

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE FARMÁCIA**

NATHALIA DOS SANTOS REZENDE

**AVALIAÇÃO DE FRAÇÕES PROTEICAS SÉRICAS OBTIDAS POR
ELETROFORESE E CORRELAÇÕES COM OS DADOS CLÍNICOS, DE
PACIENTES ATENDIDOS EM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO, NA CIDADE DE JUIZ
DE FORA-MG, NO PERÍODO DE JUNHO DE 2014 A JANEIRO DE 2016.**

**Juiz de Fora
2016**

NATHALIA DOS SANTOS REZENDE

**AVALIAÇÃO DE FRAÇÕES PROTEICAS SÉRICAS OBTIDAS POR
ELETROFORESE E CORRELAÇÕES COM OS DADOS CLÍNICOS, DE
PACIENTES ATENDIDOS EM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO, NA CIDADE DE JUIZ
DE FORA-MG, NO PERÍODO DE JUNHO DE 2014 A JANEIRO DE 2016.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Programa de Graduação em Farmácia, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial às exigências deste curso, para obtenção do título de Farmacêutico.

Orientador: Dr. Olavo dos Santos Pereira Junior
Co-orientador: Dra. Paula Rocha Chellini

**Juiz de Fora
2016**

Ficha catalográfica elaborada através do
programa de geração automática da
Biblioteca Universitária da UFJF, com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Rezende, Nathalia dos Santos.

Avaliação de frações proteicas séricas obtidas por eletroforese e correlações com os dados clínicos de pacientes atendidos em hospital universitário, na cidade de Juiz de Fora-MG, no período de junho de 2014 a janeiro de 2016 / Nathalia dos Santos Rezende. -2016.

50 p.

Orientador: Dr. Olavo dos Santos Pereira Junior

Coorientadora: Dra. Paula Rocha Chellini

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia e Bioquímica, 2016.

1. Eletroforese de Proteínas. 2. EPS. I. Junior, Dr. Olavo dos Santos Pereira, orient. II. Chellini, Dra. Paula Rocha, coorient. III. Título.

NATHALIA DOS SANTOS REZENDE

**AVALIAÇÃO DE FRAÇÕES PROTEICAS SÉRICAS OBTIDAS POR
ELETROFORESE E CORRELAÇÕES COM OS DADOS CLÍNICOS, DE
PACIENTES ATENDIDOS EM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO, NA CIDADE DE JUIZ
DE FORA-MG, NO PERÍODO DE JUNHO DE 2014 A JANEIRO DE 2016.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Programa de Graduação em Farmácia, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial às exigências deste curso, para obtenção do título de Farmacêutico.

Data: 02 de agosto de 2016

BANCA EXAMINADORA

Titulação: Dr. Olavo dos Santos Pereira Junior
Universidade Federal de Juiz de Fora

Titulação: Dra. Paula Rocha Chellini
Universidade Federal de Juiz de Fora

Titulação: Sônia Maria Castro
Universidade Federal de Juiz de Fora

Dedico esse trabalho a Deus por permitir que tudo isso fosse possível, à minha família, em especial aos meus pais pelo incentivo de sempre.

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter me proporcionar saúde, me guiar e iluminar para que esta conquista fosse concluída.

Aos meus pais por todo amor, incentivo e dedicação nesse anos.

Aos meus familiares, em especial a minha irmã pelo carinho.

Ao Professor Dr. Olavo pela sugestão do tema, pela orientação e os ensinamentos.

À professora Dra. Paula Chellini, pela orientação e apoio ao trabalho.

À Sonia, do Laboratório de Análises Clínicas do HU/CAS, pela ajuda.

Ao meu namorado João Victor pela motivação e paciência.

Aos amigos, que tornaram a faculdade mais leve e prazerosa.

E a todos aqueles que de alguma forma, direta ou indiretamente, colaboraram para realização deste trabalho.

“No meio da confusão, encontre a simplicidade. No meio da discórdia, encontre a harmonia. No meio da dificuldade, reside a oportunidade”.

(Albert Einstein)

RESUMO

Eletroforese de proteínas séricas (EPS) é um teste fácil, barato e rotineiramente utilizados em laboratórios clínicos para investigação e diagnóstico de anormalidades proteicas. Desta forma, este trabalho teve como objetivo a realização de um estudo de caráter retrospectivo, e que através de prontuários dos pacientes que se submeteram ao exame de EPS, entre o período de junho de 2014 à janeiro de 2016 no CAS/ HU-UFJF, foi feita avaliação dos resultados e relacionando com os dados clínicos disponíveis. Em um total de 200 exames, 161 estavam com o resultado alterado, representando uma frequência de 80,5%, sendo considerado alteração quando pelo menos uma fração estava fora do valor de referência. Ao desconsiderar os exames decorrentes de segunda amostra, obtivemos um total de 187 pacientes. Dos alterados, 82 pacientes pertenciam ao sexo feminino e 62 ao sexo masculino e não houve diferenças significativas nas alterações de cada fração com relação ao sexo. Considerando as faixas etárias, foram 72 exames de pacientes acima de 60 anos e que representaram maior frequência de resultados alterados, sendo 39,73%. Somente 42 resultados da EPS corresponderam corretamente com o diagnóstico clínico, isto devido a dificuldade de associar as alterações ao diagnóstico pela falta de informações no prontuário do paciente.

Palavras-chave: 1. Eletroforese de proteínas; 2. EPS; 3. Diagnóstico

ABSTRACT

Serum protein electrophoresis (EPS) is an easy test, inexpensive and routinely used to clinical laboratories for research and diagnosis of protein abnormalities. Thus, the presente work is aimed to carry out a retrospective study, throughout medical records of patients who underwent EPS exam, from June 2014 to January 2016 in CAS / HU-UFJF. An evaluation of the results was made, relating it with the available clinical data. From a total of 200 tests, 161 were with the modified result, representing a frequency of 80.5%, considered modified when at least one fraction was out of the reference value. Disregarding the tests resulting from the second sample, we obtained a total of 187 patients. Within the changed, 82 patients were female and 62 were male and there were no significant differences in change of each fraction in relation to sex. Considering the age of the groups, were done 72 examinations of patients over 60 years, representing the more frequent changed results, with 39.73%. Only 42 EPS results correctly corresponded with the clinical diagnosis, this is due to the difficulty of linking the changes with the diagnose because of the lack of information in the patient record.

Keywords: 1. Protein electrophoresis; 2. EPS; 3. Diagnostic

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura geral dos aminoácidos.....	17
Figura 2 - Formação da ligação peptídica.....	17
Figura 3 - Cadeia polipeptídica hipotética apresentando grupos ionizáveis.....	22
Figura 4 - Representação do fracionamento das proteínas no suporte.....	23
Figura 5 - Gráfico de corrida eletroforética normal.....	25
Figura 6 - Ilustração da instrumentação básica de uma eletroforese em gel.....	26
Figura 7 - Principais proteínas encontradas em cada fração.....	29
Figura 8 - Gráfico padrão de cirrose hepática.....	32
Figura 9 - Gráfico padrão de deficiência de alfa-1 antitripsina.....	33
Figura 10 - Gráfico padrão de síndrome nefrótica.....	34
Figura 11 - Gráfico padrão de processos inflamatórios agudos.....	34
Figura 12 - Gráfico padrão de anemia por deficiência de ferro.....	35
Figura 13 - Gráficos padrões de gamopatias.....	37
Figura 14 - Resultado do exame de EPS com fusão beta e gama globulinas.....	47

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** - Frequência dos resultados alterados e não alterados dos exames de eletroforese realizados no período de junho 2014 a janeiro de 2015.....39
- Gráfico 2** - Prevalência de resultados alterados, de acordo com o sexo.....41
- Gráfico 3** - Relação do número de pacientes com alteração nos resultados, de acordo as faixas etárias.....42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Exemplos de proteínas e suas funções.....	20
Tabela 2 - Valores de referência para as frações proteicas reveladas na EPS.....	31
Tabela 3 - Exames de eletroforese de proteínas realizados no período de junho de 2014 a janeiro de 2016.....	41
Tabela 4 - Número de pacientes em relação a faixa etária e frequência de alterações.....	42
Tabela 5 - Análise estatística descritiva das frações proteicas.....	44
Tabela 6 - Número de frações alteradas e total de exames.....	45

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1	PROTEÍNAS.....	16
2.1.1	Conceito	16
2.1.2	Estrutura	18
2.1.3	Função	20
2.1.4	Proteínas como eletrólitos	21
2.2	ELETROFORESE DE PROTEÍNAS.....	22
2.2.1	Histórico	22
2.2.2	Definição e princípios	24
2.2.3	Tipos de eletroforese de proteínas	27
2.2.3.1	<i>Eletroforese de zonas</i>	27
2.2.3.1	<i>Eletroforese capilar</i>	27
2.2.4	Frações proteicas séricas detectadas na EPS e seu significado	
	Clínico	29
2.2.4.1	<i>Pré- albumina</i>	31
2.2.4.2	<i>Albumina</i>	31
2.2.4.3	<i>Alfa-1 globulinas</i>	32
2.2.4.4	<i>Alfa-2 globulinas</i>	33
2.2.4.5	<i>Beta globulinas</i>	35
2.2.4.6	<i>Gama globulinas</i>	36
3	OBJETIVOS	37
3.1	GERAL.....	37
3.2	ESPECÍFICO.....	37
4	METODOLOGIA E MÉTODOS	38
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
6	CONCLUSÃO	47
	REFERÊNCIAS	48

1 INTRODUÇÃO

O termo eletroforese se refere à migração de solutos ou partículas carregadas em um meio líquido sob influência de um campo elétrico. As proteínas são macromoléculas eletricamente carregadas, compostas por aminoácidos, com ligações covalentes entre si, podendo ser polares ou apolares, devido à distribuição elétrica resultante das ligações covalentes ou iônicas de seus grupos estruturais. Dessa forma, a Eletroforese de Proteínas permite a separação de diferentes tipos de proteínas do sangue, urina, líquor e outros líquidos biológicos, determinando as suas proporções relativas (AZIM, *et al.*, 2004; MILLER, 1988).

Existem elevado número de proteínas totais identificadas no soro e que participam de processos celulares importantes. Cada proteína desempenha uma função específica bioquimicamente, sendo que, suas concentrações podem ser afetadas por processos patológicos. Técnicas para separar e isolar as proteínas são fundamentais para estudar e compreender as suas características funcionais, tendo grande importância em laboratórios clínicos. Uma das técnicas amplamente utilizada para esta finalidade é a Eletroforese de Proteínas Séricas (EPS), o exame facilita o diagnóstico de diversas doenças, possui baixo custo e é de fácil procedimento técnico (KURIEN; SCOFIELD 2012).

O exame consiste em aplicar a amostra do soro do paciente 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, beta globulina e gama globulina. Essas bandas são, em seguida, quantificadas (MOURA, 1998).

É de grande importância clínica interpretar corretamente a EPS, pois a análise das proporções das frações proteicas séricas tem considerável valor na abordagem de desordens agudas e crônicas, paraproteinemias, hemoglobinopatias, deficiência imunitária e anormalidades genéticas, também é útil, juntamente com outras investigações em doença hepática e neoplasias como mieloma múltiplo. Dessa forma, o exame ajuda no raciocínio clínico e auxilia no diagnóstico de doenças que possuem padrões eletroforéticos característicos (RAMPRASAD, SIDDAPPA; 2015; LIMA, *et al.*, 1985).

A EPS também pode ser uma ferramenta importante para monitorar pacientes por longos períodos, quando existem alterações específicas nos níveis de determinadas frações de proteínas (AZIM, *et al.*, 2004).

O presente estudo teve como objetivo avaliar o perfil dos pacientes submetidos a EPS, e relacionar os resultados das frações proteicas séricas, com o diagnóstico clínico presente no prontuário do paciente.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 PROTEÍNAS

2.1.1 Conceito

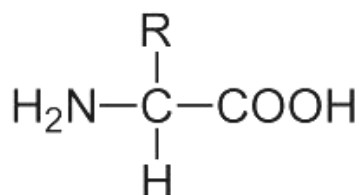
As proteínas são as biomoléculas mais abundantes presente nos seres vivos. Elas estão em todas as células e participam de processos celulares. O número de proteínas distintas dentro de uma célula humana é estimado entre 3.000 a 5.000. Exibem grande variedade em relação a tamanho e estrutura, podem ser peptídeos pequenos até polímeros de alto peso molecular, e apresentam diversas funções biológicas (NELSON, 2008).

São formadas por unidades monoméricas chamadas α -aminoácidos, unidos entre si por um tipo específico de ligação covalente em sequências lineares, chamada de ligação peptídica (MOTTA, 2003).

Constituídas por 20 aminoácidos-padrão diferentes, reunidos em combinações infinitas, possibilitando a formação de milhões de estruturas. Estas combinações permitem às células a produção de proteínas com diferentes tamanhos, formas, estruturas, propriedades e funções (SILVA, *et al.*, 2008). A sequência de aminoácidos, que define as características das proteínas, é determinada pelas informações genéticas contidas no núcleo da célula (KEREN, 2003).

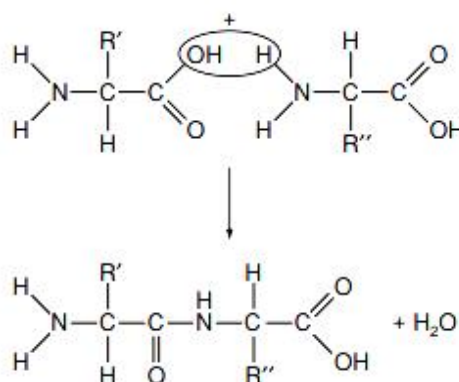
Por hidrólise, as proteínas podem apresentar somente aminoácidos, são as proteínas simples, ou além dos aminoácidos apresentam outros compostos orgânicos ou inorgânicos, são as proteínas conjugadas. A porção não proteica é denominada de grupo prostético (HAMILTON; BLACKSTOCK, 1998).

Os α -aminoácidos possuem um átomo de carbono central ($-\alpha$) onde estão ligados covalentemente a um grupo amino primário ($-\text{NH}_2$), um grupo carboxílico ($-\text{COOH}$), um átomo de hidrogênio ($-\text{H}$), e uma cadeia lateral (R) (NELSON, 2008). A **Figura 1** mostra a estrutura geral dos aminoácidos encontrados em proteínas.

Figura 1 - Estrutura geral dos aminoácidos

Fonte: NELSON, 2008.

Para formar as ligações peptídicas, os polímeros lineares de aminoácidos, os peptídeos, se ligam covalentemente, por ligações amida do grupo COOH de um aminoácido com o grupo NH₂ de outro aminoácido, com remoção da água formado pela reação de condensação. Após a incorporação a cadeia, os aminoácidos se tornam resíduos (CAMPBELL, 2000). A **Figura 2** representa essa reação.

Figura 2- Formação da ligação peptídica

Fonte: KEREN, 2003.

Os α-aminoácidos são classificados em classes de acordo com a natureza da cadeia lateral (R), que podem variar em relação ao tamanho, forma, carga elétrica, reatividade química, capacidade de formar pontes de hidrogênio e características

hidrofóbicas. Portanto, é a cadeia lateral (R) que diferencia cada aminoácido e caracteriza as suas propriedades (HAMILTON; BLACKSTOCK, 1998).

Tendo como base a polaridade, o grupo R varia amplamente, podem apresentar grupos R não polares e alifáticos, grupos R aromáticos, grupos R não carregados, e grupos R carregados negativamente, ácidos, ou positivamente, básicos. Dessa forma, o grupo R adiciona a cada molécula carga elétrica distinta (SILVA, *et al.*, 2008; McKEE. T; McKEE, J. R, 2003).

2.1.2 Estrutura

Cada proteína possui uma configuração espacial específica, que é determinada pela sequência de aminoácidos e pelo grau de inclinação entre as ligações químicas proporcionada pelos arranjos intermoleculares, que as classificam em quatro níveis diferentes de conformação estrutural (MOTTA, 2003; HOLDE, 1975).

O primeiro nível de conformação estrutural é a estrutura primária da proteína, que é relacionada à sequência linear, ao número e o tipo de aminoácidos, dados pela sequência de nucleotídeos da molécula de DNA responsável pela síntese. A estrutura é estabilizada pelas ligações peptídicas e ligações dissulfeto. Uma modificação, pela ausência ou acréscimo de aminoácidos à estrutura primária, pode ser responsável pela ineficácia ou perda da sua função (KEREN, 2003).

As proteínas apresentam arranjos tridimensionais com dobramentos regulares denominados estruturas secundárias das proteínas, que podem ser α -hélice ou β -folha pregueada (VIEIRA, 2003).

Na estrutura α -hélice, a molécula polipeptídica se apresenta como uma hélice orientada para a direita, mantida por ligações de hidrogênio arranjadas entre os grupos C=O e o H-N das ligações peptídicas, e as cadeias laterais R dos aminoácidos projetam-se para fora da hélice (HOLDE, 1975).

A estrutura de folha- β pregueada resulta da formação de ligações de hidrogênio entre duas ou mais cadeias polipeptídicas adjacentes. Essas ligações ocorrem entre os grupos C=O e N-H de ligações peptídicas pertencentes às cadeias polipeptídicas vizinhas (VIEIRA, 2003; CANTOR, 1980).

A estrutura terciária corresponde às relações da cadeia polipeptídica no sentido de estabilizar a conformação tridimensional. Muitos tipos de interações químicas podem ocorrer. As mais fortes são as ligações covalentes, há, ainda a formação de ligações de hidrogênio, interações eletrostáticas e interações fracas de van der Waals entre os grupamentos R (NELSON, 2008).

Muitas proteínas são multiméricas, ou seja, são compostas por duas ou mais cadeias polipeptídicas. O arranjo espacial das subunidades é conhecido como estrutura quaternária das proteínas, estabilizadas essencialmente por ligações fracas, tais como interações hidrofóbicas, interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio (VIEIRA, 2003).

De acordo com esses níveis de organização estrutural, as proteínas podem ser classificadas em dois grupos principais, as proteínas fibrosas, e as proteínas globulares (HOLDE, 1975).

As proteínas fibrosas contêm altas proporções de estruturas secundárias regulares, como α -hélices ou folha β -pregueadas. Compõem os materiais estruturais de órgãos e tecidos, dando a eles forma, suporte, elasticidade e/ou resistência (BRANDEN; TOOZE, 1999). Em geral, são pouco solúveis em água pela presença de teores elevados de aminoácidos hidrofóbicos tanto no interior como no exterior das cadeias polipeptídicas (NELSON, 2008).

As proteínas globulares possuem cadeias polipeptídicas enoveladas firmemente em estruturas tridimensionais compactas com forma esférica ou elipsoide. A solubilidade em água é relativamente elevada pois as cadeias laterais hidrofóbicas dos aminoácidos estão orientadas para o interior das estruturas, enquanto os grupos polares hidrófilos estão situados externamente (MURAY; RODWELL 2008).

2.1.3 Função

As proteínas são extremamente importantes para o organismo, pois permitem manter a integridade celular. As funções biológicas atribuídas são variadas e específicas a cada uma (NELSON, 2008).

Proteínas podem se ligar a íons ou a moléculas específicas, podendo migrar de um órgão para o outro, realizando o transporte de íons, hormônios, vitaminas, metais, drogas e oxigênio. As proteínas estruturais servem como filamentos de suporte, para fornecer proteção ou resistência às estruturas biológicas. Elas podem se apresentar altamente específicas e com atividade catalítica, onde participam das reações orgânicas. Defendem o organismo contra a invasão de espécies de hospedeiros, reconhecendo e precipitando ou neutralizando, os invasores. Atuam regulando atividades celulares ou fisiológicas. Funcionam como tampões, mantendo vários meios e participando do equilíbrio osmótico das células. E também são fundamentais na nutrição e no armazenamento de substâncias e fluidos corporais (CAMPBELL, M. K, 1999).

A **Tabela 1** apresenta alguns exemplos de proteínas e suas principais funções no organismo.

Tabela 1 - Exemplos de proteínas e suas funções

Proteína	Função
Hemoglobina, mioglobina	Transporte de gases respiratórios
Imunoglobulinas	Defesa orgânica (anticorpos)
Insulina, Glucagon, A-CHT, GH	Hormônios
Angiotensina	Polipeptídeo responsável pela regulação do metabolismo hídrico
Receptores celulares	Comunicação celular
Miosina, Actina	Contração muscular
Tubulina	Citoesqueleto (divisão célula)
Ovoalbumina (do ovo), zeína (do milho), caseína (do leite)	Reserva energética
Albumina Humana	Transporte plasmático de compostos endógenos e exógenos
Queratina (unhas), colágeno (tecido conjuntivo), elastina (tendões), fibroína (teia de aranha)	Estrutural
Hexoquinase, DNAPolimerase, tripsina, lipase, amilase	Enzimas

Fonte: VIEIRA, 2003.

2.1.4 Proteínas como eletrólitos

O grupo α -amino e grupo α -carboxila de todos os aminoácidos não terminais, presentes na cadeia polipeptídica nas proteínas, estão ligados covalentemente pela ligação peptídica, a qual não se ioniza. Dessa forma, os polipeptídios possuem cargas elétricas devido aos grupos α -amino e α -carboxila terminais e principalmente, aos grupos ionizáveis da cadeia lateral (R) dos resíduos de aminoácidos (MOTTA, 2003).

A carga elétrica de uma proteína depende do número de cadeias ionizáveis, o valor do pK, e do pH do meio. O pH onde as somas das cargas negativas é igual ao das cargas positivas é denominado ponto isoelétrico (pI) da proteína (NELSON, 2008).

O pI varia de uma proteína para outra e depende dos valores individuais do pK de todos os grupos ionizáveis presentes nas cadeias laterais dos aminoácidos e dos extremos das cadeias polipeptídicas. O pI das proteínas estão, em geral, entre 4 e 7 (MOTTA, 2003; McKEE. T; McKEE, J. R, 2003).

Essas propriedades são exploradas em técnicas de laboratório clínico, para separar frações de proteínas presentes nos líquidos biológicos (AZEVEDO, 2003).

A **Figura 3** representa uma cadeia polipeptídica hipotética que contém os grupos ionizáveis α -amino e α -carboxila terminais e cadeia lateral (R) dos resíduos de aminoácidos, que contribuem com a carga elétrica da proteína.

No final do século XIX teve início o desenvolvimento de metodologias para a medição dos componentes proteicos presentes no sangue. Mehu, um químico francês do Hospital Necker de Paris, publicou em 1878, um método de quantificação das proteínas que as chamou de albumina ou albuminoides (TORRES FILHO, 2008).

A comprovação de que as proteínas, podem ser separadas através das suas características de mobilidade frente a campos elétricos, constituindo o fundamento da eletroforese, teve início com os estudos de Michaelis, em 1909. Ao longo de alguns anos, cientistas como Sverdberg e Scott (1924), Sverdber e Tiselius (1926) e Theorell (1935) trabalharam para aperfeiçoar a técnica (BURTIS; ASHWOOD, 2001).

A base para a eletroforese de proteínas foi fundamentada em um método desenvolvido em 1937 pelo bioquímico sueco Arne Tiselius. Em seu trabalho científico relatava o fracionamento das proteínas séricas por eletroforese, realizada na época em equipamentos similares aos de baterias de automóveis, onde as separações das frações ocorriam em meio líquido. Esse tipo de eletroforese foi denominada de eletroforese de fase líquida e foi introduzida como método de auxílio ao diagnóstico clínico. Por ser de aplicação difícil e custo caro, ficou restrita a área científica em apenas algumas instituições de pesquisas (Oliveira, *et al.*, 2015).

Linus Pauling e colaboradores publicaram em 1949, na revista Science, o fracionamento eletroforético da hemoglobina S usando a eletroforese em papel filtro. Para realizar a técnica era preciso de doze a dezoito horas para fracionar proteínas, e foi empregada no uso laboratorial para análises específicas nos estudos de proteínas séricas, lipoproteínas e hemoglobinas (PAULING *et al.*, 1949). A técnica tinha a desvantagem de ter baixa reprodutibilidade, tempo demorado e o papel utilizado, por não ser transparente, dificultava a quantificação das frações proteicas (LANDERS, 2008).

Em 1953 foi desenvolvido pelos imunologistas franceses Curtis Willians e Pierre Grabar, um novo método que foi nomeado de imunoeletroforese. Baseava-se na técnica de eletroforese que permitia a separação das frações proteicas a partir da precipitação de imunoglobulinas, os anticorpos. Se destacava por utilizar uma fina película e gel de ágar espalhado sobre lâminas de vidro. Posteriormente, esse método foi aperfeiçoado para outros tipos de proteína como enzimas, lipoproteínas e hemoglobinas, permitindo à quantificação por densitometria, apresentando excelente

reprodutibilidade e sensibilidade, além de um curto tempo de quatro horas para a corrida eletroforética. O surgimento de problemas com o grau de impureza do gel de agarose possibilitou, a partir de 1970, a padronização de métodos industriais para a purificação deste (NAOUM, 2012).

A descoberta do gel de agarose proporcionou avanços da técnica de eletroforese. Diferentes tipos de amostras, como soro, plasma, líquor ou hemolisado de hemoglobinas eram utilizados para o exame, no mesmo suporte de gel, o que tornava a técnica mais prática e viável na rotina laboratorial. Foi estimulado a elaboração de outros tipos de géis, como o gel de amido (1955) e o de acrilamida (1959). Destes, apenas o gel de acrilamida foi adaptado e melhorado. O gel de amido caiu em desuso por dificultar a corrida eletroforética, pois levava cerca de 15 horas, além de necessitar de refrigeração (JEPPSON et al., 1979). A partir do gel de acrilamida foi desenvolvido o gel de poliacrilamida, com características físicas como densidade, elasticidade, transparência e tamanho dos poros ideais para uma eletroforese altamente seletiva (NAOUM, 2012).

Graham e Grunbaum, buscando desenvolver técnicas mais práticas para a realização da eletroforese na rotina laboratorial criaram, em 1963, o método para fracionamento de proteínas e enzimas utilizando como suporte o acetato de celulose. A técnica obteve êxito por ser simples, barata e permitir excelente grau de separação e quantificação das frações proteicas (RICHES & KOHN, 1987).

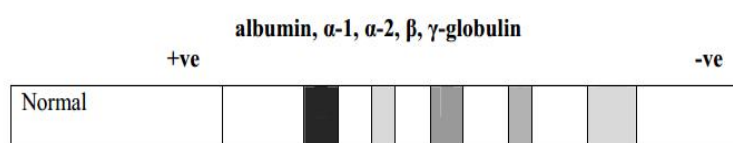
Uma das últimas técnicas a ser desenvolvida foi a eletroforese capilar, em 1986, por Lauer e Mc Manigill, onde uma corrente eletrosmótica é criada dentro de um tubo capilar conectado a dois reservatórios contendo solução tampão, onde um reservatório representa o polo positivo (ânodo) e o outro o polo negativo (cátodo). Essa técnica tem uma vasta aplicação, por fracionar desde moléculas pequenas até as mais volumosas e complexas, como proteínas e ácidos nucleicos, de forma rápida e eficiente (SPUDEIT et al., 2012).

2.2.2 Definição e princípios

A técnica da Eletroforese de Proteínas Sericas (EPS), utiliza forças eletroforéticas e eletroendosmóticas, onde um pólo positivo (ânodo) e outro negativo

(cátodo) geram um potencial elétrico. Este potencial promove a migração das proteínas. Elas percorrem distâncias distintas, gerando uma separação diferencial em zonas, representadas por albumina, globulinas alfa-1 (α -1) e alfa-2 (α -2), beta (β) e gama (γ). A albumina encontra-se mais próximo do polo positivo e os próximos componentes, que são alfa-1, alfa-2, beta e gama, encontram-se em direção ao polo negativo (**Figura 4**) (MCPHERSON, 2011).

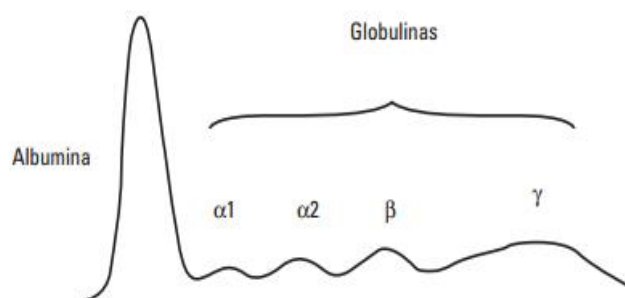
Figura 4 – Representação do fracionamento das proteínas no suporte



Fonte: AZIM, *et al.*, 2004.

As frações separadas são coradas a partir de um corante sensível às proteínas. A quantificação é feita através de eluição, utilizando a espectrometria de massas, ou pelo escaneamento por densitometria, através de um sistema computacional. Os resultados são expressos em porcentagem (%), e gramas por decilitros (g/dL) de concentração das frações e é gerado um gráfico, permitindo melhor visualização de possíveis alterações (AZIM, *et al.*, 2004). A **Figura 5** representa o gráfico gerado pela corrida eletroforética, com valores normais para as frações proteicas séricas.

Figura 5 – Gráfico de corrida eletroforética normal

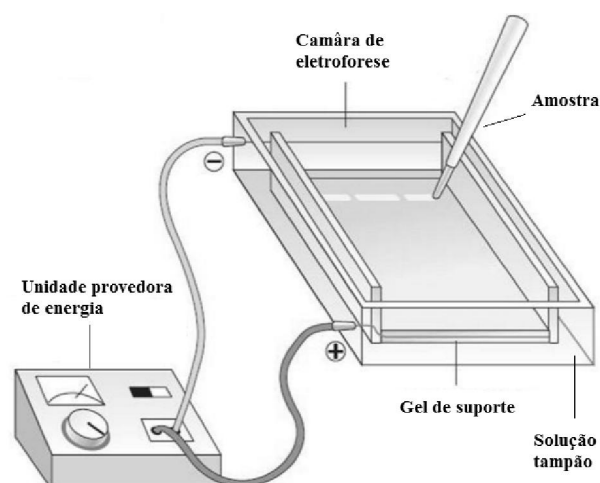


Fonte: SILVA, *et al.*, 2008.

A mobilidade eletroforética de uma proteína individual depende de uma variedade de fatores, incluindo o pI , tamanho e forma da proteína, a força aplicada do campo elétrico, e a resistência do meio usado como suporte. Além disso, o pH da solução tampão de eletroforese também influencia a migração, uma vez que afeta a carga líquida sobre a superfície da proteína (BURTIS, 2001).

A instrumentação para a técnica (**Figura 6**), consiste em um suporte de fracionamento, uma câmara de eletroforese vertical ou horizontal, uma fonte de voltagem e uma solução tampão. Além do aparelho para quantificação das concentrações. O suporte pode ser de acetato de celulose, gel de agarose ou poliacrilamida, ou tubos capilares. A câmara é um equipamento preenchido com solução tampão, formando os eletrodos, positivo e negativo. A fonte de voltagem é um aparelho que transforma a corrente alternada em contínua, podendo ter a intensidade regulada. A solução tampão é formada por água, sal ácido e sal básico. Tal solução pode ser ácida ou alcalina, deve ser específica para cada tipo de eletroforese (KEREN, 2003).

Figura 6- Ilustração da instrumentação básica de uma eletroforese horizontal em gel



Fonte: AZEVEDO, 2003.

A EPS consiste em empregar uma corrente elétrica contínua para a separação de partículas de proteínas. Quanto maior a corrente, maior será a velocidade com que as proteínas se moverão. As partículas com carga negativa migram para o polo positivo, as moléculas com carga positiva migram para o polo negativo e as que apresentam cargas elétricas equilibradas permanecem estáticas. As proteínas de menor peso molecular irão migrar mais que as de maior peso (O'CONNELL *et al.*, 2005).

A troca iônica entre as partículas proteicas e os grupos eletricamente carregados que compõe o suporte geram um movimento elétrico de baixa intensidade em direção oposta ao sentido da eletroforese. Esse movimento intrínseco é denominado eletroendosmose (BURTIS, 2001).

Esse fenômeno atrapalha a corrida eletroforetica, pois eleva a intensidade de calor da eletroforese e conseqüentemente ocorre a difusão do movimento das partículas de proteína, além de diminuir a viscosidade do meio tampão. No suporte de celulose, esse movimento é desprezível, já nos suportes de ágar e poliacrilamida, a eletroendosmose tem importância significativa e está diretamente ligada a pureza e qualidade do gel, bem como, sua espessura. Quanto mais puro e menos ionizável o gel, menor será o efeito eletroendosmótico e quanto mais espesso o gel maior será a eletroendosmose (NAOUM, 2012).

2.2.3 Tipos de eletroforese de proteínas

2.2.3.1 Eletroforese de gel

É a técnica tradicionalmente utilizada na qual ocorre a migração das partículas como zonas, em um meio de suporte poroso como, gel de poliacrilamida gel de agarose ou o acetato de celulose, após a amostra ser misturada com uma solução tampão. As zonas de proteínas são visualizadas pois o meio de suporte é corado e posteriormente, secado e as proteínas quantificadas em um densitômetro, ou por eluição com leitura no espectrofotômetro, que converte o padrão de bandas em picos (LE CARRER, 2005).

Em relação aos suportes, a eletroforese em gel de poliacrilamida é a que apresenta melhor resultado pois possibilita a visualização de proteínas com concentrações séricas baixas e identificação de 15 a 20 proteínas por ponto de aplicação. Porém, o emprego dessa técnica na rotina laboratorial torna-se inviável devido à dificuldade de execução, necessitando de preparação individualizada do gel de poliacrilamida para diferentes faixas de peso molecular de substâncias que serão processadas, limitando-se a casos específicos e pesquisas científicas (RADKTE, 2003).

O acetato de celulose, é um suporte que permite uma separação proteica rápida e possibilita o armazenamento prolongado dos filmes corados. É um material neutro, de absorção uniforme das proteínas e que permite a formação de filmes transparentes que facilitam a leitura. Em boas condições pode ser armazenado por um longo período, e o fato de possuir baixo custo tornam esse meio ideal para uso na rotina laboratorial. Contudo, o fracionamento proteico é limitado, por separar apenas cinco a sete frações proteicas (NAOUM, 2012).

Também pode ser utilizado o gel de agarose, que é um polissacarídeo, em geral, livre de grupos ionizados. Ele apresenta as vantagens de ter pouca afinidade pelas proteínas e clareza após a secagem, permitindo excelente densitometria e eletroforese de alta resolução. A qualidade da resolução do fracionamento das proteínas é melhor que o suporte de acetato de celulose. Pode ser facilmente preparado no laboratório, tornando a técnica prática e de baixo custo. Apesar de fracionar as proteínas em apenas cinco a sete frações, atualmente é bastante utilizado tanto na rotina laboratorial quanto em pesquisas científicas (AZEVEDO, 2003).

2.2.3.2 Eletroforese capilar

É um método de separação de proteínas séricas, e outras substâncias, como hidrocarbonetos, vitaminas, fármacos e ácidos orgânicos. Baseado no fluxo através de um tubo capilar confeccionado para diferenciar diversas moléculas de acordo com o seu tamanho e outras propriedades físico-químicas. O método é similar à Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e utiliza uma coluna com

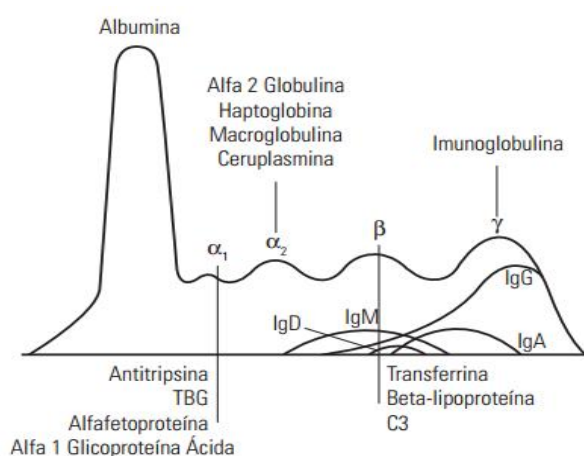
propriedades semelhantes à agarose, o que fornece resultados comparáveis à eletroforese em gel de agarose. Permite análise automatizada que detecta e quantifica as bandas de proteínas sem a necessidade de densitometria (MICKE, *et al.*, 2004; MCPHERSON, 2001).

Devido à sua alta resolução, a eletroforese capilar de proteínas, permite a separação dos picos de beta-1 e beta-2, o que resulta em um padrão de seis bandas. É um ótimo método para fracionamento de proteínas, por ser rápido, oferecer boa resolução e eficiência, além de necessitar de uma pequena quantidade de amostra. Se a técnica for toda automatizada, a produtividade aumenta consideravelmente, diminuindo o uso de reagentes, e gerando baixo custo analítico. Porém o uso ainda é restrito já que o equipamento utilizado nessa técnica tem um custo elevado (FERREIRA e ÁVILA, 2001; CRIVELLENTI, *et al.*, 2008).

2.2.4 Frações proteicas séricas detectadas na EPS e o significado clínico

O padrão de resultados de EPS depende das frações albumina e frações globulinas, alfa-1, alfa-2, beta 1 e beta 2 e gama. Os subconjuntos destas proteínas (**Figura 7**) e suas quantidades relativas são o foco principal da interpretação da eletroforese de proteínas séricas (AZIM, *et al.*, 2004).

Figura 7 – Principais proteínas encontradas em cada fração



Fonte: SILVA, *et al.*, 2008.

A pré-albumina é identificada sendo uma fração anterior à albumina. É sintetizada principalmente no fígado, como consegue ultrapassar a barreira hematoencefálica, também pode ser sintetizada por células do plexo coroide (WERNER; REAVILL, 1999).

A albumina é a proteína mais abundante no plasma, em condições normais corresponde a cerca de 60% da concentração total de proteínas. É sintetizada exclusivamente no fígado (MCPHERSON, 2008).

E as globulinas séricas, são sintetizadas no fígado ou pelas células do sistema imunitário. Compreendem uma fração bem menor do conteúdo total de proteínas plasmáticas (VAVRICKA *et al.*, 2009).

Os valores de referências para a concentração de cada fração, em porcentagem (%) e gramas por decilitros (g/dL), do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário de Juiz de Fora, que segue as referências do sistema de interfaciamento AGHU desenvolvido, pelo Ministério da Educação em 2009, estão descritos na **Tabela 2**. Estes valores são considerados para valores normais da concentração de proteínas totais, que se encontram entre 6 a 7,8 g/dL.

Tabela 2 – Valores de referência para as frações proteicas reveladas na EPS

Frações	Valores de referência	
	%	g/dL
Albumina	50,0 - 63,0	3,20 – 5,0
Alfa-1	2,7 - 5,7	0,20 - 0,40
Alfa-2	5,8 - 13,0	0,50 - 0,90
Beta	8,5 - 14,7	0,60 - 1,10
Gama	11.8 - 20,0	0,70 - 1,50

Fonte: Sistema de interfaciamento AGHU, 2009

2.2.4.1 Pré Albumina

A pré albumina ou transtiretina, tem como principal função o transporte de tiroxina sérica (T4), e juntamente com a proteína de ligação do retinol, atua também como transportador de vitaminas (KEREN, 2003)

Os níveis de pré-albumina estão significativamente diminuídos em diversas patologias hepáticas e aumentados em pacientes em uso de esteroides, como também na falência renal e durante a gravidez (WERNER; REAVILL, 1999). Por apresentar uma meia-vida muito curta e ser bastante sensível às variações do aporte alimentar e ao estado funcional hepático, é considerada um bom marcador do estado nutricional. Entretanto, a eletroforese de rotina não detecta essa proteína no soro de mamíferos. (KEREN, 2003; WERNER; REAVILL, 1999).

2.2.4.2 Albumina

A albumina trata-se de uma das menores moléculas proteicas e, em consequência disso, tende a se perder na urina sempre que ocorre dano aos glomérulos renais (MCPHERSON, 2008).

As funções da albumina no organismo, estão relacionadas com o transporte de diversas substâncias endógenas e exógenas que são pouco solúveis em água, incluindo bilirrubina, enzimas, hormônios, ácidos graxos, lípidos, metais, e fármacos, e contribuem na manutenção da pressão oncótica, regulando a distribuição de água entre os compartimentos intra e extracelulares (PRINSEN; SAINT-VAN DER VELDEN, 2004).

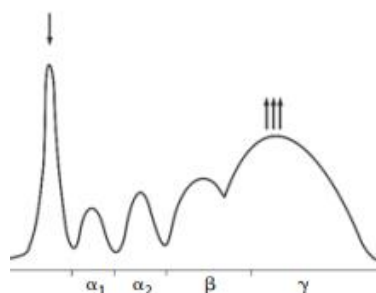
A hipoalbuminemia é uma condição inespecífica que acompanha inúmeras doenças. Na EPS, se apresenta com um pico menor, significando queda em sua concentração sérica. Esse fato está relacionado a situações, como, síntese prejudicada por hepatopatias crônicas, como cirrose hepática (**Figura 8**) e hepatite viral desnutrição ou diminuição da ingestão proteica e síndromes de má absorção; a analbuminemia, uma rara doença congênita caracterizada pela diminuída ou ausente síntese de albumina; a bisalbuminemia, anormalidade caracterizada pela presença de uma dupla banda na zona de albumina pode ser congênita ou adquirida, sem significância clínica; aumento do catabolismo, como resultado de

lesões por infecção bacteriana grave, neoplasias malignas, insuficiência cardíaca congestiva, doenças inflamatórias e infecciosas crônicas; e perdas, por meio dos glomérulos renais, intestino e pele (SILVA, *et al.*, 2008).

Na gravidez, seus níveis tendem a diminuir até oitava semana e retornam ao normal oito semanas após o parto. Queimaduras também podem resultar em um nível de albumina baixa (O'CONNELL, *et al.*, 2005).

Níveis de albumina estão aumentados em pacientes com uma relativa redução na porcentagem da água corpora, ou seja, uma desidratação aguda (O'CONNELL, *et al.*, 2005).

Figura 8– Gráfico padrão de cirrose hepática



Fonte: VAVRICKA *et al.*, 2009.

2.2.4.3 Alfa-1 globulinas

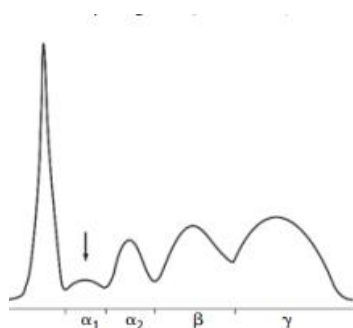
A zona alfa-1 globulina é composta por quatro proteínas específicas, alfa1-antitripsina, alfa1-glicoproteína ácida, alfa-fetoproteína e certas proteínas carreadoras. A alfa-1 antitripsina é a principal, representando 90% do total, e a responsável pela revelação da zona com os corantes usuais de eletroforese (MCPHERSON, 2008).

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. Assim, a alfa-1 antitripsina aumenta sua concentração nos processos inflamatórios

agudos. O comportamento desta fração é característico nas hepatopatias, em fases de consolidação da doença ocorre a elevação da alfa-1-antitripsina e tende a diminuir nas fases terminais da cirrose hepática (KEREN, 2003).

Uma diminuição da banda pode ocorrer devido a deficiência de alfa-1 antitripsina (**Figura 9**) como resultado de doença hepática ou em casos de enfisema pulmonar devido a uma variação genética desta proteína que é capaz de causar graves lesões fibrosas do tecido pulmonar (BURTIS; ASHWOOD, 2001).

Figura 9 – Gráfico padrão de deficiência de alfa-1 antitripsina



Fonte: VAVRICKA *et al.*, 2009.

2.2.4.4 Alfa-2 globulinas

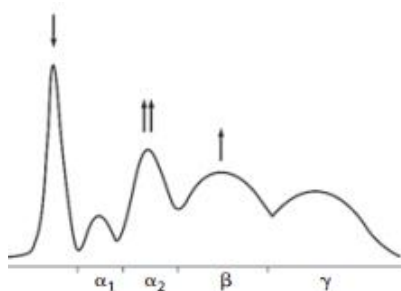
O grupo alfa-2 é constituída por variadas proteínas, entre elas a haptoglobina, a alfa-2-macroglobulina, a ceruloplasmina, a eritropoetina e a colinesterase, sendo as duas primeiras as mais significativas do ponto de vista clínico. Raramente essa zona está reduzida na EPS, uma vez que a diminuição de um componente geralmente é compensada pelos demais componentes (GUIMARÃES; GUERRA, 1983).

A alfa-2-macroglobulina, faz parte dos inibidores de proteases, sendo assim um marcador de fase aguda. Além de aumentar sua concentração na presença de infecção, (**Figura 10**), pela retenção seletiva dessa proteína devido sua em processos inflamatórios e imunes, como, síndrome da deficiência imunológica

adquirida (AIDS), aumenta em síndromes nefróticas incapacidade para passar através de glomérulos devido seu alto peso molecular (KEREN, 2003).

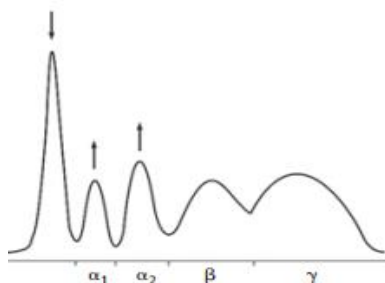
A haptoglobina é uma glicoproteína que se liga, irreversivelmente à hemoglobina após hemólise desta, formando um complexo grande o suficiente para reduzir a perda de hemoglobina e a lesão renal. O complexo posteriormente é removido do sangue pelo processo de fagocitose, efetuado por macrófagos. Dessa forma, valores baixos de haptoglobina são indicadores sensíveis de hemólise. O aumento da haptoglobina acontece nos processos inflamatórios agudos, pois ela também é considerada como uma das proteínas de fase aguda (**Figura 11**) (VAVRICKA et al., 2009;

Figura 10 – Gráfico padrão de síndrome nefrótica



Fonte: VAVRICKA et al., 2009.

Figura 11 – Gráfico padrão de processos inflamatórios agudos



Fonte: VAVRICKA et al., 2009.

2.3.4.5 Beta globulinas

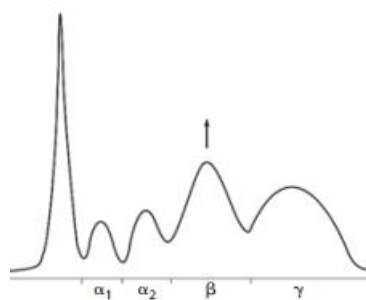
Composta por um conjunto heterogêneo de proteínas, das quais as principais do ponto de vista clínico são beta-lipoproteínas e transferrina que representam o grupo beta-1 e o componente C3 do complemento representando o grupo beta-2 (VAVRICKA *et al.*, 2009).

A transferrina é sintetizada nas células hepáticas e sua função é o transporte do ferro plasmático, sua concentração está relacionada com a capacidade total de ligação ao ferro, a elevação da concentração com reflexo no aumento da fração beta globulina é indicativo de carência de ferro (**Figura 12**) (DUPREE, 2012).

A fração C3 é um dos nove componentes principais do complemento total e atua na resposta imunológica humoral. Sua deficiência tem caráter autossômico recessivo e resulta em redução da resposta à infecções. Assim, a elevação do complemento C3 induz o aumento de beta globulina em processos infecciosos crônicos e agudos (MOTTA, 2003).

A icterícia obstrutiva, o hipotireoidismo, alguns casos de diabetes mellitus e ateromatose podem apresentar excesso de colesterol sérico e, conseqüentemente, aumento das beta lipoproteínas. A diminuição dessa fração é rara e, pode estar associado a doenças hepáticas, devido a redução da produção dessa globulina ou má nutrição (LIMA *et al.*, 1985).

Figura 12 – Gráfico padrão de anemia por deficiência de ferro.



Fonte: VAVRICKA *et al.*, 2009.

2.3.4.6 Gama globulinas

Esta zona é predominantemente composta de imunoglobulinas do tipo IgG, as imunoglobulinas IgA, IgM, IgD e IgE. Elas são sintetizadas pelos linfócitos, em resposta a um antígeno. Podem reconhecer e precipitar, ou neutralizar invasores como bactérias, vírus ou proteínas estranhas oriundas de outras espécies, ou outras substâncias (LARSON,1974).

A hipogamaglobulinemia, é verificada em que trazem a destruição do setor linfoide. O aumento dos níveis das imunoglobulinas pode ocorrer de forma policlonal, monoclonal ou oligoclonal (DUPREE, 2012 anomalias congênitas ou em processos patogênicos).

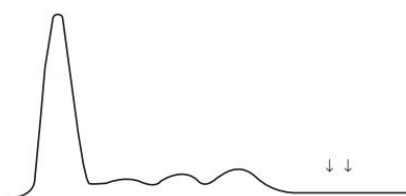
Hipergamaglobulinemia policlonal é caracterizada por aumentos difusos das globulinas em resposta a quadros infecciosos e inflamatórios crônicos, principalmente hepáticos, neoplasias ou doenças auto-imunes (BURTIS; ASHWOOD, 2001).

As bandas de imunoglobulinas monoclonais visíveis na EPS, como picos estreitos e pontiagudos, são denominadas paraproteínas ou componentes monoclonais. Os picos monoclonais são resultado de uma única classe ou subclasse de imunoglobulinas produzidas por uma única linhagem e linfócitos B (ALEXANIAN, *et al.*, 1999). Estão associadas a gamopatias malignas ou potencialmente malignas. O mieloma múltiplo, é a principal patologia entre as gamopatias monoclonais. Cerca de 60% das paraproteínas corresponde ao mieloma múltiplo que está associado com várias classes de imunoglobulinas, principalmente, a IgG (LARSON,1974; DISPENZIERI; KYLE, 2005).

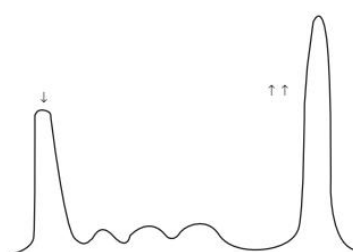
Bandas oligoclonais, apresentam dois ou mais picos monoclonais, resultante da elevação de subclasses de imunoglobulinas. Só podem ser identificadas quando são utilizadas metodologias de alta resolução, como a eletroforese capilar. Estão presentes ocasionalmente na hepatite aguda fulminante, infecções virais crônicas, infecções bacterianas e imunodeficiências (LE CARRER, 2001).

A **Figura 13** mostra os gráficos padrões de gamopatias, considerando as hipogamopatias e as hipergamopatias, monoclonal e policlonais.

Figura 13 – Gráficos padrões de gamopatias



Hipogamaglobulinemia



Pico monoclonal



Pico policlonal

Fonte: SILVA, *et al.*, 2008

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

3.2 Objetivos Analisar o perfil proteico obtido por eletroforese de proteínas, de pacientes atendidos no Hospital Universitário no município de Juiz de Fora, MG, no período de junho de 2014 a janeiro de 2016, e fazer as correlações com os dados clínicos de cada paciente.

específicos

Analisar o número os pacientes que obtiveram resultados alterados e não alterados para EPS.

Avaliar a distribuição e calcular as frequências dos resultados dos exames dos pacientes segundo sexo e idade.

Relacionar as alterações com o diagnóstico clínico do paciente.

4 METODOLOGIA E MÉTODOS

O trabalho foi submetido à aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (HU/UFJF).

Para a realização do trabalho com estudo de caráter retrospectivo, foram pesquisados os prontuários de todos os pacientes que se submeteram ao exame de eletroforese de proteínas, no período de junho de 2014 a janeiro de 2016, pelo serviço de análises clínicas do Hospital Universitário da Universidade Federal de Juiz de Fora (HU/UFJF), situado na Avenida Eugênio do Nascimento s/nº, bairro Dom Bosco, CEP: 36038-330, na cidade de Juiz de Fora – MG.

Através dos prontuários cadastrados no sistema de interfaciamento AGHU do Laboratório de Análises Clínicas do HU/UFJF, foram coletados os resultados dos exames e as informações clínicas disponíveis dos pacientes. Foram consideradas nos dados clínicos as variáveis, idade, sexo, diagnóstico clínico e especialidade médica do solicitante do exame. Os dados foram catalogados e organizados para o posterior estudo.

A EPS no HU/UFJF, é feita em suporte de gel pelo acetado de celulose, utilizando a cuba de eletroforese, aplicadores de amostra e aparelho de voltagem. A solução tampão é o Tris glicina 0,025 M, de pH 9,5 e o corante de proteínas é o Ponceau S. É utilizado ácido acético a 5% para a descoloração. A quantificação é realizada por densitometria, através do programa SDS-60 - *Software* para Densitometria por *Scanner*, assim exige a transparentização do suporte, com uma solução de ácido acético glacial, metanol e glicerol.

O programa utilizado para as análises estatísticas dos dados e realização dos gráficos foi o Excell® 2013.

Foi realizado os cálculos de frequência relativa para os resultados alterados e não alterados e prevalência dos resultados de acordo com o sexo do paciente e faixa etária. Foi comparado os resultados de cada fração com a variável sexo, através do teste U de Mann-Whitney. Com os valores das frações, foi feita análise estatística descritiva. E correlacionado as alterações com o diagnóstico clínico presente no prontuário.

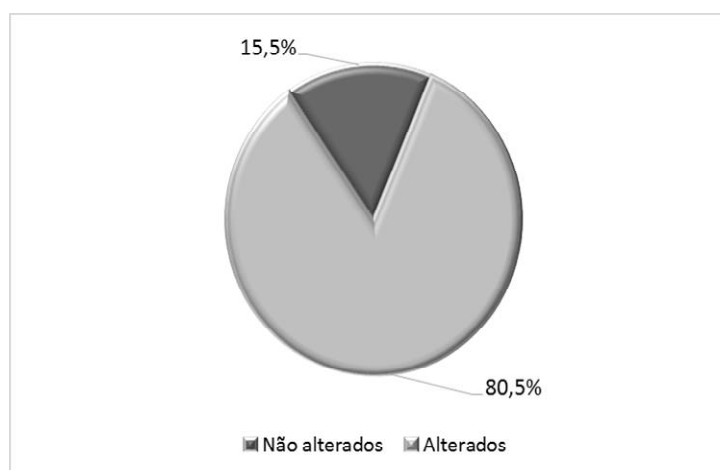
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre o período de junho de 2014 a janeiro de 2016, foram realizados 200 exames de EPS. Do total dos resultados analisados dos exames, 161 apresentaram alteração, correspondendo a 80,5 %. Dados apresentados na **Tabela 3** e **Gráfico 1**. Considerou-se como alteração, quando pelo menos uma fração proteica apresentava valores abaixo ou acima dos valores de referência (conforme **Tabela 2**).

Tabela 3- Exames de eletroforese de proteínas realizados no período de junho de 2014 a janeiro de 2016.

<i>Resultados</i>	<i>Número de exames</i>	<i>Frequência relativa (%)</i>
Não alterados	39	15,5
Alterados	161	80,5
Total	200	100

Gráfico 1: Frequência dos resultados alterados e não alterados dos exames de eletroforese realizados no período de junho 2014 a janeiro de 2015

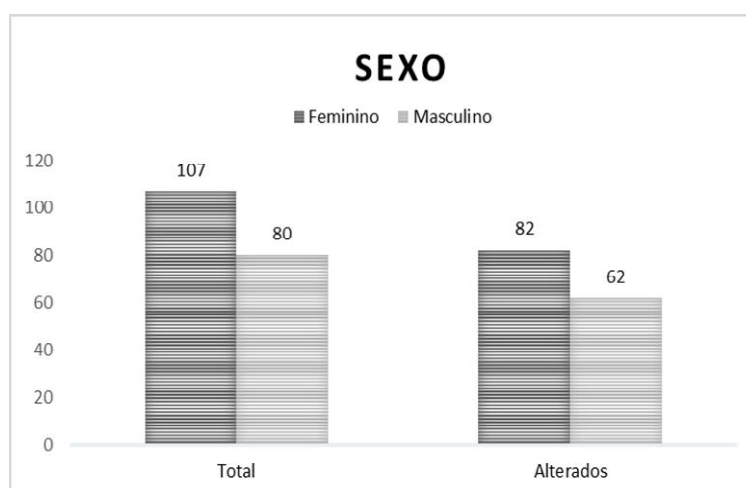


Como observado nos resultados da frequência, a maioria (80,5%) dos resultados dos exames estavam alterados, o que é esperado, já que EPS é um exame que auxilia na investigação do diagnóstico, sendo assim, muito solicitada quando o estado de saúde do paciente já está apresentando uma suspeita clínica decorrente de alguma alteração fisiológica, ou quando o paciente já possui um diagnóstico a EPS é realizada para o monitoramento e/ou controle da doença (SILVA, *et al.*, 2008).

Foram 13 o número de pacientes que fizeram o exame novamente, sendo o pedido feito pelo mesmo setor médico solicitante que havia pedido anteriormente. Foi comparado os resultados do primeiro com o segundo exame de cada paciente, e nenhum apresentou diferenças significativas, os valores das frações proteicas sericas foram praticamente mantidos. Dos 13, 11 apresentaram alteração, e 2 não apresentaram nenhuma alteração, o que permaneceu nos exames repetidos.

Ao desconsiderar os exames decorrentes de segunda amostra, obtivemos um total de 187 pacientes, sendo que 146 pacientes apresentaram alteração nos resultados. Dos alterados, 82 pacientes pertenciam ao sexo feminino e 62 ao sexo masculino (**Gráfico 2**).

Gráfico 2 – Prevalência de resultados alterados, de acordo com o sexo



Foi comparado a ocorrência de alteração de cada fração proteica com a variável sexo. De acordo com o teste U de Mann-Whitney, não houve diferenças

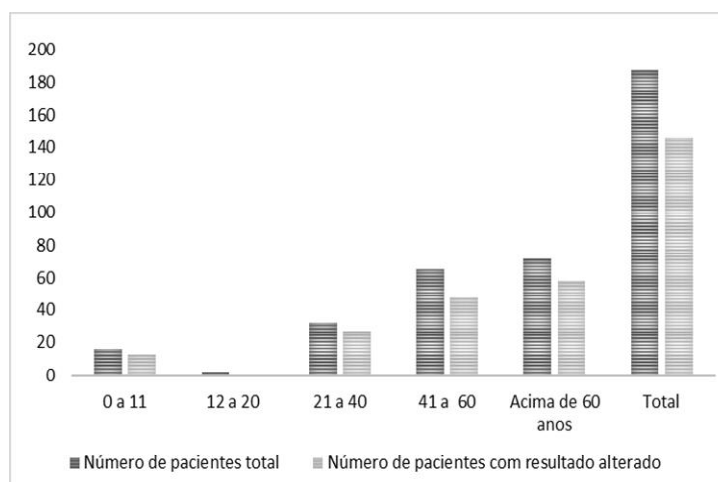
estatisticamente significativas dos valores de albumina ($p= 0,102$), alfa-1 ($p=0,664$), alfa 2 ($p=0,388$), beta ($p=0,990$) e gama ($p=0,765$) entre mulheres e homens.

Para relacionar a prevalência de alteração no resultado dos exames com variável idade, estas foram extratificadas nas seguintes faixas etárias: crianças de 0 a 11 anos, jovens de 12 a 20 anos, adultos 21 a 40 anos e de 41 a 60 anos e idosos acima de 60 anos. Os dados referentes à faixa etária estão relacionados na **Tabela 4** e representados no **Gráfico 3**.

Tabela 4 – Número de pacientes em relação a faixa etária e frequência de alterações.

<i>Faixa etária</i>	<i>Número de pacientes total</i>	<i>Número de pacientes com resultado alterado</i>	<i>Frequência relativa (%)</i>
0 a 11	16	13	8,90
11 a 20	2	0	0,00
21 a 40	32	27	18,50
41 a 60	65	48	32,87
Acima de 60	72	58	39,73
Total	187	146	100

Gráfico 3: Relação do número de pacientes com alteração nos resultados, de acordo as faixas etárias



Conforme o número total de pacientes e a frequência relativa, o maior número de exames realizados, e a maior frequência de alteração nos resultados ocorreu nos idosos, acima de 60 anos. Foram 72 pacientes dessa faixa etária que realizaram o exame, e destes, 58 apresentaram alteração no resultado da EPS, sendo a frequência relativa de 39,73%.

O envelhecimento populacional cursa com o aumento de doenças, o idoso apresenta uma alta prevalência de doenças, crônicas e causadoras de limitações funcionais e de incapacidades, quando comparado a outros grupos etários. Disso resulta uma demanda crescente por serviços de saúde, incluindo diagnósticos e acompanhamentos de sua condição de saúde (BRASIL, 2006).

Foi realizada a análise estatística descritiva dos resultados, em porcentagem e em g/dL, das frações proteicas. Os valores de referência, fornecido pelo AGHU, das frações proteicas, mínimos e máximos, média, mediana e desvio padrão de cada fração, estão apresentados na **Tabela 5**.

Tabela 5 – Análise estatística descritiva das frações proteicas

Frações/ Valores	Albumina		Alfa-1		Alfa-2		Beta		Gama		Proteína total
	(%)	g/dL	(%)	g/dL	(%)	g/dL	(%)	g/dL	(%)	g/dL	g/dL
Referência	50,0- 63,0	3,2- 5,0	2,7- 5,7	0,20- 0,40	5,8- 13,0	0,50- 0,90	8,5- 14,7	0,60- 1,10	11,8- 20,0	0,70- 1,50	6 - 7,8
Mínimo	18,2	0,95	1,5	0,09	3,3	0,24	5,2	0,27	1,9	0,09	3,1
Média	54,5	3,9	3,1	0,22	9,9	0,68	12,8	0,91	19,0	1,41	7,1
Máximo	85,2	6,6	22,2	2,39	40,7	1,97	49,8	3,08	58,5	4,47	9,9
Mediana	55,6	4,0	2,9	0,21	8,7	0,64	11,9	0,87	16,8	1,24	7,3
Desvio padrão	9,8	0,9	1,6	0,17	4,6	0,25	5,0	0,35	9,59	0,78	1,07

Comparando-se com os valores de referência do AGHU para EPS, todos os valores de média e mediana estão dentro do limite. A fração proteica que apresentou maior variação entre os valores mínimos e máximos comparados a referência e maior desvio em relação a sua média, foi a albumina, seguida da fração gama.

Segundo Oliveira, *et al.*, 2015, e de acordo com os valores de referência, a fração albumina é a fração mais abundante presente no soro de um paciente com

condições fisiológicas normais, representando 50,0 a 63,0 %, do total de proteínas. E além disso, é uma fração que está alterada em diversas patologias, assim é a que mais tende a alterar nas EPS.

Em relação aos valores das frações, 50 exames apresentaram no resultado somente 1 fração fora dos valores de referência, 60 exames pelo menos 2 frações alteradas, 44 apresentaram 3 frações alteradas, 7 exames tiveram 4 frações alteradas e 6 apresentaram todas as frações alteradas, totalizando os 161 resultados alterados (**Tabela 6**).

Tabela 6 – Número de frações alteradas e total de exames

Número de frações alteradas	Total de exames
1	50
2	60
3	44
4	7
Todas	6

Poucos exames apresentaram 4 ou todas as frações alteradas, sendo estes resultados de pacientes com doenças em estágio grave ou final, e alguns pacientes internados no Centro de Tratamento Intensivo (CTI).

Avaliando quais as frações proteicas que estavam alteradas nos resultados dos exames com os diagnósticos e os gráficos gerados, 42 exames tiveram uma correlação que se encontrou de acordo com o diagnóstico clínico presente no prontuário do paciente. Assim, 42 dos exames apresentaram alteração na fração ou nas frações que seriam esperadas na EPS para a devida doença apresentada.

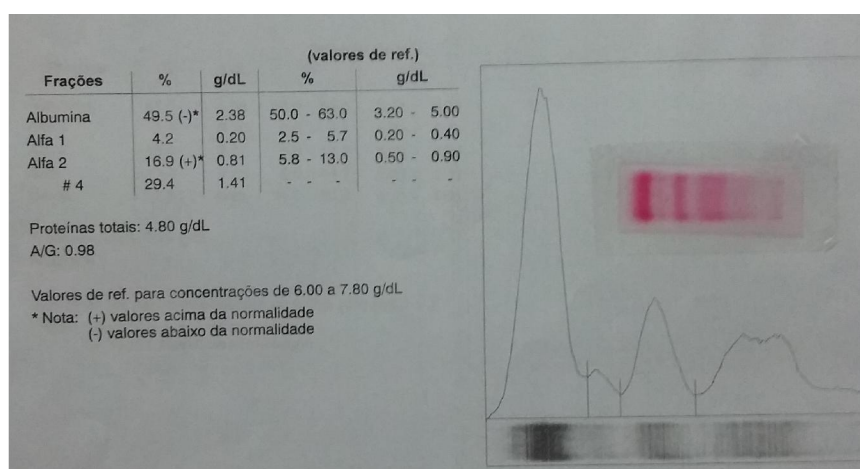
Esse número foi baixo em resposta da falta de informações clínicas sobre o paciente descritas no prontuário. Pois, 107 pacientes não possuíam o diagnóstico clínico ou alguma informação sobre seu estado de saúde no prontuário, não sendo possível correlacionar o diagnóstico com o resultado da EPS. Dos 93 pacientes que tinham o diagnóstico no prontuário, muitos não correlacionaram ao resultado do exame provavelmente porquê o diagnóstico era antigo, e a solicitação do exame feita para investigação de outra possível doença, já que muitos pedidos dos exames

foram feitos por setores médicos que não tinham relação com o diagnóstico do paciente no prontuário.

Dentre as amostras, houve um exame que apresentou inexistência de delimitação das zonas beta e gama globulinas. A **Figura 14** é referente ao resultado desse exame. Segundo VAVRICKA *et al.*, 2009, quando ocorre junção dessas bandas, o 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 sugere aumento de IgA, que ocorre com frequência em eletroforeses de soro de pacientes com cirrose hepática ou infecções, principalmente respiratórias ou de pele.

De acordo com os dados clínicos no prontuário desse paciente, ele foi inicialmente diagnosticado com paraplegia, permanecendo internado no CTI, apresentando posteriormente uma infecção respiratória grave, o que justifica esse resultado em sua EPS.

Figura 14- Resultado do exame de EPS com fusão beta e gama globulinas



Fonte: Sistema de interfaciamento AGHU- UJFJ

6 CONCLUSÃO

A EPS tem uma grande importância na clínica médica, sendo necessário analisar e interpretar as frações proteicas de forma correta, para que os resultados possam auxiliar e direcionar o diagnóstico do paciente. Não existe valores das concentrações das frações padronizados, há diferenças mínimas, nesses valores entre diferentes literaturas e laboratórios clínicos.

A técnica do exame de EPS no Laboratório do HU/UFJF de Juiz de Fora é feita corretamente, de acordo com o preconizado pelos Procedimentos Operacionais Padrão (POP) do laboratório, que segue a Sociedade Brasileira de Bioquímica (Sbbq), o que garante qualidade e confiabilidade nos resultados liberados.

Durante o levantamento dos dados dos paciente que realizaram o exame de EPS no HU/UFJF no período de junho de 2016 a janeiro de 2015, foi observado que as variáveis sexo e idade estavam presentes em todos os prontuários pesquisados, sendo estes dados utilizados para descrever as frequências dos resultados. Porém, na maioria dos casos, não foi possível extrair as informações clínicas pertinentes a saúde do paciente e o diagnóstico clínico do mesmo, devido à falta desses dados em muitos dos prontuários. Assim, as correlações das alterações das frações proteicas das EPS com os diagnósticos foram prejudicada. Isto demonstra que o prontuário dos pacientes, necessita de preenchimento mais adequado e maiores informações clínicas.

Do número total de exames, 80,50% estavam alterados, com pelo menos uma fração proteica fora dos valores de referência. O exame é solicitado tanto para pacientes do sexo masculino, quanto pacientes do sexo feminino, e dos resultados não houve diferenças significativas entre as alterações de cada fração em relação a esta variável. A faixa etária que apresentou maior número de exames realizados e maior frequência de resultados alterados foi acima de 60 anos, ou seja, os idosos. E em relação as frações, a que apresentou maior variação foi a fração da albumina.

REFERÊNCIA

ALEXANIAN, R. WEBER, D. LIU, F. Differential diagnosis of monoclonal gammopathies. *Archives of pathology & laboratory medicine*. V. 123, p. 108-113, 1999.

AZEVEDO, M. O. *Técnicas básicas em biologia molecular*. Brasília. UNB, 2003. 211p.

AZIM Waquar, AZIM Saad, AHMED, Khalid, SHAFI Haleema, RAFI Taqui LUQMAM M. Diagnostic significance of serum protein electrophoresis. *Biomedica*. v. 20, p. 40-44. 2004.

BIJI T. KURIEN, R. HAL SCOFIELD. Protein Electrophoresis: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 869, *Springer Science+Business Media*, 2012

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.528. Brasil. 19 de outubro. 2006.

BURTIS, Carl A.; ASHWOOD, Edward R. *Fundamentals of Clinical Chemistry*. 5. ed. Philadelphia, Saunders, 2001. 1091 p.

CAMPBELL, M. K. Bioquímica. 3 ed. Porto Alegre, ArtMed. 64-87. 2000

CANTOR, C.R.; SCHIMMEL, P.R. *Biophysical chemistry: Part III The behavior of biological macromolecules*. W.H. Freeman, San Francisco, 1980.

CRIVELLENTI, F.; BONATO, M.; CRISTOFORI, P. Analysis of mouse, rat, dog, marmoset, and human serum proteins by capillary electrophoresis: comparison with agarose gel electrophoresis. *Vet Clin Pathol*.v.37, p.73-8, 2008.

DIDIER LE CARRER, *Serum protein Electrophoresis and Immunofixation: Illustrated Interpretations*. Amer Assn for Clinical Chemistry Vanves, 2005. 120p

DUPREE, SHANDI. *Electrophoresis: Method in Biochemistry*. Delhi, White Word Publications, 2012.

FERREIRA, A W; ÁVILA, S L M. Diagnóstico de Laboratório das principais doenças infecciosas, parasitárias e auto-imunes. Correlação Clínico-Laboratorial. 2º. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 443 p.

HAMILTON M. F.; BLACKSTOCK, D. T. *Nonlinear Acoustics*. San Diego, Academic Press. 1998.

HOLDE, VAN; KENSAL, EDWARD. *Bioquímica física*. São Paulo; Edgard – Brasília (trad.) Brasília, INL, 1975.

JEPPSON, J. O.; LAURELL, C. B.; FRANZEN, B. Agarosegel electrophoresis. *Clinical Chemistry*.v.25, n.4, p.629-38, 1979.

KEREN, D. F.; *Protein Electrophoresis in Clinical Diagnosis*. 1 ed. United States Of America: Hodder Arnold, 2003. 402 p.

LANDERS, J. P. *Capillary and Microchip Electrophoresis and Associated Microtechniques*. 3 ed. Nova York, CRC Press. 2008

LIMA, A.O., SOARES, B.J., GRECO, J.B., GALIZZI, J., CANÇADO, J.R. *Métodos de laboratório aplicados à clínica: técnica e interpretação*. 6.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1985.

McKEE. T; McKEE, J. R. *Biochemistry: The molecular basis of life*. London, McGraw Hill. 2003

McPHERSON, RA. Proteínas específicas. In: HENRY, JB. *Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais de Henry*, São Paulo, 20 ed. Manole, 289-306, 2008.

MICKE, G. A; COSTA, A. C. O; TAVARES, M. F. Determination of sorbate and benzoato In beverage Samples by capilar electroforesis otimization of the method with inspection of ionic mobilities. *Juornal of Cromatography*. v. 1204, p. 123-127, 12 Sep, 2008.

MILLER, O. GONÇALVES. *Laboratório para o clínico*. 6 ed. Rio de Janeiro, Atheneu. 1988

MOTTA V.T *Bioquímica Clínica para o Laboratório: princípios e interpretações*. 4ed. São Paulo, Robe. 2003

MURAY, R. K. RODWELL, VICTOR; GRANNER, DARYL K..*Bioquímica Ilustrada*. 27. ed. São Paulo: McGraw-Hil, 2008. 620p

NAOUM, P. C. *Eletroforese: Hemoglobinopatias, Proteínas Séricas, Lipoproteínas e DNA*.São Paulo, Editora Santos. 2012.

NELSON, DAVID L.; COX, MICHAEL M. *Lehninger Principles of Biochemistry*. 5. ed. New York: W H. Freeman And Company, 2008. 1158 p.

OLIVEIRA, E; TRENTIN, T. C.; CAMARGO, F.; PINTO, Y. D. P.; MARTINS, D. Eletroforese: conceitos e aplicações. *Enciclopédia Biosfera* v. 11, n 22, 1129-1149, 2015

PAULING, L.; ITANO, H. A.; SINGER, S. J.; WELLS, I. C. Sickle cell anemia, a molecular disease. *Science*.v.110, p.543, 1949.

PRINSEN, B. H. C. M. T.; DE SAIN-VAN DER VELDEN, M.G. M. Albumin turnover: experimental approach and its application in health and renal diseases. *Clinica Chimica Acta*.v.347, p.1-14, 2004.

RADKTE, J. Proteins. In: ANDERSON, S. C.; COCKAYNE, S. *Clinical Chemistry: Concepts and Applications*.New York: McGraw Hill. p.203-221, 2003

RAMPRASAD, KOWSALYA; SIDDAPPA, SUJATHA. A review of electrophoretic patterns from a tertiary care nephrourology referral centre. *Journal Of Cancer Research & Therapy*. v. 3, n. 6, p. 72-73. 31 jun. 2015.

RICHES, P. G.; KOHN, J. Improved resolution of cellulose acetate membrane electrophoresis. *Ann Clin Biochem*.v.24, p.77–79, 1987.

SILVA, R. O.; LOPES, A. F.; FARIA, R. M. D.. Eletroforese de proteínas séricas: interpretação e correlação clínica. *Revista Médica de Minas Gerais*, Belo Horizonte, v. 18, n. 2 p.116-122, Abr/Jun 2008.

SPUDEIT D. A.; DOLZAN, M. D.; MICKE, G. A. Conceitos básicos em Eletroforese Capilar. *Scientia Chromatographica*.v.4, n.4, p. 287-329, 2012.

TORRES FILHO, H. M. *Eletroforese de proteínas*. Richet Nouvelles, Rio de Janeiro, v. 11, n. 3, p. 1-8, set. 2008.

VIEIRA, RICARDO. *Fundamentos de Bioquímica*. 2003. 110p. Disponível em < <http://www.fundamentosdebioquimica.hpg.com.br> > Acesso em: 14 junho, 2016.