

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА БЕЛКОВ МОЧИ И УРОВНЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ПРОТЕИНУРИЙ

ЯРЕЦ ЮЛИЯ ИГОРЕВНА, к.м.н., доцент, заведующий клинико-диагностической лабораторией (e-mail: [artyut@mail.ru](mailto:artyut@mail.ru))

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Республика Беларусь

**Введение.** Изолированная оценка протеинурии на основании суммарной концентрации белков не дает ответа на вопрос о локализации повреждения нефрона. Потеря белков плазмы наблюдается в результате: повышения проницаемости клубочка (клубочковая или гломерулярная протеинурия); дефектов канальцевой реабсорбции фильтрующихся в норме белков или потери белков-компонентов клеток почечных канальцев при канальцевом повреждении (канальцевая или тубулярная протеинурия); повышения содержания в плазме легко фильтрующихся в мочу низкомолекулярных белков (протеинурия «переполнения»). Для дифференциальной диагностики типов протеинурии используется метод электрофореза. В свою очередь, отдельные специфические белки в моче (альбумин, трансферрин, цистатин С,  $\beta$ -2-микроглобулин и др.) также имеют диагностическую информативность в качестве биомаркеров уровня повреждения нефрона

**Цель:** проанализировать результаты электрофоретического исследования белков мочи и определения уровня специфических белков

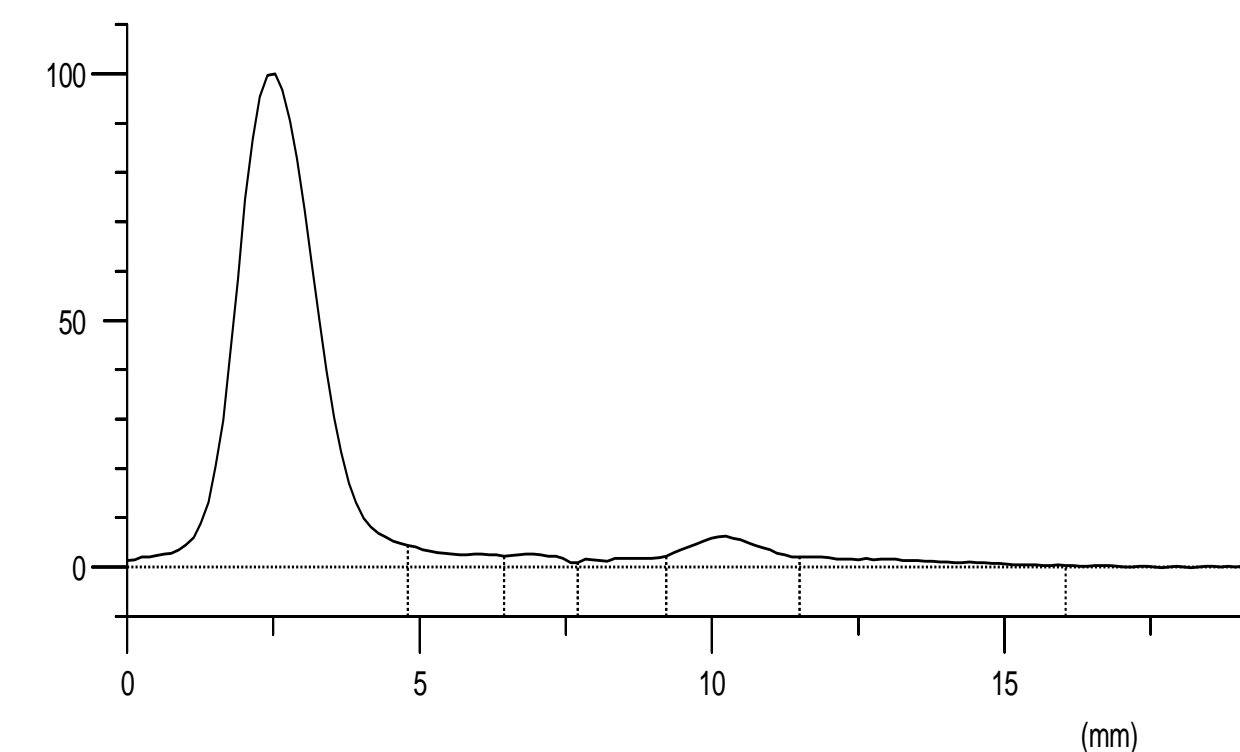
**Материал и методы.** Объектом исследования были образцы мочи 60 пациентов с протеинурией. Среди пациентов 33 человека (55%) имели почечную патологию: хроническая болезнь почек (ХБП), в том числе пациенты после трансплантации почки, хронический гломерулонефрит, хронический пиелонефрит, нефросклероз, поликистоз почек, хронический нефритический синдром, подагра; 6 (10%) – сахарный диабет (СД); 16 (26,7%) – болезни крови: множественная миелома (ММ), миелодиспластический синдром, острый и хронический лейкоз, хронические миелолиферативные заболевания, моноклональная гаммапатия, эритремия; 5 (8,3%) – болезни сердца: ишемическая болезнь сердца, атеросклеротический кардиосклероз.

У пациентов в суточной пробе мочи определяли уровень белка с использованием турбидиметрического метода (реагент – бензетоний хлорид Abbott Urine/CSF Protein). Также в моче определяли уровень специфических белков: альбумина, цистатина С, бета-2-микроглобулина. Исследования выполняли на биохимическом анализаторе Architect c8000 (Abbott Laboratories, США) с использованием оригинальных реагентов производителя оборудования. Для выполнения электрофореза использовали агарозный гель SAS-3 UP 60 (Helena Laboratories, Великобритания), оборудование SAS-3/SAS-4 (Helena Bioscience Europe). Обработка результатов проводилась с помощью программного обеспечения Platinum v. 3.0 Фракции белков сыворотки представляли в относительных значениях (%), расчет проводили по отношению к концентрации общего белка. Оценивали уровень альбумина,  $\alpha$ 1- и  $\alpha$ 2-глобулинов,  $\beta$ 1- и  $\beta$ 2-глобулина,  $\gamma$ -глобулинов.

Таблица – Результаты электрофореза белков мочи пациентов с протеинурией

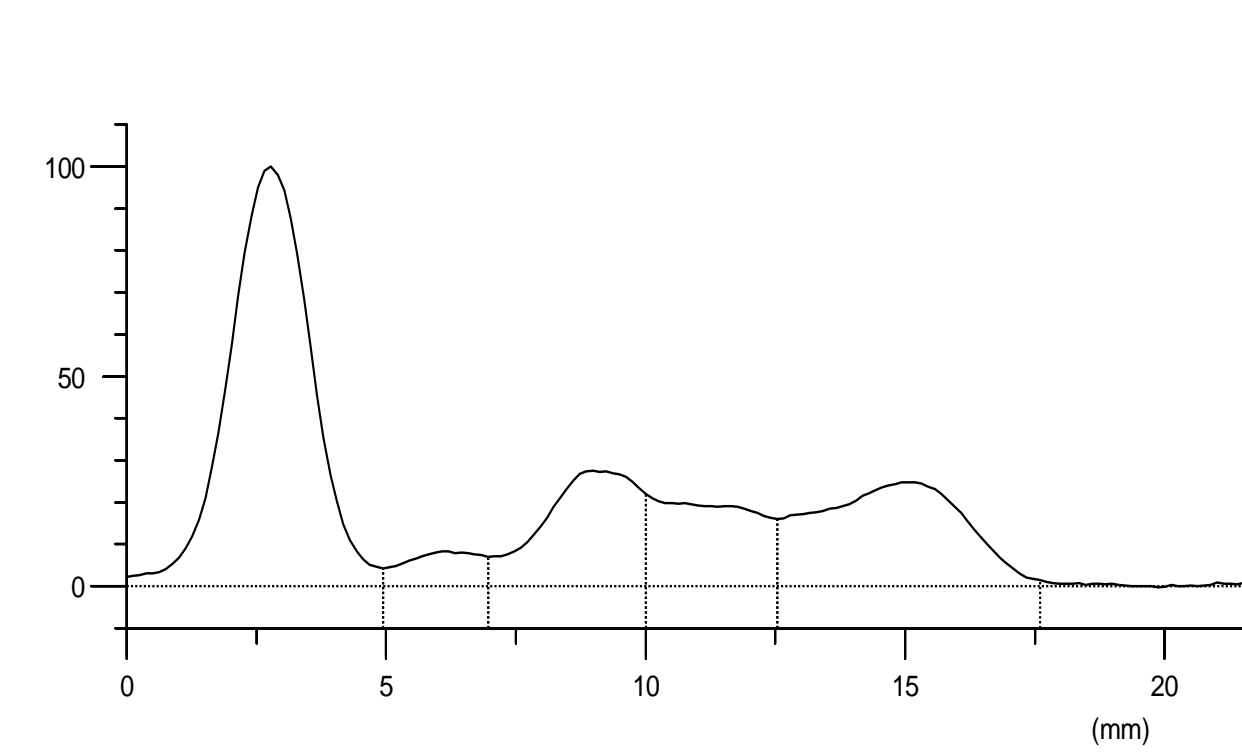
Показатель	Клубочковая протеинурия (n=14)	Смешанная протеинурия (n=34)	Канальцевая протеинурия (n=7)	Протеинурия «переполнения» (n=5)
Протеинурия, г/л	0,75 (0,61; 0,99)	2,1 (1,6; 5,3)	0,9 (0,7; 1,2)	1,9 (1,6; 2,0)
Альбумин, %	66,8 (62,0; 72,0)	44,0 (31,7; 47,8)	11,5 (9,8; 17,7)	27,4 (19,3; 21,8)
$\alpha$ 1-глобулины, %	2,4 (1,8; 3,2)	5,6 (3,7; 8,8)	6,5 (3,4; 8,1)	1,9 (0,9; 2,7)
$\alpha$ 2-глобулины, %	3,2 (2,4; 3,9)	7,5 (4,7; 10,1)	11,6 (4,0; 14,9)	4,0 (1,9; 6,0)
$\beta$ 1-глобулины, %	3,4 (2,5; 5,3)	8,9 (5,9; 10,9)	9,5 (6,6; 11,2)	4,9 (3,3; 5,0)
$\beta$ 2-глобулины, %	9,6 (4,9; 11,9)	16,0 (9,8; 19,5)	11,6 (6,6; 27,5)	6,0 (5,2; 7,4)
$\gamma$ -глобулины, %	13,8 (11,1; 16,5)	19,7 (15,4; 29,2)	48,8 (22,1; 63,0)	63,8 (57,1; 73,1)

Альбуминурия (селективная клубочковая протеинурия)



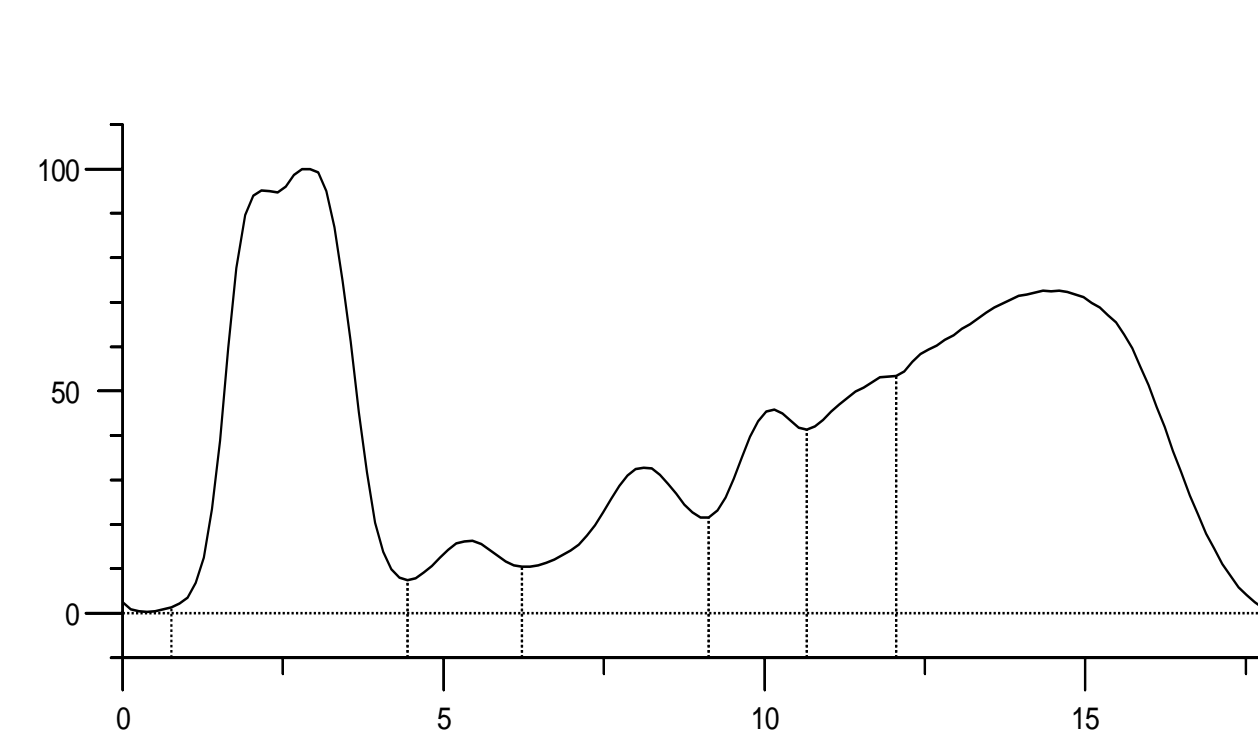
В белковом спектре мочи преобладает альбумин. Дополнительными маркерами гломерулярной протеинурии является трансферрин, который находится в зоне  $\beta$ -глобулинов и иммуноглобулины, которые находятся в зоне  $\gamma$ -глобулинов

Неселективная клубочковая протеинурия



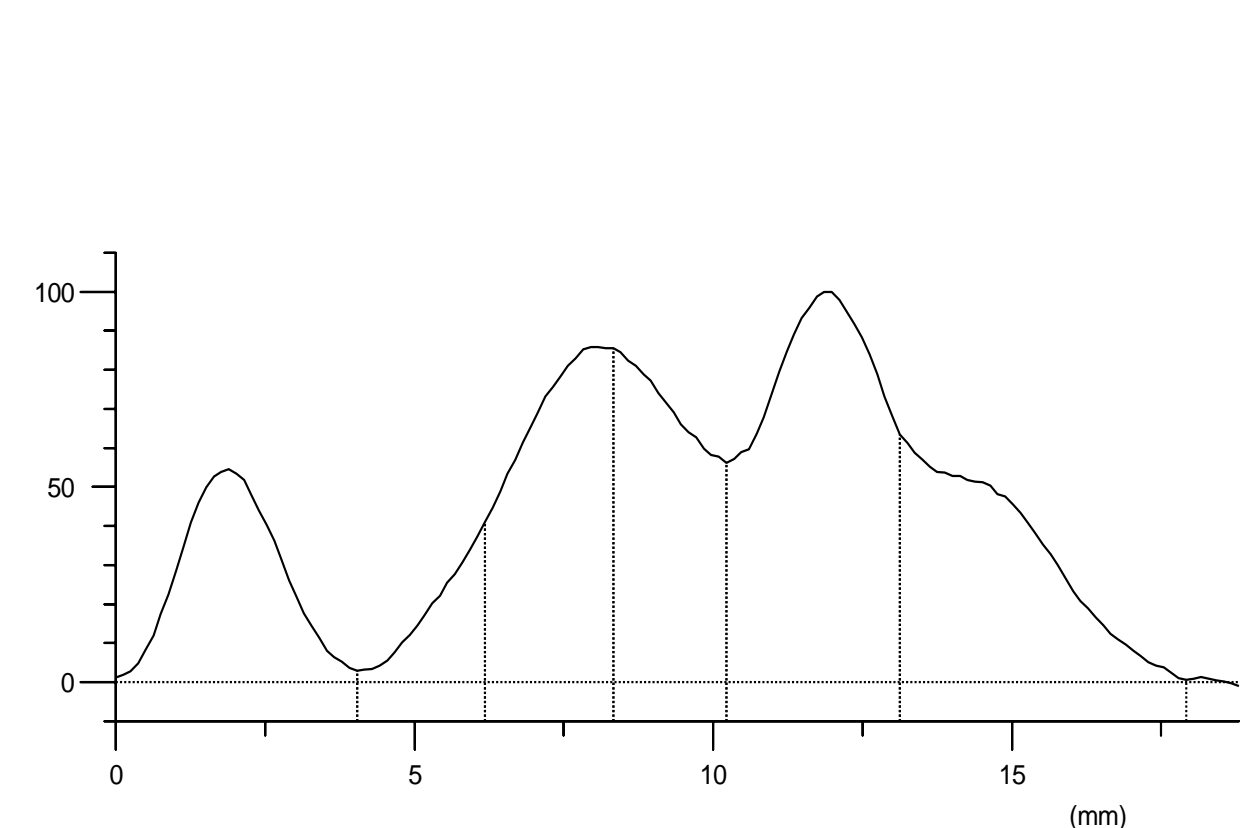
При неселективной протеинурии преобладает фракция альбумина, но расширяется зона  $\gamma$ -глобулинов (гамма-глобулины) и  $\beta$ -глобулинов (трансферрин)

Смешанная протеинурия (клубочковая и канальцевая)



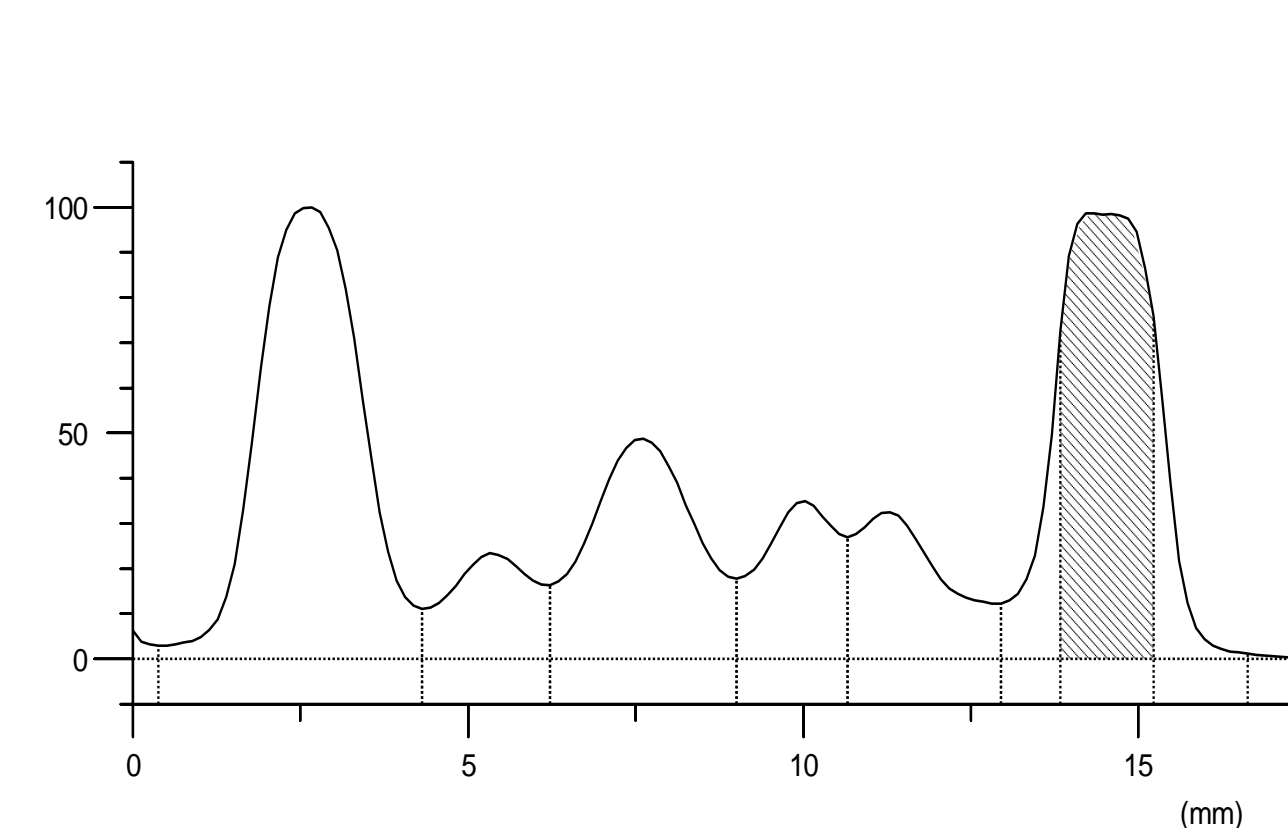
Присутствие всех фракций белка – альбумина и глобулинов

Канальцевая протеинурия



Преобладают белки, не реабсорбирующиеся в проксимальных канальцах

Протеинурия переполнения



Протеинурия переполнения – преренальная, обусловлена наличием «малых» белков – легких цепей иммуноглобулинов (белок Бенс-Джонса). Этот парапротеин выявляется в виде дополнительного пика, локализация которого может варьировать от  $\alpha$ 1- до  $\gamma$ -фракции. Градиент занимает от 21% до 62% от общего белка в моче

**Результаты.** Уровень общего белка в моче у пациентов составлял 1,31 (0,74; 2,35) г/л, максимальными были значения 19,8 г/л и 16,12 г/л у пациентов с ХБП, хроническим гломерулонефритом, мембранозной нефропатией.

В результате электрофоретического исследования у 14 пациентов (23,3%) в белковом спектре мочи преобладал альбумин, что определяло селективную гломерулярную протеинурию. Гломерулярная протеинурия регистрировалась у пациентов с СД, болезнями крови, кроме ММ, а также при хроническом гломерулонефрите и ХБП. У 34 пациентов (56,7%) уровень альбумина составлял менее 50%. Более половины белкового спектра было представлено глобулинами. Присутствие всех фракций белка определяет смешанную протеинурию, которая характеризуется присутствием альбумина и глобулинов – трансферрина, иммуноглобулинов,  $\alpha$ 1-микроглобулина и  $\beta$ 2-микроглобулина и др.. Уровень общего белка в этой подгруппе был выше, чем при клубочковой протеинурии и составлял 2,1 (1,6; 5,3) г/л. Смешанная протеинурия выявлялась при ХБП и других болезнях почек, онкогематологических заболеваниях, СД. У 7 пациентов (11,7%) вклад альбумина в белковый спектр мочи был минимальным, большинство белков приходилось на глобулины (таблица). Низкое содержание альбумина является признаком канальцевой протеинурии, когда в моче преобладают белки, не реабсорбирующиеся в проксимальных канальцах. Этот тип протеинурии был обнаружен у пациентов с ХБП и с лейкозами. Выделяют протеинурию переполнения, которая относится к группе преренальных и обусловлена наличием «малых» белков, в частности, легких цепей иммуноглобулинов (белка Бенс-Джонса). На электрофореграмме этот парапротеин выявляется в виде дополнительного пика, локализация которого может варьировать от  $\alpha$ 1- до  $\gamma$ -фракции. Протеинурия, обусловленная белком Бенс-Джонса, выявлялась только у пациентов с ММ (n=5, 8,3%). Для этой подгруппы пациентов определение количества и типа парапротеина как в сыворотке, так и в моче является обязательным этапом диагностики и мониторинга. Преобладающей белковой фракцией в подгруппе пациентов с ММ были  $\gamma$ -глобулины (таблица), в области которых образовывался компактный градиент, занимающий от 21% до 62% от общего белка в моче

Определение специфических белков показало широкий разброс результатов. Уровень альбумина в моче составлял 0,43 (0,17; 1,90) г/л, с максимальными значениями 5,0–12,0 г/л, и был сопоставим с результатами электрофоретического исследования. Значения цистатина С в моче были 0,34 (0,07; 2,05) мг/л, максимумом: 10,0–14,95 мг/л.

У обследованных пациентов уровень  $\beta$ 2-микроглобулинов составил 1,10 (0,25; 14,8) мг/л, в некоторых случаях концентрация превышала 96,05 мг/л; у 20% (n=12) пациентов значения  $\beta$ 2-микроглобулина в моче были меньше 0,30 мг/л. В данном исследовании не проводился анализ уровней специфических белков в моче в зависимости от клинических и других лабораторных особенностей патологического процесса. Однако, учитывая перспективность указанных биомаркеров, изучение их клинико-диагностического значения будет целью дальнейших исследований.

Известно, что цистатин С, свободно экскретируется в мочу путем клубочковой фильтрации, а затем полностью реабсорбируется в канальцах и катаболизируется (без секреции). И поэтому, как ранее полагалось, цистатин С в значимых количествах в моче обнаруживаться не должен. Оказалось, что в действительности это не так: при дисфункции эпителиоцитов проксимальных канальцев концентрации цистатина С в моче существенно возрастает – до 200 раз. Обнаружение значимых количеств цистатина С в моче рассматривают как маркер нарушенной реабсорбции и тубулярной протеинурии. В норме содержание цистатина С в моче составляет не более 0,05 мг/л. При гломерулярных заболеваниях его концентрация увеличивается до 0,106±0,033 мг/л, при тубулярных – до 4,31 и более. Концентрация цистатина С в моче используется для диагностики острого повреждения почек у пациентов в отделении интенсивной терапии и в качестве предиктора вероятности летального исхода у пациентов после кардиоваскулярных операций. Считают, что уровни цистатина С в моче отражают функции ренальных эпителиальных клеток, связаны с тубулярным повреждением и могут быть более ранними маркерами ренальной патологии, предшествующей альбуминурии. Другим маркером тубулярной протеинурии является  $\beta$ 2-микроглобулин; его увеличение в моче более 0,32 мг/л указывает на вовлечение в патологический процесс канальцев почек и связано с длительностью существования этих нарушений. Доказано, что  $\beta$ 2-микроглобулин является более точным показателем снижения функции почек, чем уровень креатинина, особенно в «серой зоне».

**Выводы.** Уровень общего белка, определенного с ССК, несопоставим со значениями, полученными методом с бензетонием хлоридом, и в большинстве случаев – занижен, что обосновывает пересмотр существующей практики определения протеинурии в лабораториях. Определение качественного состава белков мочи с помощью электрофореза обеспечивает оценку уровня и степени дисфункции нефрона. В свою очередь, изучение качественного состава специфических белков в моче в динамике заболевания позволит выявлять группы риска по развитию и прогрессированию патологических состояний, протекающих с повреждением почек.

Источник финансирования отсутствует.