficiência imunológica adquirida (AIDS). Por outro lado, o aumento fisiopatológico desta fração protéica ocorre por retenção seletiva durante a síndrome nefrótica e, por essa razão, é visível sua elevação em grau acentuado enquanto que a

albumina principalmente, e outras globulinas são excretadas pela urina. A figura 13.6a mostra um caso com síndrome nefrótica em comparação com a figura 13.6b de uma amostra normal.



**Figura 13.6a**

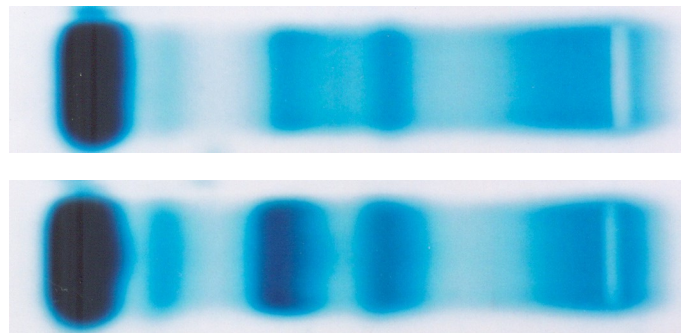
**Figura 13.6b**

**Figura 13.6a:** Eletroforese de proteínas séricas de amostra obtida de um paciente com síndrome nefrótica. Observar a diminuição de albumina e as elevações de alfa-1 e alfa-2 globulina. Esta última pode alcançar até 30% da concentração. **Figura 13.6b:** Fracionamento normal.

A diminuição da alfa-2 macroglobulina tem impacto na diminuição da fração de alfa-2 globulina, e essa situação pode ser observada nas hepatopatias crônicas de fase avançada, pois a síntese desta proteína ocorre no fígado.

A haptoglobina, por sua vez, tem interesse clínico como sensível marcador de hemólises. Como se sabe, a haptoglobina forma um complexo protéico com a hemoglobina livre plasmática e que, posteriormente, é removido do sangue pelo processo de fagocitose efetuado por macrófagos. Assim, nas síndromes hemolíticas, a haptoglobina é intensamente requisitada para se ligar às moléculas de hemoglobinas livres e, esse fato, causa sua marcante diminuição, com reflexo na queda de concentração de alfa-2-globulina. O aumento da haptoglobina acontece nos processos inflamatórios agudos, pois ela é considerada como uma das proteínas da fase aguda, e, portanto, nestes

eventos patológicos ocorre a elevação da fração de alfa-2-globulina (figuras 13.7a e 13.7b).



**Figura 13.7a**

**Figura 13.7b**

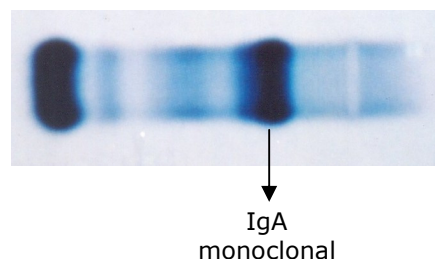
**Figura 13.7a:** Fracionamento normal. **13.7b:** Elevações de alfa-1 e alfa-2 em processo inflamatório agudo.

Beta globulina – Esta zona do traçado eletroforético é composta por várias proteínas (tabela 13.1) das quais a transferrina e o complemento C3 são as mais importantes sob o ponto de vista do significado clínico. Tecnicamente, a adição de 100mg de cálcio em um litro do tampão de eletroforese permite a separação dessas duas proteínas em beta-1 e beta-2 globulinas, respectivamente. A transferrina é sintetizada nas células hepáticas e sua função é o transporte do ferro plasmático, portanto, a elevação de sua concentração com reflexo no aumento da fração beta globulina é indicativo de carência de ferro. A diminuição da transferrina se observa nas hepatopatias crônicas.

O significado funcional do componente C3 do sistema complemento é bem conhecido, pois atua como mediador em numerosas reações imunitárias. Assim, a elevação do complemento C3 induz o aumento de beta globulina em processos infecciosos crônicos. Entretanto, a fração beta globulina elevada pode também indicar hiperlipidemia devido à beta lipoproteína ou LDL-colesterol (tabela 13.2).

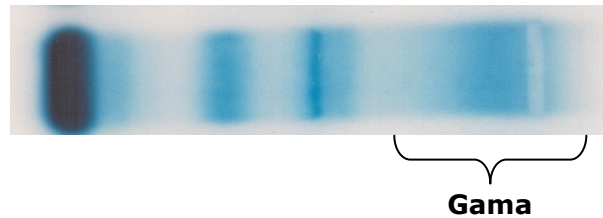


Destaque deve ser dado à elevação monoclonal, geralmente acentuada na zona beta globulina devido ao acúmulo de síntese de imunoglobulina IgA em pacientes com mieloma múltiplo. Apesar de ser classificada como uma gamopatia, a IgA tem mobilidade eletroforética entre as frações gama e beta, e muitas vezes – dependendo da sua estrutura molecular – na própria zona de beta, conforme mostra a figura 13.8.

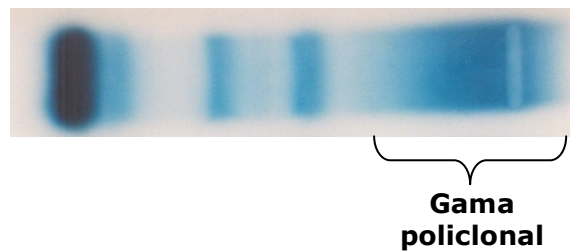


**Figura 13.8:** Mobilidade de IgA em gamopatia monoclonal na zona de beta globulina.

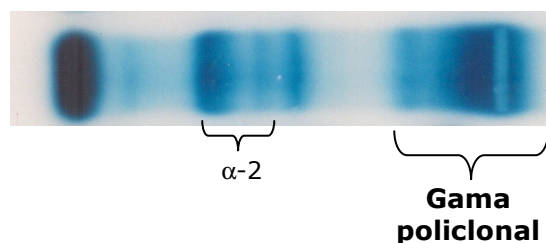
Gama globulina – A zona de gama globulina compreende todas as classes de imunoglobulinas, com destaque à IgG. A heterogeneidade molecular que caracteriza as imunoglobulinas não impede a migração em forma de uma banda compacta, apesar de visualmente mostrar-se esparsamente bem delimitada. A disposição esparsa caracteriza que vários clones de linfócitos B e plasmócitos estão sintetizando todas as classes e sub-classes de imunoglobulinas e, por essa razão, denomina-se de banda policlonal (figuras 13.9, 13.10 e 13.11).



**Figura 13.9:** Fracionamento normal, com a zona de gama globulina espalhada, porém bem delimitada. A concentração relativa de gama globulina nesta eletroforese é de 18,4% (normal: 11,8 a 20,2%).



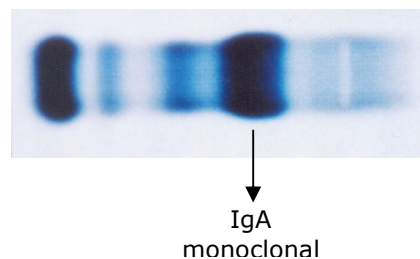
**Figura 13.10:** Fracionamento com elevação de gama com **distribuição policlonal** em paciente com virose. A concentração relativa de gama globulina nesta eletroforese é de 26,8% - elevação policlonal moderada da fração gama.



**Figura 13.11:** Fracionamento com elevação de gama com **distribuição policlonal** em paciente com processo inflamatório crônico. A concentração relativa de gama globulina nesta eletroforese é de 35,5% -

elevação policlonal acentuada da fração gama. Observar elevação da Alfa-2 globulina, comum em casos de inflamação crônica.

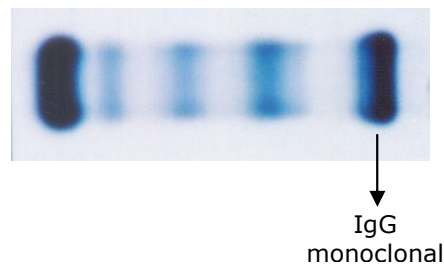
As gamopatias monoclonais determinadas por IgA, IgM e IgG ocupam posições distintas na ampla delimitação que caracteriza a zona de gama globulina. A IgA é a mais anódica, muitas vezes migrando na zona eletroforética de beta globulina (figura 13.12). A IgM é menos anódica e se posiciona discretamente além do ponto de aplicação na interzona beta-gama (figura 13.3). Por fim, a IgG ocupa efetivamente a região média de delimita a zona de gama globulina, algumas vezes em direção catódica (figura 13.14). É importante destacar que, apesar dos progressos verificados no fracionamento eletroforético das proteínas séricas ou plasmáticas, não é possível determinar com certeza se a fração monoclonal é IgA, IgM ou IgG. Para esta finalidade é necessário que se façam dosagens imunológicas específicas das imunoglobulinas ou imunoeletroforese com anti-soros específicos para estas imunoglobulinas.



**Figura 13.12:** Gamopatia monoclonal na zona de beta globulina que sugere ser IgA.

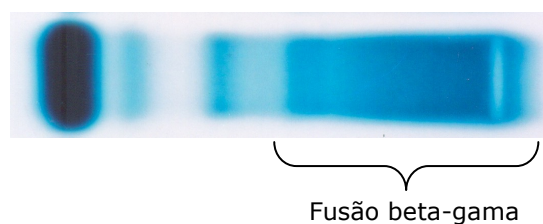


**Figura 13.13:** Gamopatia monoclonal na inter-zona beta-gama globulina que sugere ser IgM.



**Figura 13.14:** Gamopatia monoclonal na própria região de gama globulina que sugere IgG.

Finalmente há situações em que inexistente a delimitação entre as zonas de beta e gama globulinas. Nesses casos, o traçado gráfico mostra apenas quatro picos densitométricos: albumina, alfa-1, alfa-2 e fusão beta-gama. Manualmente é possível delimitar no gráfico as concentrações aproximadas de beta e de gama globulinas fundidas. Essa disposição de fusão beta-gama ocorre com frequência em eletroforeses de soro e plasma de pacientes que padecem de cirrose hepática (figura 13.15).



**Figura 13.15:** Eletroforese de proteínas séricas com destaque à disposição que caracteriza a fusão beta-gama.

## **Alterações eletroforéticas induzidas por patologias ou artefatos**

As variações de concentrações de proteínas séricas podem ser resultantes das consequências fisiopatológicas de diversas doenças e dos graus de lesões patológicas que afetaram o organismo do paciente (tabela 13.2). Além disso, algumas frações de proteínas séricas e plasmáticas podem sofrer influências de compostos e sub-compostos químicos de drogas medicamentosas, capazes de causarem alterações quantitativas artefatuais das frações. Da mesma forma as alterações artefatuais podem decorrer também da estocagem inadequada do soro e plasma, do tipo de eletroforese utilizada, do corante, etc. A tabela 13.3 resume as principais alterações artefatuais e induzidas por situações estruturais, físico-químicas e adquiridas.

**Tabela 13.2** – Relação entre alterações das proteínas séricas e plasmáticas com situações padrões e doenças frequentemente associadas.

<b>Situação padrão</b>	<b>Alterações eletroforéticas</b>	<b>Doenças associadas</b>
<b>Inflamação aguda</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Albumina normal ou diminuída</li> <li>• Elevações de alfa-1 e alfa-2 globulinas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Infecções agudas</li> <li>• Doenças inflamatórias</li> </ul>
<b>Inflamação crônica</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Albumina normal ou diminuída</li> <li>• Elevações de alfa-1 e alfa-2 globulina</li> <li>• Elevação policlonal de gama globulina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Doenças autoimunes</li> <li>• Doenças hepáticas crônicas</li> <li>• Infecções crônicas</li> <li>• Câncer</li> </ul>
<b>Hipoalbuminemia</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Albumina diminuída</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Câncer metastático</li> <li>• Desnutrição</li> <li>• Doenças que induzem perda protéica</li> </ul>
<b>Hipogama globulinemia</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Albumina normal ou diminuída (*)</li> <li>• Diminuição de gama globulina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Imunodeficiência congênita</li> <li>• Doenças linfoproliferativas</li> <li>• Inflamações intestinais</li> </ul>
<b>Gamopatia policlonal</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Elevação de gama globulina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Doença auto-imune</li> <li>• Infecções</li> <li>• Doenças hepáticas</li> </ul>
<b>Cirrose</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumento de gama globulina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cirrose hepática</li> </ul>
<b>Perda protéica</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Albumina diminuída (*)</li> <li>• Alfa-1 diminuída (*)</li> <li>• Alfa-2 diminuída(*)</li> <li>• Beta diminuída (*)</li> <li>• Gama diminuída (*)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Síndrome nefrótica (**)</li> <li>• Doenças exudativas da pele</li> <li>• Gastroenteropatias</li> </ul>
<b>Gamopatias monoclonais</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Albumina normal ou diminuída</li> <li>• Elevação monoclonal de gama globulina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mieloma múltiplo</li> <li>• Macroglobulinemia</li> <li>• Leucemia linfocítica crônica</li> <li>• Linfoma</li> </ul>
<b>Deficiência de alfa-1 anti-tripsina</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ausência de alfa-1 globulina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Deficiência de alfa-1 anti-tripsina</li> <li>• Enfisema pulmonar precoce</li> </ul>
<b>Hiper beta globulinemia</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Albumina normal ou diminuída</li> <li>• Aumento de beta globulina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Anemia por deficiência de ferro</li> <li>• Hiperlipidemia</li> <li>• Diabetes mellitus</li> </ul>

(\*) valor absoluto

(\*\*) na síndrome nefrótica ocorre elevações relativas (%) de alfa-1 e alfa-2 globulinas e diminuição das demais frações (ver fig. 13.6 a).

**Tabela 13.3** – Interferentes que alteram o fracionamento e as concentrações das proteínas séricas (ou plasmáticas).

<b>Interferentes</b>	<b>Alterações</b>
<b>Tipos de eletroforese</b>	A eletroforese por focalização isoelétrica influi na concentração de <b>albumina</b> , tornando-a menos concentrada quando comparada com outros tipos de eletroforeses.
<b>Soro hemolisado e Anemias hemolíticas</b>	Em situações de hemólises a <b>albumina</b> se mostra mais concentrada, diminui a concentração de <b>alfa-2-globulina</b> por consumo de haptoglobina e induz o aparecimento de uma fração entre alfa-2 e beta globulinas (globulina insolúvel).
<b>Soro icterico e Bilirrubinemias</b>	Situações comuns em anemias hemolíticas e hepatites: a <b>albumina</b> se mostra mais concentrada.
<b>Tempo de estocagem do soro</b>	Quanto maior o tempo a fração <b>beta globulina</b> diminui a sua concentração devido à decomposição de complemento C3.
<b>Doenças de cadeia gama pesada</b>	Ocorre a presença de uma <b>fração do tipo monoclonal</b> que pode ocupar qualquer espaço entre a alfa-2 e gama globulinas.
<b>Inflamações agudas</b>	É possível observar a Proteína C Reativa (PCR) na região anódica da zona de gama globulina.
<b>Uso de plasma em lugar de soro</b>	O fibrinogênio aparece entre a região de beta-2 e gama nas eletroforeses em agarose, e atrás da aplicação e distante da zona de gama nas eletroforeses em acetato de celulose.