

Среди диагностических маркеров, выявляемых с помощью электрофореза, следует оценить те из них, которые характеризуют следующие патофизиологические процессы:

- 1) Гуморальное звено иммунитета.
- 2) Острый или хронический воспалительный, нефротический процесс.
- 3) Снижение синтеза белка в печени.
- 4) Потеря белка.
- 5) Внутрисосудистый гемолиз.

Патофизиологические синдромы, которые могут быть выявлены при анализе электрофореграммы изложены ниже.

Иммунодефицит

По результатам электрофореза можно ориентировочно оценить количество иммуноглобулинов класса G. Однако следует помнить, что даже в условиях нормы содержание иммуноглобулинов колеблется от 5 до 15 г/л, что обеспечивает широкую вариабельность плотности региона гамма-глобулинов. Поэтому при нормальной концентрации IgM и IgA может казаться, что уровень IgG очень низок. В этих условиях на электрофореграмме найдется отражение только очень выраженное снижение фракции иммуноглобулинов, что требует в дальнейшем дифференцированного определения в крови содержания IgG, IgA и IgM (рис. 12).

Активация гуморального звена

Накопление иммуноглобулинов в сыворотке крови может иметь поликлональное или моноклональное происхождение, что будет отражено на электрофореграмме в форме увеличения всей зоны гамма-глобулинов в первом случае, и формирование острого пика (узкой зоны) во втором. Поликлональное увеличение в крови содержания IgG выше 20 г/л проявляется как диффузное увеличение фракции гамма-глобулинов. Сказать что-либо в отношении содержания в крови IgM по данным электрофореза не представляется возможным, поскольку содержание этого класса иммуноглобулинов в крови довольно низкое. Накопление в крови IgA в концентрации превышающей 6 г/л (в норме 0,5-4,0 г/л) проявляется на электрофореграмме в виде заполнения пространства между зонами бета- и гамма-глобулинов (слияние зон). Слабые множественные полосы или появление зон в области гамма-глобулинов может быть следствием иммунного дефицита, аутоиммунного заболевания или хронической инфекции. Выявление моноклональных гаммапатий (парапротеинемий) будет рассмотрено отдельно (Рис. 6-12)

Воспалительный процесс

Реакция организма на острую фазу воспаления проявляется в значительном увеличении в крови содержания белков острой фазы (положительные белки острой фазы) и снижением содержания отрицательных. На электрофореграмме это отражается в увеличении фракций альфа1- и альфа2- глобулинов. Увеличение белка в этих фракциях является, в первую очередь, следствием накопления в сыворотке крови альфа1- антитрипсина и гаптоглобина. Белки острой фазы, выявляемые с помощью электрофореза, по чувствительности соответствуют значению скорости седиментации эритроцитов (СОЭ). В то же время, оба метода в значительной степени уступают по чувствительности определению содержания в крови С-реактивного белка, особенно при использовании метода иммунотурбидиметрии.

При определенных патологических условиях не происходит параллельного повышения белков острой фазы в результате потребления некоторых из них. Это имеет отражение в несоответствии изменений зоны бета- и гамма- глобулинов. В этих условиях, динамическое использование метода электрофореза помогает разобраться в клинической ситуации. (Рис.13 - 19).

Активация комплемента

Активация системы комплемента с потреблением С3-компонента приводит к увеличению альфа2- фракции на электрофореграмме. К сожалению С3-компонент обладает низкой стабильностью в крови и хранении образцов сыворотки крови приводит к прогрессивному уменьшению белка в альфа2- фракции при одновременном смещении его в область альфа1- фракции. Добавление ЭДТА позволяет добиться большей стабильности С3-компонента. Тем не менее, иммунотурбидиметрическое определение содержания С3 и С4 компонентов комплемента обладает большими диагностическими возможностями.

Снижение синтеза белка

Неадекватное питание или паренхиматозное поражение печени могут сопровождаться снижением содержания в крови некоторых белков. Это снижение наиболее выражено проявляется для группы транспортных протеинов: альбумина, преальбумина, трансферина, ретинолсвязывающего белка. наиболее часто синтез этих белков оказывается сниженным в острую фазу воспалительного процесса на основе чего их иногда называют "отрицательными" белками острой фазы. Потеря альбумина из внутрисосудистого пространства может происходить и через гломерулярную мембрану, а также через стенки сосудов, в результате чего белок оказывается компонентом эксудата и трансфузата. В условиях патологии печени и развития синдрома портальной гипертензии большое количество альбумина даже в условиях его усиленного синтеза оказывается в асцитической жидкости, выявляя на электрофорезе картину гипоальбуминемии. При многих патологических процессах только на основании данных электрофореза трудно говорить о синтезе альбумина в печени. Во всех ситуациях содержание в крови ретинолсвязывающего белка более адекватно отражает уровень синтеза протеинов в печени, однако, его определение требует применения сложной технологии. Кроме того, довольно длительный период циркуляции альбумина в сосудистом русле делает частое определение его содержания в крови малоэффективным (Рис. 226 23).

Несмотря на то, что зона альбумина является самой большой, количественная оценка этой фракции встречает наибольшие трудности. Высокая концентрация альбумина в сыворотке крови и большая оптическая плотность зоны являются причиной ошибок при расчете. Использование неразбавленной или разбавленной сыворотки крови и недостаточная способность денситометра регистрировать большую оптическую плотность, особенно при сканировании непросветленных ацетатцеллюлозных мембран, привело к тому, что в разных лабораториях процентное содержание альбумина в норме колеблется от 65 до 39%. Если оптическая плотность зоны альбумина при сканировании занижена в результате недостаточной мощности денситометра, то автоматически увеличивается процентное содержание всех зон глобулинов. Поэтому, несмотря на разные системы электрофореза и типы мембран ацетата целлюлозы, содержание альбумина при интерпретировании не должно быть ниже 58-63% в группе здоровых лиц. Множество ошибок, которые могут быть допущены при денситометрическом сканировании электрофореграммы, дает основание, в первую очередь, проводить визуальную оценку отдельных белковых зон. Хорошо отработанная методика электрофореза с

применением адекватного красителя и процедуры обесцвечивания фона позволяет выявить в неразбавленной сыворотке крови зону преальбумина.

Состояние потери белка

Уменьшение содержания альбумина в сыворотке крови возникает при потере в почках (нефротический синдром), ожогах, патологии кишечника, опухолях, энтеропатиях. Динамические наблюдения позволяют следить за уровнем альбумина в крови. Выявление повышения содержания альбумина в сыворотке крови донормального уровня свидетельствует об улучшении состояния больного. Снижение содержания альбумина в сыворотке крови сопровождается активацией синтеза в печени других белков, таких как апопротеин В и альфа₂-макроглобулин. При нефротическом синдроме, в условиях селективной потери белка с молекулярной массой не более 100 КД накапливаются более крупные протеины, в частности апоВ - основные структурные белки богатых триглицеридами липопротеидов, что является основой развития гиперхолестеремии и гипертриглицеридемии и возникновения широкой полосы бета- липопротеидов в зоне альфа₂- глобулинов. Параллельно накоплению в крови апоВ, возрастает и содержание альфа₂-макроглобулинов. Накопление в крови апоИ, являющегося основным белком триглицеридбогатых липопротеидов, сопровождается развитием вначале гипертриглицеридемии, и позже гиперхолестеремии с развитием гиперлипидемии по П б, или !У типу (по Фредриксону).

Таким образом, нефротический синдром сопровождается характерным увеличением зоны альфа₂- глобулинов (Рис.21).

Внутрисосудистый гемолиз

В условиях отсутствия процесса воспаления и синдрома острой фазы уровня гаптоглобина в сыворотке крови является надежным фактором внутрисосудистого гемолиза.

Однако, низкий уровень гаптоглобина может являться следствием генетического нарушения синтеза его альфа-цепи, что более характерно для негроидной популяции, но реже встречается в популяции белых людей. Гаптоглобин удается четко выявить вместе с альфа₂-макроглобулином в зоне альфа₂- глобулина на электрофореграмме. Генетические формы гаптоглобина НР-2 и 2-2 располагаются катодно относительно альфа₂- макроглобулина в зоне альфа₂- глобулина, им свойственна множественность полос. Фенотип Нр 1-1 характеризуется одной единственной зоной, мигрирующей несколько быстрее трансферрина. Уменьшение в сыворотке крови содержания гаптоглобина можно определить визуально, когда его снижение превышает 50%, что наблюдается при циррозе печени, сепсисе, метастазах опухолей в печень. В больших лабораториях, однако содержание в крови гаптоглобина и альфа₂-макроглобулина определяют методом лазерной нефелометрии, более чувствительным и специфичным.

Генетические вариации белков

К индивидуальным белкам сыворотки крови, для которых генетические варианты встречаются наиболее часто, относятся церрулоплазмин, С1-ингибитор эстераз, альфа₁- антитрипсин, но только варианты альбумина, гаптоглобина, трансферрина, альфа₁- антитрипсина могут быть выявлены с помощью электрофореза. Снижение уровня альфа₁- антитрипсина можно наблюдать при электрофорезе, учитывая, что даже в остром периоде воспалительного процесса содержание альфа₁- антитрипсина редко превышает 50% нижнего предела нормального диапазона. Полиморфизму этого белка посвящены многие исследования. В настоящее время считается, что существует не менее семи аллелей, но европеоидной популяции преобладает фенотип Р_i ММ. Два аллеля Р_i и Р_i сопряжены со сниженной концентрацией альфа₁- антитрипсина в крови. Для этого генетического дефекта характерно почти отсутствие или очень слабая полоса альфа₁- глобулинов на электрофореграмме. Клинически важные варианты альфа₁- антитрипсина Р_iZZ, Р_iSZ, и Р_iSS могут быть обнаружены методом электрофореза или иммунохимическим методом, но при этом не могут быть отчлены друг от друга. Идентификацию фенотипов можно провести только с помощью метода изоэлектрофокусирования

Сбор и хранение сыворотки крови

Сыворотку крови получают из крови, взятой без антикоагулянтов. В плазме крови присутствует фибриноген, который формирует полосу между зонами бета и гаммаглобулинов. Гемолиз следует исключить, так как гемоглобин - гаптоглобиновый комплекс формирует полосу между альфа₂- и бета- глобулинами, свободный гемоглобин дает полосу в области бет-глобулинов. Это важно, поскольку парапротеины могут быть расположены практически во всех зонах. Сыворотку крови хранят при температуре 4°С не более 72 часов. Длительное хранение требует замораживания при температуре - 40-70°С. Лучше иметь контрольные материалы, позволяющие детектировать отдельные виды парапротеинов.

Следует принимать во внимание, что парапротеины могут образовывать комплексы с другими белками, формируя криоглобулины.