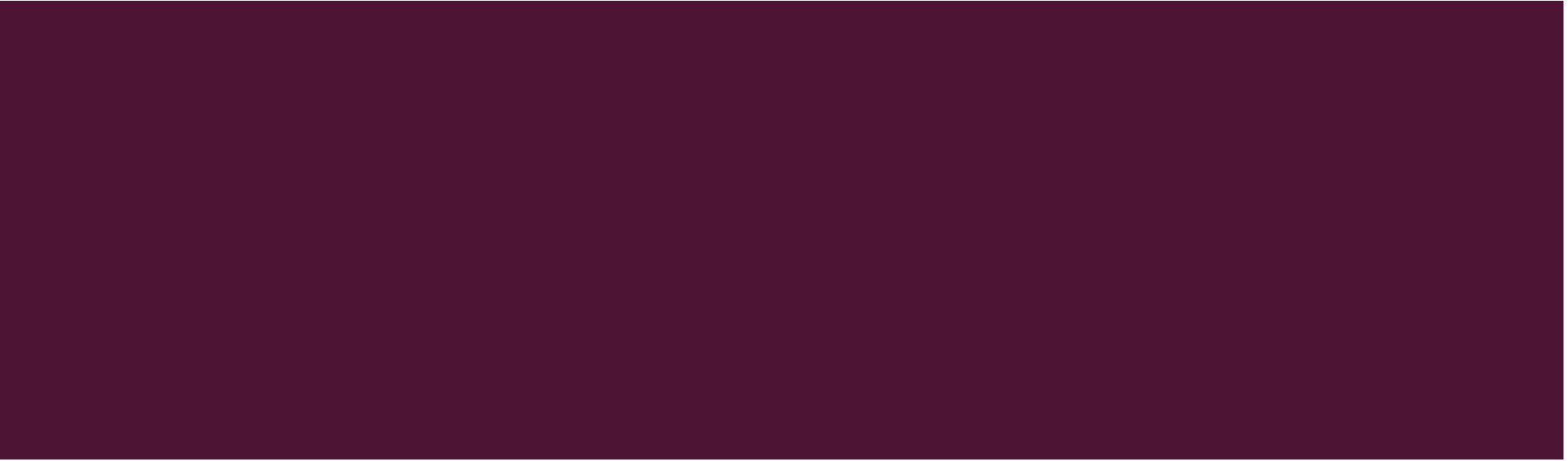

EXPLORAREA PROTEINELOR PLASMATICE



PROTEINEMIA

- Proteinele sunt componente fundamentale ale plasmiei
- Concentrația proteinelor plasmatică poartă numele de **proteinemie**.
- **Proteinemia** este unul dintre parametrii sanguini menținuți constanți prin mecanisme complexe care realizează echilibrul între **cantitatea de proteine sintetizate** de ficat sau intestin și **cea utilizată de organism**.
- **Valoarea normală:** 6,5 – 8,5 g/100 ml
- Măsurarea proteinemiei furnizează informații generale despre gradul de afectare a unui organ.

VARIAȚIILE PROTEINEMIEI

- modificarea volumului apei din plasmă:
- **hiperproteinemia** apare în cazul unei deshidratări ca urmare a hemoconcentrării,
- hipoproteinemia apare în cazuri de hemodiluție;
- modificarea concentrației uneia sau mai multor proteine indici ai unor stări patologice.
- **(cum ar fi γ -globulinele sau albuminele, considerate proteine de faza acuta)**

HIPOPROTEINEMIA

- **Variații fiziologice** pot să apară în funcție de: vârstă, sarcină, efort, ciclu menstrual, temperatură.
- Se înregistrează **hipoproteinemie** în afecțiunile însoțite de pierderi de **proteine (renale, digestive)** sau de un bilanț azotat negativ, în cazuri de hemodiluție
- **Variații patologice:**
 - Afecțiuni hepatice: ciroză hepatică, intoxicații cu benzen etc.
 - Afecțiuni renale: glomerulonefrite, sindrom nefrotic
 - Stări de șoc după arsuri, hemoragii
 - Colagenoze
 - Sindrom de malnutriție

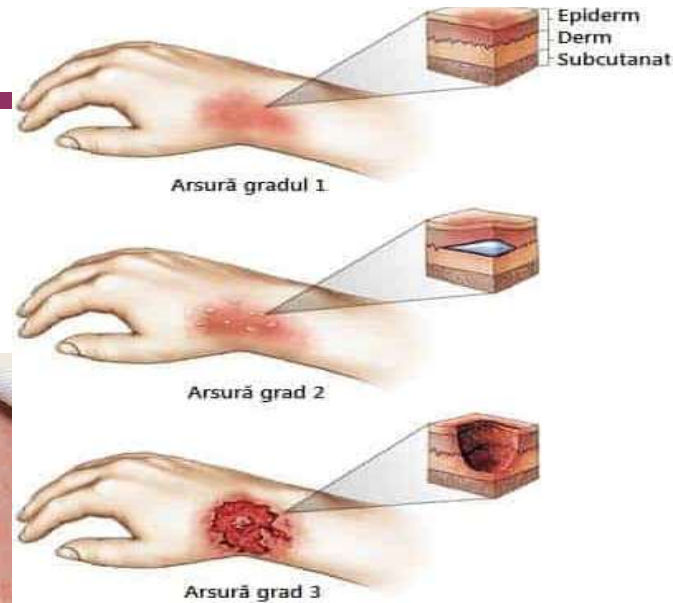
- AFECȚIUNI HEPATICE: CIROZĂ HEPATICĂ, INTOXICAȚII CU BENZEN ETC.

- AFECȚIUNI RENALE: GLOMERULONEFRITE, SINDROM NEFROTIC

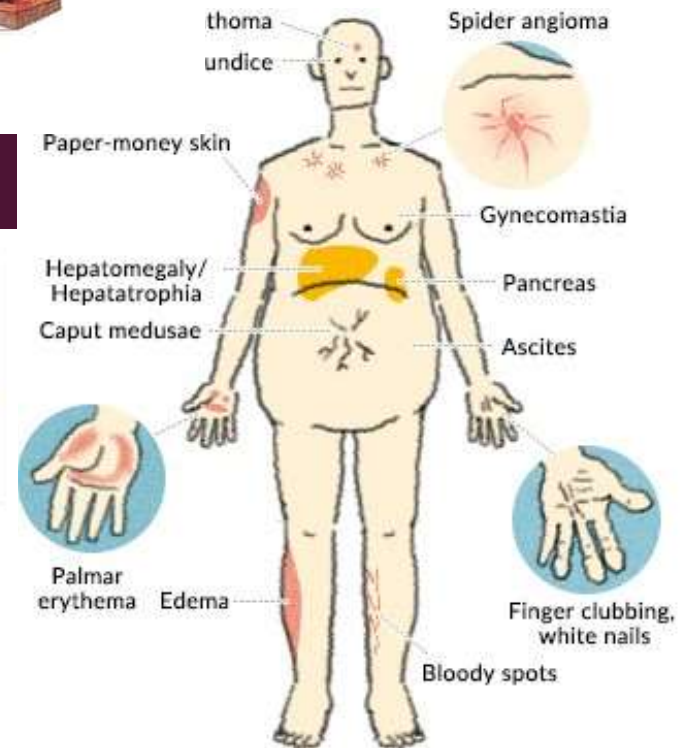
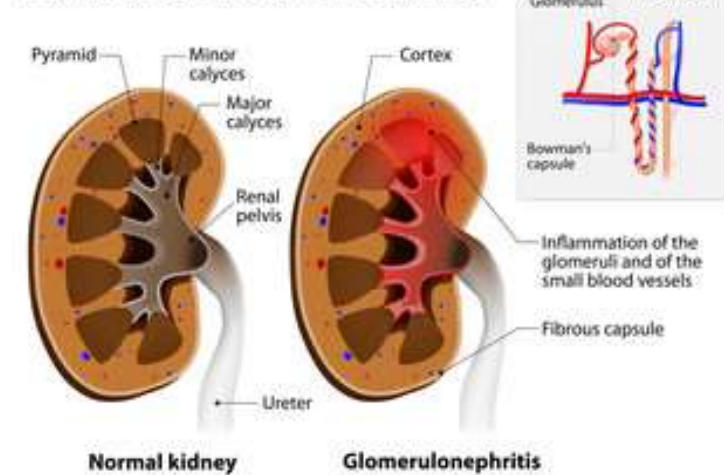
- STĂRI DE ȘOC DUPĂ ARSURI, HEMORAGII

- COLAGENOZE

- SINDROM DE MALNUTRIȚIE



GLOMERULONEPHRITIS

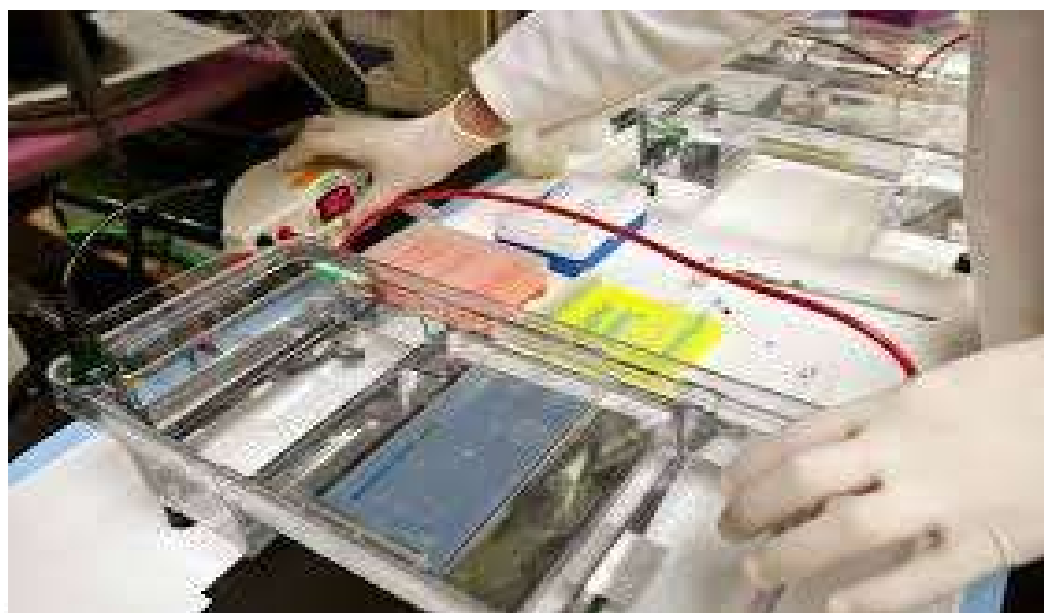


HIPERPROTEINEMIA

- este mai rar întâlnită
- apare în cazul unei deshidratări ca urmare a hemoconcentrării
- producerea excesivă a γ -globulinelor
- **Variații fiziologice:** pot să apară în funcție de: vârstă, sarcină, efort, ciclu menstrual, temperatură
- **Variații patologice:**
 - Stări de deshidratare: vărsături, diaree
 - Diabet zaharat sau insipid
 - Infecții acute și cronice
 - Hepatite virale evolutive
 - Mielom multiplu
 - Macroglobulinemia Waldenström

FIBRINOGENUL

- Este tot o proteină plasmatică
- se investighează deoarece modificări ale concentrației acesteia apar în unele afecțiuni.
- **Hiperfibrinogenemia** însoțește procesele inflamatorii (pneumonie, pleurezii, reumatism polarticular acut), traumatismele, neoplasmul hepatic, afecțiunile coronariene.
- **Hipofibrinogenemie** apare în afecțiuni hepatice grave, leucemii, neoplasm de pancreas.



aparat de electroforeză



tanpură de măsurare

Rezervor superior

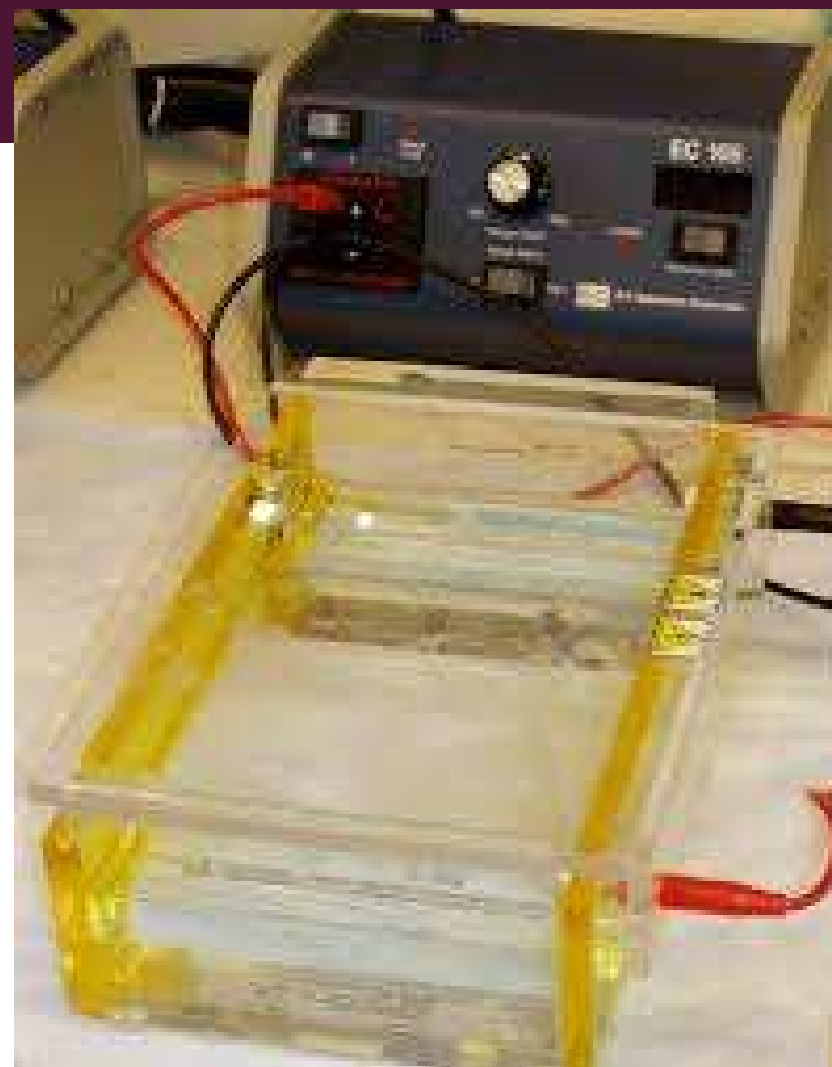
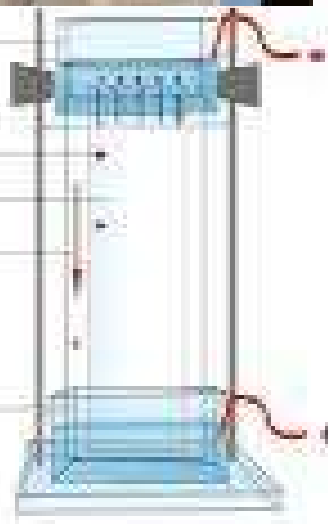
găuri

+

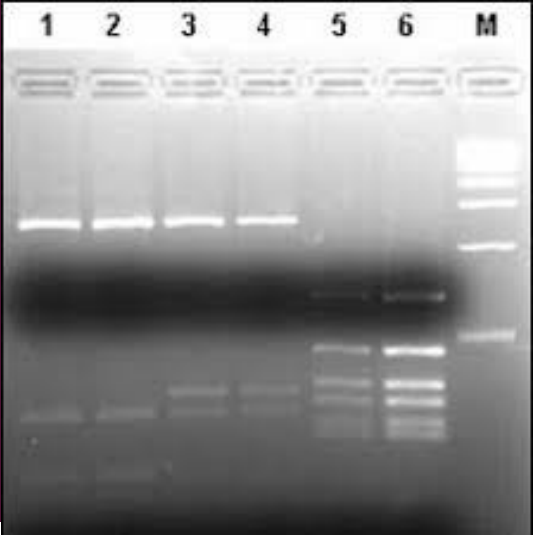
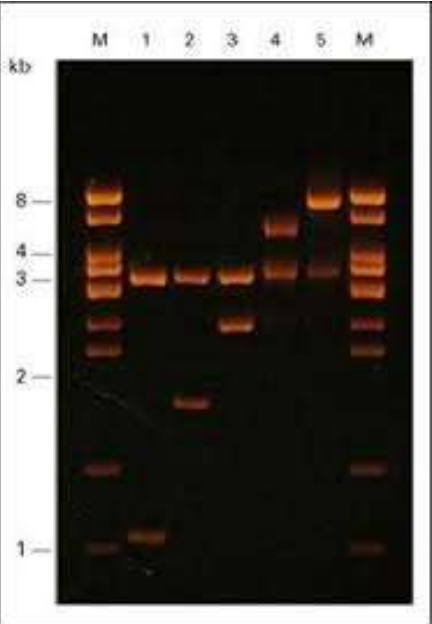
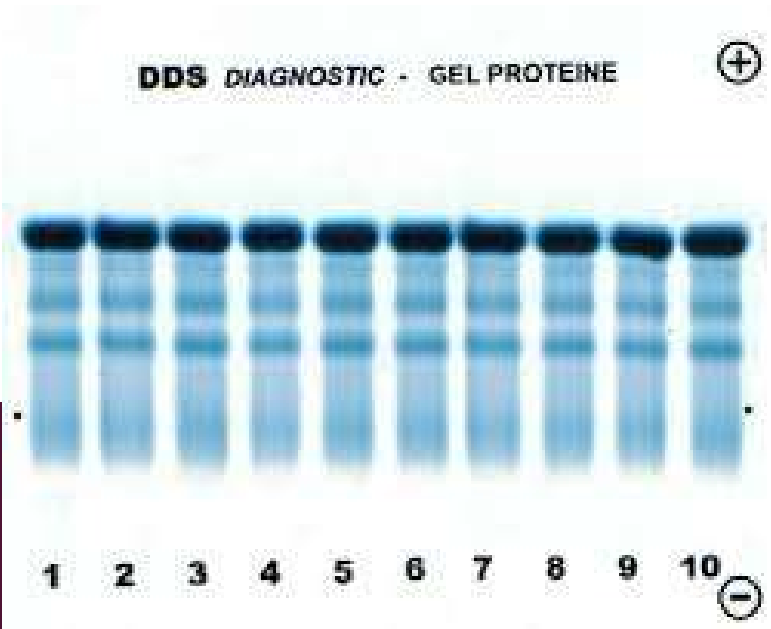
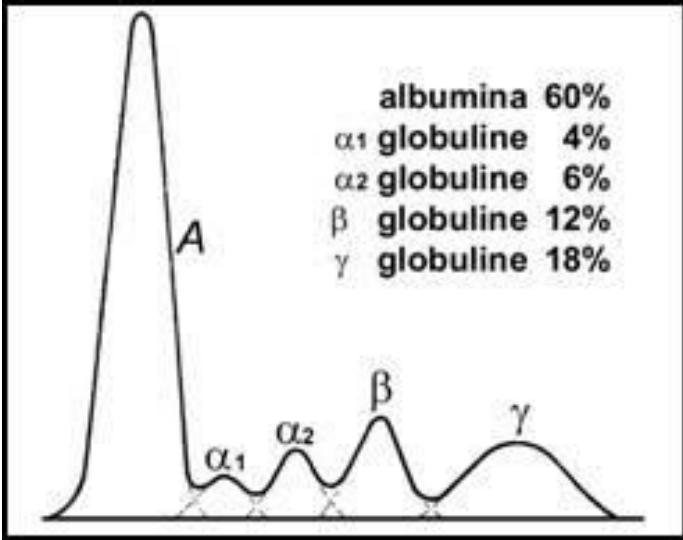
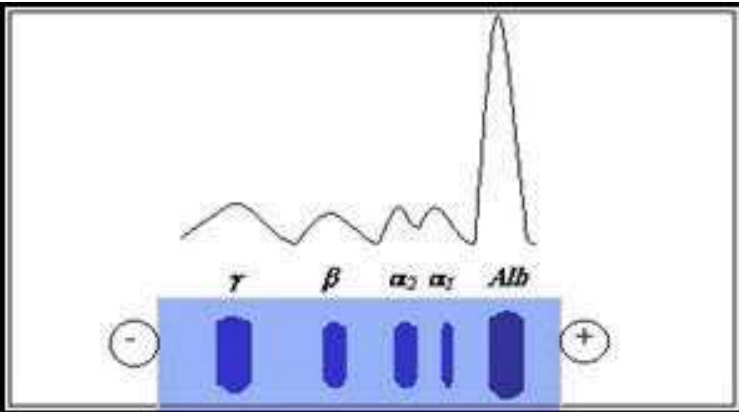
gel de agaroză

Sonda de măsurare

Rezervor inferior



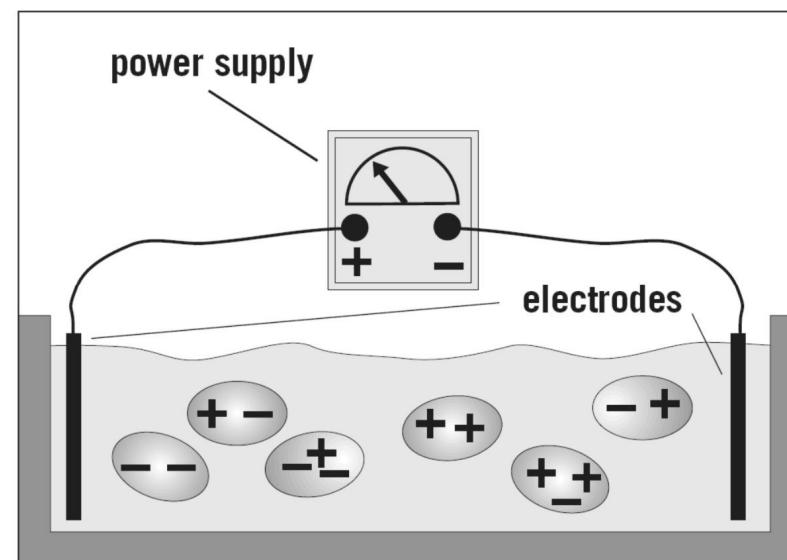
ELECTROFOREZA



Tehnici electroforetice / Procedură

Electroforeza este migrarea de substanțe dizolvate sau particule încărcate într-un mediu lichid care nu influențează câmpul electric. Într-un sistem de electroforeză, speciile chimice ionizate care au o sarcină electrică se deplasează spre catod (electrod negativ) sau anod (electrod pozitiv).

Ionii pozitivi (cationi) migrează spre catod, iar ioni negativi (anioni) migrează spre anod.



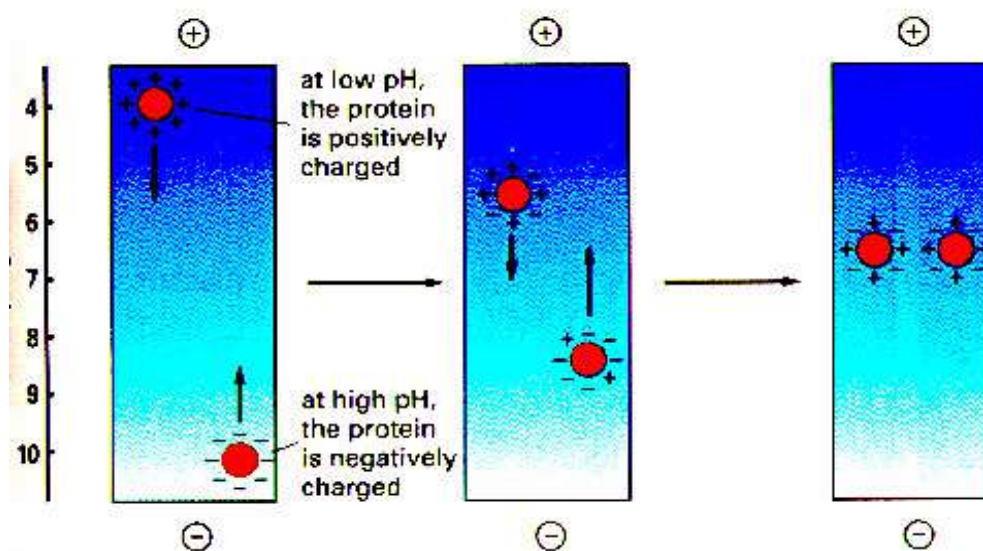
O moleculă de amfiliți conține atât sarcini pozitive, cât și negative, în funcție de grupurile funcționale prezente în moleculă și de pH-ul lichidului în care se află.

Tehnici electroforetice / Procedură

Punctul izoelectric al unei molecule de amfoliți este pH-ul la care o astfel de moleculă nu are sarcină electrică și nu migrează într-un câmp electric. O moleculă de amfoliți ia o sarcină pozitivă într-o soluție care este mai acidă decât pI și migrează către catod.

Într-o soluție mai alcalină, o moleculă de amfoliți este ionizată negativ și migrează spre anod.

Proteinele conțin numeroase grupări ionizabile amino ($-NH_2$) și carboxil ($-COOH$), ele se comportă ca amfoliți în soluție.



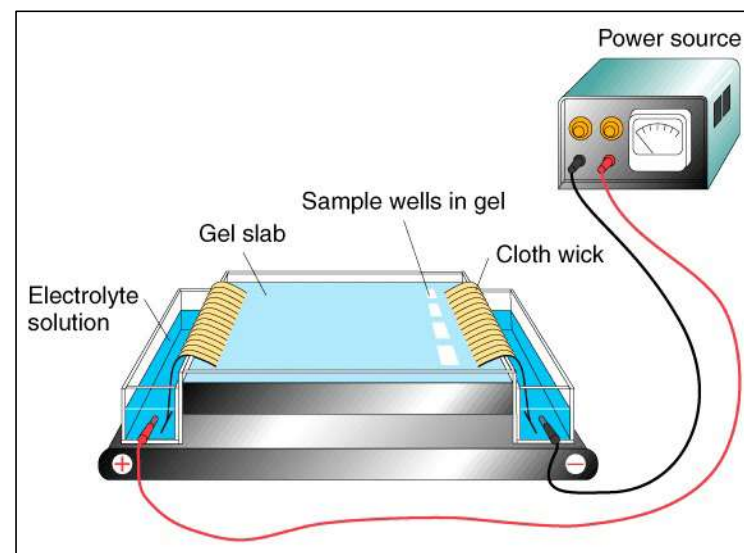
Tehnici electroforetice / Procedură

Rata migrației depinde de factori precum:

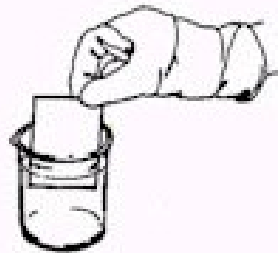
- Încărcarea electrică netă a moleculei
- Intensitatea câmpului electric
- Proprietățile suportului
- Temperatura de funcționare
- Mobilitatea electroforetică este definită ca rata de migrație (cm / s) per unitate de intensitate a câmpului (volți / cm).

Electroforeza constă din cinci componente:

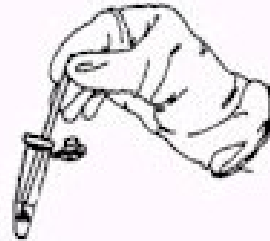
- ❖ forța motrice (puterea electrică),
- ❖ suportul,
- ❖ tampon,
- ❖ proba,
- ❖ sistemul de detectare.



The figure was found at
[http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2250/
Week_Three/electro4.jpg](http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2250/Week_Three/electro4.jpg)



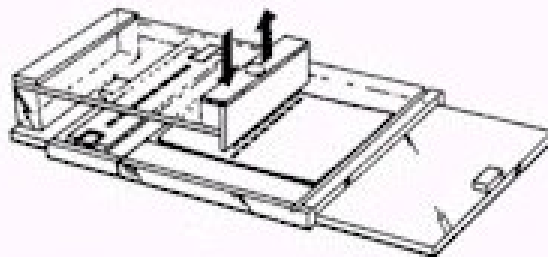
**1 - Soak gel in
buffer solution**



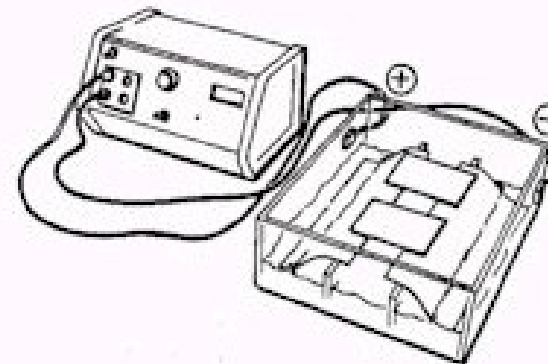
**3 - Prepare
tissue samples**



**4 - Load the sample
plate**



**5 - Set up the applicator
6 - Transfer samples to gel**



**7 - Apply tracking dye
8 - Electrophorese samples**

Tehnici electroforetice / Procedură

Proba este îmbibată în suport hidratat timp de aproximativ 5 minute.

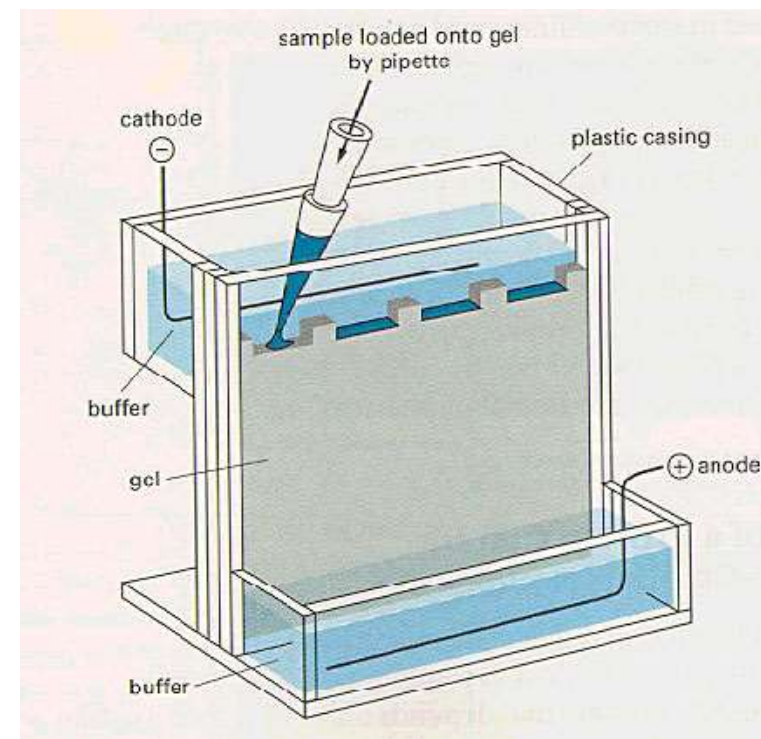
Suportul este introdus în camera de electroforeză, care a fost umplută anterior cu tampon.

În cameră trebuie adăugat un tampon suficient pentru a menține contactul cu suportul.

Electroforeza se realizează prin aplicarea unei tensiuni constante sau a unui curent constant pentru un anumit timp.

Suportul este apoi îndepărtat și plasat într-un fixator sau uscat rapid pentru a preveni difuzia probei.

Aceasta este urmată de colorarea zonelor cu un colorant adecvat. Absorbția colorantului de către probă este proporțională cu concentrația probei.



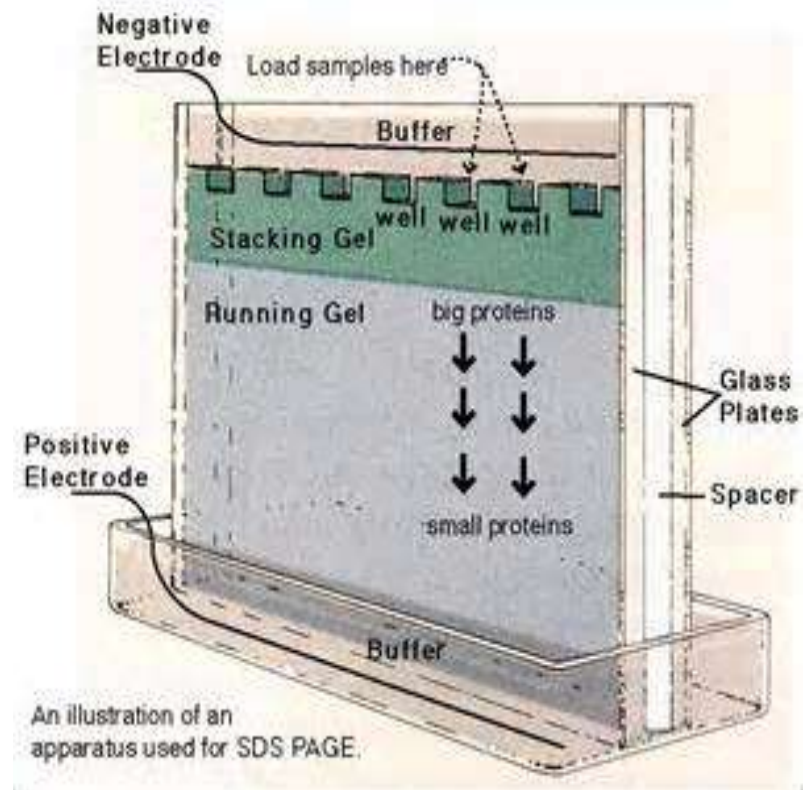
Electroforeza proteinelor serice

Electroforeza serică se efectuează la pH 8,6.

Proteinele cu sarcină negativă la pH 8,6 se deplasează spre anod (polul pozitiv) și proteinele cu sarcină pozitivă se deplasează spre catod (polul negativ).

După separarea electroforetică, proteinele pe suport solid sunt colorate.

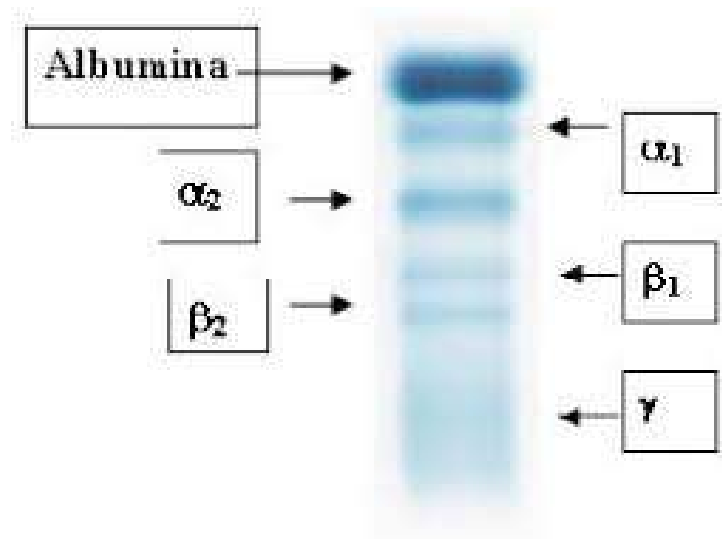
Intensitatea colorării benzilor individuale de proteine este proporțională cu cantitatea de proteine dintr-o bandă.

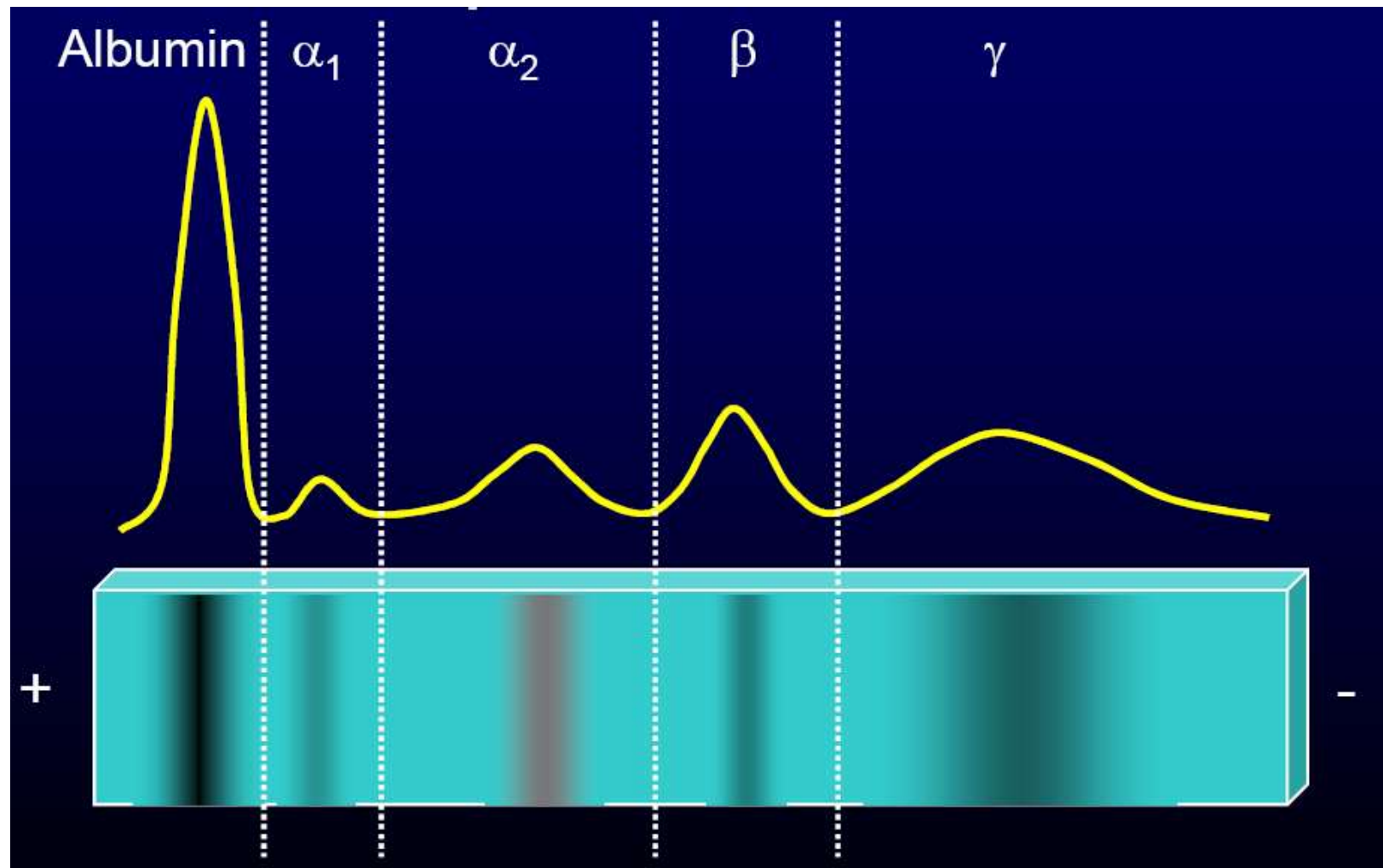


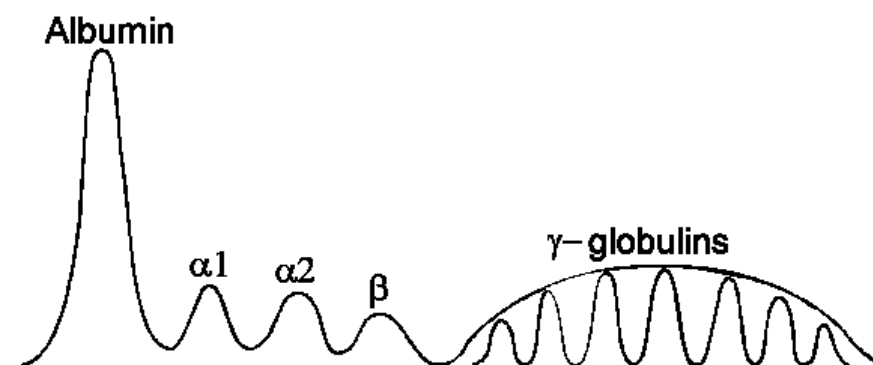
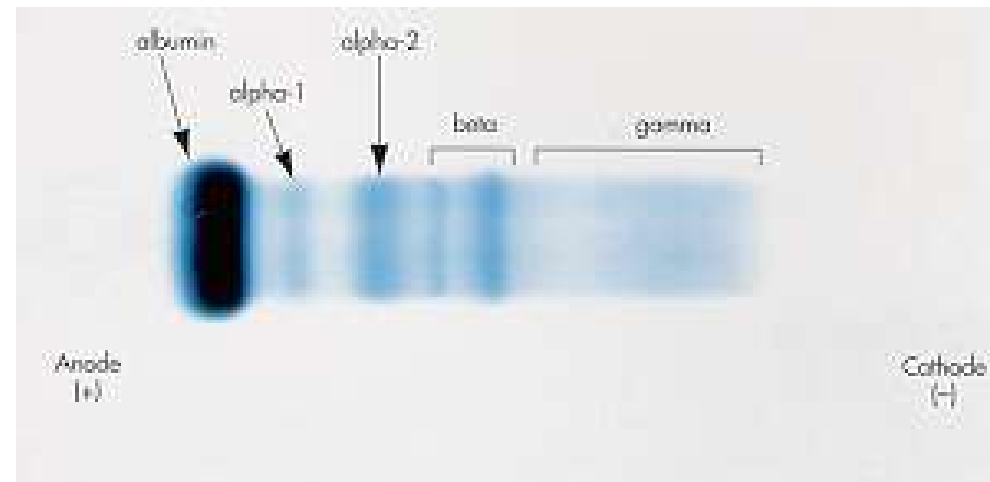
Principalele proteine plasmatice măsurate sunt împărțite în două grupe: albumina și globulinele. Există patru tipuri majore de globuline, fiecare cu proprietăți și acțiuni specifice.

Valorile de referință pentru fiecare fracție sunt după cum urmează:

- ❑ Albumină, 53% până la 65% din proteina totală (3,5 până la 5,0 g / dL)
- ❑ α_1 -Globulin, 2,5% până la 5% (0,1 până la 0,3 g / dL)
- ❑ α_2 -Globulin, 7% până la 13% (0,6 până la 1,0 g / dL)
- ❑ β -Globulin, 8% până la 14% (0,7 până la 1,1 g / dL)
- ❑ γ -Globulin, 12% până la 22% (0,8 până la 1,6 g / dL)





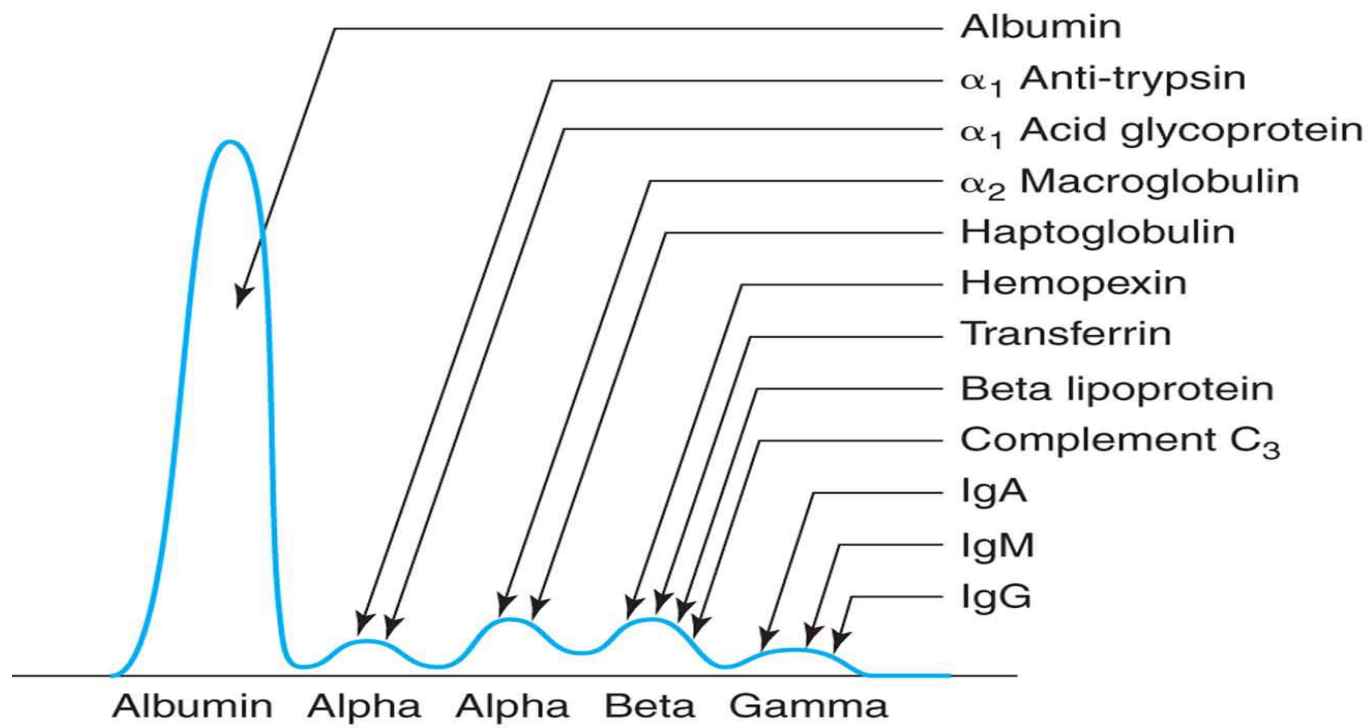


PROTEINE PLASMATICE

Proteina	Funcții
Albumine	Leagă bilirubina, hormonii steroizi, acizii grași; contribuie la reglarea presiunii osmotice
α1-Globuline	
α 1-Antitripsina	Reactant de fază- acută; inhibitor de proteaze
α 1-Fetoproteina	Principala proteină fetală. Niveluri ridicate indică risc de spina bifida
α 1-Glicoproteina acidă (orosomucoid)	Reactant de fază- acută, poate fi legat de răspunsul imun
α2-Globuline	
HAPTOGLOBINE Ceruloplasmina α 2-Macroglobulina	Reactant de fază-acută, activitate oxidazică, conține cupru Inhibă proteazele

PROTEINE PLASMATICE

Proteina	Funcții
β-GLOBULINE	
Transferina	Transportă fier
β ₂ -Microglobulina (B2M)	Componenta moleculelor de antigen leucocitar (HLA)
Hemopexina	Leagă hem
Complement	Răspunsul imun
Fibrinogen	Precursorul cheagului de fibrină
CRP	Acute-phase reactant, stimulează fagocitoza în bolile inflamatorii
Y-Globuline	
Imunoglobuline G, A, E, D, M	Anticorpai



1. Normal serum protein electrophoresis

Răspunsul de fază acută

Răspunsul de fază acută este un răspuns sistemic la infecție, leziuni tisulare sau procese inflamatorii care duc la febră, număr crescut de celule albe din sânge și modificarea concentrației multor proteine plasmaticice.

Proteinele afectate sunt cunoscute sub numele de proteine de fază acută.

Proteinele precum alfa I- antitripsina, ceruloplasmina, fibrinogenul, proteina C reactivă, prezintă o concentrație crescută ca răspuns la un APR sunt cunoscute ca proteine pozitive de fază acută.

Concentrația altor proteine plasmaticice, inclusiv albumina, transferina sunt scăzute și sunt cunoscute ca proteine negative de fază acută.

ALBUMINA

- Albumina este sintetizată în ficat. Este proteina prezentă în cea mai mare concentrație în plasmă.
- Albumina este responsabilă de aproape 80% din presiunea osmotică coloidală (COP) a lichidului intravascular, care menține echilibrul fluidului adecvat în țesut.
- Albumina tamponază pH-ul și este o proteină reactantă în fază acută negativă.
- Albumina transportă hormoni tiroidieni, fier și acizi grași.
- Albumina leagă bilirubina neconjugată, acidul salicilic (aspirina), acizii grași, ionii de calciu (Ca^{2+}) și magneziu (Mg^{2+}).

Concentrațiile scăzute de albumină serică pot fi cauzate de următoarele:

- O sursă inadecvată de aminoacizi care apare în malnutriție și malabsorbție
- Boală hepatică, rezultând o sinteză scăzută de către hepatocite.
- Pierderea renală a albuminei prin urină în bolile renale.
- Diluarea prin exces: polidipsie sau administrarea excesivă de fluide intravenoase

GLOBULINE

Grupul globulinic al proteinelor este format din fracțiunile $\alpha 1$, $\alpha 2$, β și γ .

❑ **$\alpha 1$ -Antitripsina**, o glicoproteină sintetizată în principal în ficat, are ca funcție cea mai importantă inhibarea elastazei neutrofile proteazei. $\alpha 1$ -Antitripsina este un reactant de fază acută. Niveluri crescute de $\alpha 1$ -antitripsină sunt observate în:

- reacții inflamatorii,
- sarcina,
- utilizarea contraceptivelor.

❑ **$\alpha 1$ -Fetoproteina (AFP)** este sintetizată în embrion și făt în curs de dezvoltare și apoi de celulele parenchimatoase ale ficatului. Nivelurile AFP scad treptat după naștere, ajungând la nivelurile adulților cu 8-12 luni.

Condițiile asociate cu un nivel crescut de AFP includ:

- spina bifida,
- defecte ale tubului neural,
- defecte ale peretelui abdominal,
- anencefalie

Globuline

❑ **Glicoproteina acidă α 1 (AAG)**, o glicoproteină plasmatică majoră, este încărcată negativ chiar și în soluțiile acide, fapt care i-a dat numele. Această proteină este produsă de ficat și este un reactant de fază acută.

Este **ridicată** în stres, inflamație și leziuni tisulare, infarct miocardic acut (IMA), traume, sarcină, cancer, pneumonie, artrita reumatoidă, intervenție chirurgicală.

❑ **Haptoglobina** - α 2-glicoproteină, este sintetizată în hepatocite.

Molecula matură de haptoglobină este un tetramer, format din două lanțuri α și două β . Haptoglobina este considerată o proteină de fază acută, care este crescută în multe boli inflamatorii, cum ar fi:

- colită ulcerativă,
- boală reumatică acută,
- infarct,
- infecție severă.

Este una dintre proteinele utilizate pentru evaluarea bolilor reumatice.

Globuline

❑ **Ceruloplasmina** - o enzimă α_2 -glicoproteină care conține cupru, care este sintetizată în ficat.

Ceruloplasminul este un reactant de fază acută.

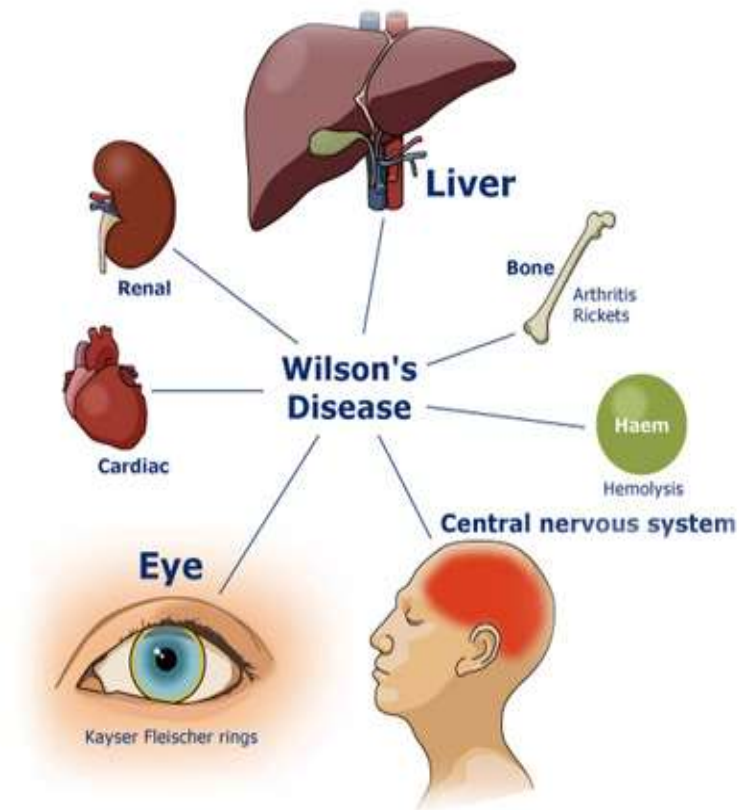
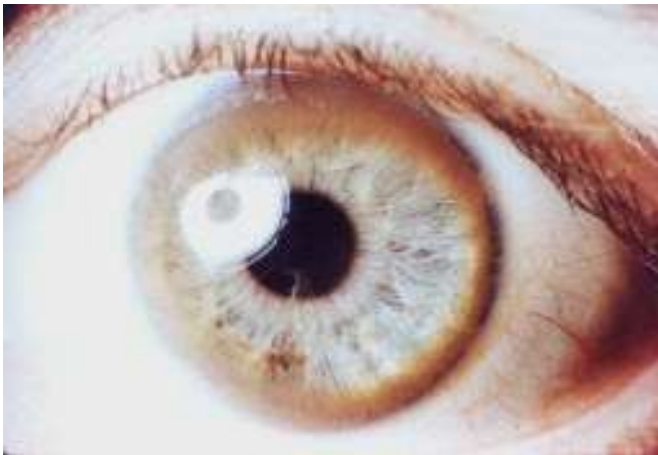
Este frecvent **crescută** în:

- inflamație,
- infecție severă,
- leziune de țesut
- Sarcina
- medicamente (contraceptive orale, carbamazepină, fenobarbital și acid valproic).

Ceruloplasmina este utilizată pentru diagnosticarea bolii Wilson, o tulburare moștenită autozomală recesivă asociată cu niveluri scăzute (de obicei 0,1 g / L) de ceruloplasmină și depozitarea excesivă de cupru în ficat, creier și alte organe, având ca rezultat ciroză hepatică și leziuni neurologice.

Cuprul seric total este scăzut, dar fracția cu reacție directă este crescută și excreția urinară a cuprului este crescută. Cuprul se depune și în cornee, producând inelele caracteristice Kayser-Fleischer.

BOALA WILSON



Transferina (Siderofiiina)

Transferina, o glicoproteină, este o proteină negativă de fază acută sintetizată în principal de către ficat. Două molecule de fier feric se pot lega de fiecare moleculă de transferină, care leagă fierul foarte strâns, dar reversibil.

Funcțiile majore ale transferinei sunt:

- transportul fierului și prevenirea pierderii fierului prin rinichi.
- transportă fierul către locurile sale de stocare, unde este încorporat în apoferitină, o altă proteină, pentru a forma feritină.
- transportă, de asemenea, fierul către celule, cum ar fi măduva osoasă, care sintetizează hemoglobina și alți compuși care conțin fier.

PROTEINA C REACTIVĂ

Proteina C reactivă (CRP) este sintetizată în ficat și este una dintre primele proteine de fază acută care cresc ca răspuns la o boală inflamatorie.

În mod normal, există niveluri minime de CRP în sânge.

O cantitate mare sau crescândă de CRP sugerează o infecție acută sau inflamație.

Deși un rezultat peste 1 mg / dL este de obicei considerat ridicat pentru CRP, majoritatea infecțiilor și inflamațiilor duc la niveluri de CRP peste 10 mg / dL.

Este semnificativ crescută în:

- ✓ febră reumatică acută,
- ✓ infecții bacteriene,
- ✓ infarctul miocardic,
- ✓ artrita reumatoidă,
- ✓ carcinomatoză,
- ✓ gută,
- ✓ infecții virale.

IMUNOGLOBULINELE

□ Imunoglobulinele (anticorpi sau Ig) sunt glicoproteine compuse din 82% până la 96% proteine și 4% până la 18% carbohidrați produși de celule albe din sânge, cunoscute sub numele de celule B, care conferă imunitate umorală.

Aceste proteine constau din :

- două lanțuri grele (H) identice și
- două lanțuri ușoare (L) identice

legate de două legături disulfidice care pot fi sub formă de monomeri cu o unitate, dimeri cu două unități sau pentameri cu cinci unități.

Există cinci clase de imunoglobuline (IgG, IgA, IgM, IgD și IgE) sau izotipuri bazate pe tipul de lanț greu pe care îl posedă. Lanțurile grele sunt γ , α , μ , δ și, respectiv, ϵ .