



Исследование белкового состава крови

Белки плазмы крови

- Белки представляют собой высокомолекулярные полипептиды, состоящие из более чем 20 видов α -аминокислот.
- Полипептиды отличаются от белков мол. массой 8000–10 000.
- Различают простые и сложные белки. Простые белки содержат только аминокислоты, а сложные - ещё и неаминокислотные компоненты: гем, производные витаминов, липиды или углеводы и др.
- Плазма крови человека содержит более 100 различных белков, различающихся по происхождению и функциям.

Белки плазмы крови. Роль в диагностике.

- **Общий белок**
- **Фракции белков**
- **Индивидуальные белки**

Гипопроотеинемия.

Пониженная концентрация белков в крови называется гипопроотеинемия (норма 65-85г/л). Чаще связана с гипоальбуминемией.

Гипопроотеинемия возникает вследствие:

- недостаточного введения белка (при длительном голодании или при продолжительном соблюдении безбелковой диеты);
- повышенной потере белка (при различных заболеваниях почек, кровопотерях, ожогах, новообразованиях, сахарном диабете, асците);
- нарушении образования белка в организме, при недостаточности функции печени (гепатиты, циррозы, токсические повреждения), длительном лечении ГК, нарушении всасывания (при энтеритах, энтероколитах, панкреатитах);
- сочетания различных из перечисленных выше факторов.

Гиперпротеинемия.

Повышенная концентрация белков в крови называется гиперпротеинемия (норма 65-85г/л). Чаще связана с гиперглобулинемией

Гиперпротеинемия нередко развивается как следствие:

- Дегидратации в результате потери части внутрисосудистой жидкости (тяжёлые травмы, обширные ожоги, холера).
- При острых инфекциях концентрация общего белка часто повышается вследствие дегидратации и одновременного возрастания синтеза белков острой фазы.
- При хронических инфекциях содержание общего белка в крови может нарастать в результате активации иммунологических процессов и повышенного образования Ig.
- При появлении в крови парапротеинов - патологических белков, вырабатываемых в большом количестве при миеломной болезни, при болезни Вальденстрёма.

Методы определения общего белка и индивидуальных белков

- Азотометрический
- Весовые (гравиметрические)
- Преципитационные
 - Нефелометрические;
 - Турбидиметрические
- Спектрофотометрические
- Фотометрические (Колориметрические)
- Рефрактометрические
- Поляриметрические

Белковые фракции сыворотки крови.

- Для разделения белковых фракций обычно используют метод электрофореза, основанный на различной подвижности белков сыворотки в электрическом поле. Это исследование в диагностическом отношении более информативно, чем определение только общего белка или альбумина.
- Исследование белковых фракций позволяет судить о характерном для какого-либо заболевания избытке или дефиците белка только в самой общей форме.

Принцип электрофореза белков

- Ацетатцеллюлозная пленка, гель, специальная бумага (носитель) помещается на рамку, при этом противоположные края носителя свисают в кюветы с буферным раствором.
- На линию старта наносится сыворотка крови.
- Метод заключается в движении буферного раствора по поверхности носителя под влиянием электрического поля. Двигаясь, буферный раствор захватывает молекулы белков сыворотки. Молекулы с наибольшим отрицательным зарядом и наименьшим размером, т.е. **альбумины**, двигаются быстрее остальных. Наиболее крупные и нейтральные (**γ-глобулины**) оказываются последними.
- На ход электрофореза влияет **подвижность** разделяемых веществ, находящаяся в зависимости от следующих факторов: **заряда** (обычно зависит от pH), **размера** и **формы** молекул веществ, **электрического поля**, **буфера** и **носителя** (учитывается его гидрофильность и адсорбционная способность).

Принцип электрофореза белков



Электрофореза белков. Количество фракций.

- Количество выделяемых фракций определяется условиями проведения электрофореза.
- При электрофорезе на бумаге и пленках ацетата целлюлозы в клинико-диагностических лабораториях выделяют **5 стандартных фракций**, в то время как в полиакриламидном геле – до 20 и более фракций.
- При использовании более совершенных методов (радиальная иммунодиффузия, иммуноэлектрофорез и других) в составе глобулиновых фракций выявляются многочисленные индивидуальные белки.

Белковые фракции сыворотки крови.

Альбумины	52-65 %	35-50 г/л
α_1 -Глобулины	2,5-5 %	1-3 г/л
α_2 -Глобулины	7-13 %	6-10 г/л
β -Глобулины	8-14 %	7-11 г/л
γ -Глобулины	12-22 %	8-16 г/л

Методы определения альбумина

- Фотометрические (взаимодействия альбумина с красителями. С этой целью применяют бромкрезоловый зеленый (БКЗ), бромкрезоловый красный, метиловый оранжевый, натриевую соль 2-(4-оксиазобекзол)-бензойной кислоты (ОБК); бромфеноловый голубой и др.).
- Электрофоретические
- Иммунологические (взаимодействие со специфическими антителами, чаще для определения альбумина мочи)

Фракция α 1-глобулинов

включает:

- α 1-антитрипсин (основной компонент этой фракции) – ингибитор многих протеолитических ферментов – трипсина, химотрипсина, плазмина и.т.д;
- α 1-кислый гликопротеин (орозомукоид). Он повышается в ответ на различные острые и хронические воспалительные стимулы. Используется для индикации острофазового ответа.
- Сывороточный амилоидный белок А
- α 1-липопротеин (ЛПВП) – участвует в транспорте липидов;

Фракция α_2 -глобулинов

включает:

- α_2 -макроглобулин (основной компонент фракции) – является регулятором иммунной системы и участвует в развитии инфекционных и воспалительных реакций.
- Гаптоглобин – это гликопротеин, который образует комплекс с гемоглобином, высвобождающимся из эритроцитов при внутрисосудистом гемолизе, утилизирующийся затем клетками ретикулоэндотелиальной системы, что необходимо для предотвращения потерь железа и повреждения почек гемоглобином.
- Церулоплазмин – специфически связывает ионы меди, а также является оксидазой аскорбиновой кислоты, адреналина, диоксифенилаланина (ДОФА), способен инактивировать свободные радикалы. При низком содержании церулоплазмина (болезнь Вильсона-Коновалова) происходит накопление меди в печени (вызывая цирроз) и в базальных ганглиях мозга (причина хореоатетоза). Увеличение содержания церулоплазмина специфично для меланомы и шизофрении.
- Аполипопротеин В – участвует в транспорте липидов.

Фракция β -глобулинов включает:

- Трансферрин – белок, который осуществляет транспорт железа, тем самым предотвращая накопление ионов железа в тканях и потерю его с мочой.
- Гемопексин – связывает гем и предотвращает его выведение почками.
- Компоненты комплемента – участвуют в реакциях иммунитета.
- β -липопротеин – участвует в транспорте холестерина и фосфолипидов.

Изменения фракции γ -глобулинов

- γ -Фракция содержит Ig (IgG, IgA, IgM, IgD, IgE),
- Повышение γ -глобулинов отмечают при реакции системы иммунитета: при инфекциях, воспалении, коллагенозах, деструкции тканей и ожогах. Значительная гипергаммаглобулинемия, отражая активность воспалительного процесса, характерна для хронических активных гепатитов и циррозов печени.
- Повышение фракции γ -глобулинов наблюдают у 88–92% больных хроническим активным гепатитом, при высокоактивном и далеко зашедшем циррозе печени, при этом нередко содержание γ -глобулинов превышает содержание альбуминов, что считают плохим прогностическим признаком.

Типы протеинограмм

Тип протеинограммы	Альбумины	Фракции глобулинов				Примеры заболеваний
		α_1	α_2	β	γ	
Острые воспаления	↓↓	↑	↑	—	↑	Начальные стадии пневмоний, острые полиартриты, экссудативный туберкулез легких, острые инфекционные заболевания, сепсис, инфаркт миокарда
Хронические воспаления	↓	—	↑↑	—	↑↑	Поздние стадии пневмоний, хронический туберкулез легких, хронический эндокардит, холецистит, цистит и пиелит
Нарушения почечного фильтра	↓↓	—	↑	↑	↓	Генуинный, липоидный или амилоидный нефроз, нефрит, нефросклероз, токсикоз беременности, терминальные стадии туберкулеза легких, кахексии

Типы протеинограмм

Тип протеинограммы	Альбумины	Фракции глобулинов				Примеры заболеваний
		α_1	α_2	β	γ	
Злокачественные опухоли	↓↓	↑↑	↑↑	↑↑↑	↑↑	Метастатические новообразования с различной локализацией первичной опухоли
Гепатиты	↓	—	—	↑	↑↑	Последствия токсического повреждения печени, гепатиты, гемолитические процессы, лейкемии, злокачественные новообразования кроветворного и лимфатического аппарата, некоторые формы полиартрита, дерматозы
Некроз печени	↓↓	—	↓	↑	↑↑	Цирроз печени, тяжелые формы индуративного туберкулеза легких, некоторые формы хронического полиартрита и коллагенозов

Типы протеинограмм

Тип протеинограммы	Альбумины	Фракции глобулинов				Примеры заболеваний
		α_1	α_2	β	γ	
Механические желтухи	↓	—	↑	↑	↑	Обтурационная желтуха, желтухи, вызванные развитием рака желчевыводящих путей и головки поджелудочной железы
α_2-глобулиновые плазмоцитомы	↓	↓	↑↑	↓	↓	α_2-Плазмоцитомы
β-глобулиновые плазмоцитомы	↓	↓	↓	↑↑	↓	β_1-Плазмоцитомы, β_1-плазмноклеточная лейкемия и макроглобулинемия Вальденстрема
γ-глобулиновые плазмоцитомы	↓	↓	↓	↓	↑↑	γ-Плазмоцитомы, макроглобулинемия и некоторые ретикулезы

Белки острой фазы. Определение.

- Большая группа белков сыворотки крови, синтезирующаяся в печени, концентрация которых возрастает при наличии воспаления, сдавления, ожога, бактериальной или вирусной инфекции.

Классификация БОФ по степени увеличения их концентрации в сыворотки крови (1)

Группы БОФ	Степень увеличения концентрации БОФ	БОФ	Концентрация в сыворотке крови здорового человека (г/л)
1 группа	«Главные» БОФ, уровень которых возрастает при повреждении очень быстро (в <u>первые 6-8 часов</u>) и значительно (в 20-100 раз, в отдельных случаях - в 1000 раз).	<u>С-реактивный белок (СРБ)</u>	< 0,005
		Амилоидный белок <u>А</u> сыворотки	
2 группа	Белки, концентрация которых может умеренно увеличиваться (в 2-5 раз) в течении <u>24 ч</u>	<u>Орозомукоид</u> (кислый α_2 -гликопротеид)	0,4 - 1,3
		α_2 - <u>Антитрипсин</u>	1,4 - 3,2
		<u>Гаптоглобин</u>	0,5 - 3,2
		Фибриноген	1,8 - 3,5 (плазма)

Классификация БОФ по степени увеличения их концентрации в сыворотки крови (2)

Группы БОФ	Степень увеличения концентрации БОФ	БОФ	Концентрация в сыворотке крови здорового человека (г/л)
3 группа	Незначительное увеличение концентрации (на 20 - 60%) в течение 48ч	<u>Церулоплазмин</u>	0,2 - 0,5
		С3 - комплект	0,5 - 0,9
		С4 - комплект	0,1 - 0,4
4 группа	Нейтральные БОФ (белки, концентрация которых может оставаться в пределах нормальных значений, однако они принимают участие в реакциях острой фазы воспаления).	Иммуноглобулин G	8 - 20
		Иммуноглобулин A	0,9 - 4,5
		Иммуноглобулин M	0,6 - 2,5
		α_2 -Макроглобулин	1,2 - 3,2
5 группа	"Негативные" БОФ, уровень может снижаться на 30-60 % в течение 12 - 18 ч	Альбумин	37 - 53
		<u>Трансферрин</u>	2,3 - 4,3
		<u>Преальбумин</u>	0,25 - 0,45

Белки острой фазы

- Являются неспецифичными
- Хорошо коррелируют с активностью и тяжестью заболевания, стадией процесса и массивностью повреждения
- Используют для мониторинга течения заболевания и контроля за эффективностью проводимой терапии
- Изменения концентрации варьируют в широких пределах.

Белки острой фазы. Методы определения.

- **Инструментальные: нефелометрия, иммунотурбидиметрия** - примерно равноценны по чувствительности, специфичности, трудоемкости и стоимости исследования. Возможна автоматизация. Оптимальным для больших и средних лабораторий.
- **Методы, не требующие оборудования: радиальная иммунодиффузия** - полностью готовые к употреблению иммунодиффузионные планшеты. Возможно определение СРБ и других БОФ без приборов и дополнительных реагентов. Рекомендованы для небольших лабораторий.
- **Латекс-агглютинация - быстрый полуколичественный метод определения СРБ.** Назначение – скрининг повышенных концентраций, после чего следует перейти к мониторингу с использованием количественных методов.

Заключение

- Определение белка и белковых фракций играет важную роль для диагностики различных патологических состояний
- Из острофазовых белков наибольшее значение играет определение С-реактивного протеина
- При повышении концентрации общего белка крови следует исключить парапротеинемии
- Снижение общего белка крови чаще обусловлено снижением концентрации альбумина
- Наибольшее диагностическое значение имеет определение индивидуальных белков в сыворотке крови



Вопросы?