

## USO DA TÉCNICA DE ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA (SDS-PAGE) NA DETECÇÃO DE PROTEÍNAS DE FASE AGUDA NA MEDICINA VETERINÁRIA

Kamilla Dias Paes Silva<sup>1</sup>, Leandro Abreu da Fonseca<sup>2</sup>, Fabrícia Modolo Girardi<sup>3</sup>, Gabriel Luiz Gonçalves<sup>4</sup>, Jorge Guimarães dos Santos Junior<sup>5</sup>, Lucas Drumond Bento<sup>6</sup>

**Resumo:** *As proteínas de fase aguda (PFA) têm se mostrado excelentes biomarcadores para o diagnóstico e prognóstico de doenças, sobretudo, no campo da Medicina Veterinária. Sua precocidade em alterações da inflamação é possível de ser determinada a partir do emprego da eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE). Considerando que muitos estudos estão sendo realizados com o objetivo de compreender e identificar o comportamento das PFA perante as diversas doenças as quais cada espécie está sujeita, observou-se que a aplicação da SDS-PAGE na detecção das PFA como forma de monitoramento e diagnóstico na rotina laboratorial veterinária, é uma excelente ferramenta capaz de determinar o proteinograma sérico com precisão e amplitude, possibilitando também distinguir aquelas que agem como melhores biomarcadores para a determinada espécie animal em estudo.*

**Palavras-Chave:** *Biomarcadores, diagnóstico, doenças, inflamação, prognóstico.*

**Summary:** *Acute phase proteins (APP) have shown excellent biomarkers for the diagnosis and prognosis of diseases, especially in veterinary medicine. The precocity*

---

1 Estudante de graduação de Medicina Veterinária - UFV, e-mail: kamilla.paes@ufv.br

2 Docente do Departamento de Veterinária - UFV, leandroabreu@ufv.br

3 Estudante de pós graduação em Medicina Veterinária - UFV, e-mail: fabricia.girardi@ufv.br

4 Estudante de graduação de Medicina Veterinária - UFV, e-mail: gabriel.lui@ufv.br

5 Estudante de graduação de Medicina Veterinária - UFV, e-mail: ojorge.vet@gmail.com

6 Estudante de graduação de Medicina Veterinária - UFV, e-mail: lucas.bento@ufv.br

*of APP during the inflammation can be determined from the use of electrophoresis in polyacrylamide gel containing sodium dodecyl sulfate (SDS-PAGE). Where as many studies are being conducted in order to understand and identify the behavior of the APP before the various diseases which each species are subject, it was observed that the implementation of SDS-PAGE in the detection of APP as a way of monitoring and diagnosis in veterinary laboratory routine, is an excellent tool able to determine the serum protein concentrations accurately and breadth, enabling also distinguish those who act as best biomarkers for certain animal species studied.*

**Keywords:** *Biomarkers, diagnosis, disease, inflammation, prognosis.*

### **Introdução**

Constituindo o sistema de defesa inato do organismo, as proteínas de fase aguda (PFA) são proteínas sanguíneas que frente à fatores inflamatórios, infecciosos ou traumáticos têm seus níveis séricos alterados, afim de restabelecer a homeostase corporal e limitar o crescimento microbiano, até que a imunidade adquirida seja ativada (Cray et al., 2009).

Uma vez que as alterações da concentração de PFA acontecem poucas horas após o estabelecimento da inflamação (Rubio et al., 2014), estudos apontam sua eficácia como biomarcadores precoces para o diagnóstico e prognóstico de doenças na Medicina Veterinária (Simplício et al., 2013). Contudo, muitos estudos ainda são realizados para descrever o comportamento das PFA nas diferentes espécies animais diante as diversas doenças as quais estão submetidas, buscando compreender e detectar suas variações em cada caso.

Perante a isso, várias técnicas de proteinograma sérico para a determinação de PFA são empregadas, sendo a eletroforese em gel de poliácridamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) comumente utilizada (Rubio et al., 2014).

O objetivo desta revisão é descrever o uso da técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) na Medicina Veterinária, com ênfase na sua aplicabilidade para a detecção de PFA.

### **Revisão de literatura**

As PFA são um grupo de proteínas sanguíneas, sintetizadas principalmente pelos hepatócitos e que sofrem alterações na sua concentração sérica em resposta à liberação de citocinas pró-inflamatórias, como interleucina (IL)-6, IL-1 e fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), diante inflamações, traumas cirúrgicos,

infecções, neoplasias ou estresses, sendo portanto, componentes da imunidade inata não-específica do organismo (Rubio et al., 2014).

Elas ainda são caracterizadas por possuírem estruturas moleculares e funções heterogêneas, apresentando diferenças entre espécies e doenças e alterações significativas de acordo com o grau da lesão e/ou inflamação antes mesmo dos sinais inflamatórios surgirem (Murata, 2003). Com isso, as PFA tem sido usadas como biomarcadores precoces para a identificação e monitoramento de doenças (Simplício et al., 2013).

Sendo assim, torna-se necessária a adoção de uma técnica de proteinograma eficaz para a detecção das diferentes PFA e o entendimento dos seus comportamentos nas diversas adversidades fisiológicas acometidas em cada espécie animal. O método comumente utilizado é a eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) (Rubio et al., 2014). Este consiste no fracionamento das proteínas do sangue de acordo com sua massa molecular, o que possibilita acompanhar a purificação das proteínas, que aparecem como uma banda única no gel ou em duas bandas caso a proteína possua duas subunidades de tamanhos diferentes (Wilson e Walker, 2009).

Em comparação às demais eletroforeses, a SDS-PAGE apresenta um melhor resultado por detectar baixas concentrações séricas das PFA e

possibilitar a identificação de cerca de 20 a 30 proteínas, além também de ser acessível à rotina laboratorial, por ser uma técnica simples e de fácil execução, segundo Fagliari (2008).

A partir da SDS-PAGE, Simplício (2013) verificou a responsividade de distintas PFA como biomarcadores em enfermidades inflamatórias de ocorrência natural em bovinos. Para isso, foram utilizados 30 animais, sendo 15 sadios e 15 doentes (cinco com mastite estafilocócica, cinco com fotossensibilização e cinco com onfaloflebite), que foram submetidos a colheitas de sangue diárias durante sete dias.

Observou-se então um aumento significativo nos níveis séricos de ceruloplasmina e haptoglobina nos animais portadores de mastite, fotossensibilização e onfaloflebite, enquanto a  $\alpha$ 1-glicoproteína ácida teve aumento relevante nos animais com mastite e fotossensibilização e o fibrinogênio apenas para os casos de mastite. Concluiu-se ainda, que ceruloplasmina e haptoglobina foram as PFA mais sensíveis às variações séricas, sendo portanto, os biomarcadores mais sensíveis e confiáveis para a espécie bovina entre as PFA estudadas.

Fagliari (2008) também usou da SDS-PAGE para monitorar os níveis séricos de PFA - fibrinogênio, ceruloplasmina, proteína C-reativa, antitripsina, haptoglobina e glicoproteína ácida - de 20 equinos portadores de abdômen agudo, submetidos a laparotomia, dos quais dez se recuperaram sem intercorrência pós-operatória (G1) e os outros dez equinos foram a óbitos com sinais de choque séptico (G2) entre 7 a 10 dias após a cirurgia. Para análise dos resultados, Fagliari comparou os traços eletroforéticos nos intervalos: antes da laparotomia, 24h, 48h, 72h e 7 dias pós-operatório.

Desta maneira, Fagliari verificou que nos animais curados (G1), a proteinemia decresceu a partir das 72h pós-operatório, mas para aqueles que foram a óbito (G2), todas as PFA analisadas tiveram aumento significativo a partir das 72h após a laparotomia, crescendo até o sétimo dia de análise, onde obtiveram sua maior concentração em relação ao G1, com exceção da haptoglobina que teve uma elevação sérica mais precoce, iniciada às 24h. Dentre

essas proteínas, ele ainda concluiu que haptoglobina e a ceruloplasmina são as melhores PFA indicadoras no prognóstico para o estudo em questão, uma vez que apresentaram maiores teores séricos ao sétimo dia pós-operatório, se mostrando mais sensíveis.

### **Conclusão**

O comportamento sérico das PFA em animais sujeitos à infecções, inflamações ou traumas, as tornam excelentes biomarcadores que possibilitam um monitoramento e diagnóstico antecipado, devido as suas alterações precoces em relação aos sinais inflamatório.

Com isso, para a detecção das PFA, o emprego da técnica SDS-PAGE mostra-se uma notável ferramenta que proporciona maior sensibilidade e amplitude na mensuração das proteínas, além de ser um método simples e de fácil execução, o que a torna aplicável a rotina dos laboratórios veterinários.

### **Referências Bibliográficas**

1. CRAY, C.; ZAIAS, J.; ALTMAN, N.H. Acute phase response in animals: A review. *Comparative Medicine*, v.59, n.6, p.517-526, Dez 2009.
2. FAGLIARI, J.J. et. al. Leucograma e teores plasmáticos de proteínas de fase aguda de equinos portadores de abdômen agudo e submetidos à laparotomia. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, n.2, p.322-328, 2008.
3. MURATA, H.; SHIMADA, N.; YOSHIOKA, M. Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. Elsevier, 1090-0233/\$ - see front matter, 2003, Elsevier Ltd. All rights reserved. doi:10.1016/S1090-0233(03)00119-9., 2003.
4. RUBIO, C.P.; SCHMIDT, E.M.S. Proteínas de fase aguda em cães:

Possíveis aplicações em cirurgia. *Vet. e Zootec.*, v.21, n.4, p.492-502, Dez 2014.

5. SIMPLICIO, K.M.M.G. et. al. Proteinograma sérico, com ênfase em proteínas de fase aguda, de bovinos sadios e bovinos portadores de enfermidade aguda de ocorrência natural. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.65, n.5, p.1339-1347, 2013.

6. WILSON, K.; WALKER, J. *Principles and Techniques of Biochemistry and Molecular Biology*. Cambridge University Press, 7ed., cap.10, p.407-410, Mar 2010.