

Клиническое значение качественного и количественного анализа белкового состава мочи.

Новоселова О.В., Волынчик Е.П., Кононова С.В*.,
Вельков В.В*., Михайлов Ю.Е.

ГУ Российский научный центр хирургии РАМН, Москва
*ЗАО «ДИАКОН», г. Пущино, Московской области.

Обязательным и важным элементом исследования мочи является определение в ней белка. Учитывая большие колебания уровня протеинурии в различное время суток, принято оценивать выраженность протеинурии по суточной потере белка с мочой. У практически здорового человека содержание белка в суточном количестве мочи не превышает 150 мг (физиологическая протеинурия). Патологическая протеинурия бывает почечного и почечного происхождения.

Почечная, или ренальная протеинурия является одним из наиболее важных и постоянных признаков заболеваний почек и может быть вызвана поражением клубочков и/или канальцев нефрона. Почечная протеинурия может быть преренальной и постренальной.

Преренальная протеинурия возникает при отсутствии патологического процесса в самих почках. Ее происхождение обусловлено заболеваниями или патологическими состояниями, которые приводят к изменению концентрации белка в плазме крови (гемоглобин при выраженном гемолизе, миоглобин при синдроме размождения и др.) или к появлению патологических белков (белок Бенс-Джонса и другие парапротеины при миеломной болезни).

Постренальная протеинурия обусловлена выделением с мочой слизи и белкового экссудата при воспалении мочевых путей или кровотечением.

Анализ качественного состава белков мочи позволяет достаточно однозначно определить патогенез развития протеинурии.

Клубочек нефрона обладает способностью фильтрации, проявляя при этом избирательность в отношении размера и заряда фильтруемых частиц. Молекулы с радиусом менее 2,5 нм свободно проходят через этот фильтр. При радиусе молекулы более 4 нм фильтрация становится ограниченной. Под избирательностью к заряду частиц понимают свойство клубочкового фильтра затруднять прохождение отрицательно заряженных макромолекул по сравнению с нейтральными или положительно заряженными из-за наличия анионных участков на базальной мембране, на подоцитах, на эндотелии и на мезангиуме. Так, прохождение альбумина, имеющего при физиологических значениях pH отрицательный заряд и радиус молекулы 3,6 нм, затруднено главным образом из-за его отрицательного заряда, а не из-за размера. В норме суточная потеря альбумина с мочой не превышает 30 мг.

Основная масса профильтровавшихся в канальцы белков (примерно 98%) реабсорбируется в проксимальном извитом канальце. Способность проксимального канальца реабсорбировать индивидуальные белки различна, даже если у них одинаковые размеры и заряды. Основные низкомолекулярные белки, присутствующие в нормальной моче - это β_2 -микроглобулин, α_1 -микроглобулин и ретинолсвязывающий белок.

Кроме белков, фильтрующихся в клубочке, в моче содержатся белки, образующиеся в мочевом тракте. Они составляют до 50% всех белков мочи при физиологической протеинурии. Основным представителем таких белков является белок Тамма-Хорсфалля (или уромукоид) - крупный гликопротеид, секретируемый клетками восходящей петли Генле.

Существует 2 основных механизма развития почечной протеинурии:

- увеличение фильтрации белков при повреждении гломерулярного фильтра (гломерулярная протеинурия) или
- снижение реабсорбции профильтровавшихся белков клетками почечных канальцев (тубулярная протеинурия).

При сочетании этих двух механизмов развивается смешанный тип протеинурии.

Микроальбуминурия (экскреция альбумина с мочой в количестве от 30 до 300 мг в сутки) развивается при нарушении функции плазматических мембран высокодифференцированных клеток клубочка из-за изменения структуры аннулярных фосфолипидов и заряда базальной мембраны, что приводит к уменьшению отрицательного заряда на гломерулярном фильтре. Обнаружение микроальбуминурии - это тест на раннее обнаружение развивающейся нефропатии любого генеза.

При различных заболеваниях клубочков степень снижения их барьерных свойств по отношению к частицам разного размера различна. В связи с этим гломерулярная протеинурия может быть двух типов - селективная и неселективная.

При селективной гломерулярной протеинурии через гломерулярный барьер проходит альбумин и трансферрин, размеры которых 4 нм, но не более крупные иммуноглобулины IgG (радиус которых 5,5 нм).

При неселективной гломерулярной протеинурии в моче содержатся уже не только альбумин, трансферрин, но и иммуноглобулины G. Именно степень уменьшения селективности (или избирательности) клубочковой фильтрации при протеинурии служит показателем степени повреждения клубочкового фильтра и, следовательно, имеет важное диагностическое и прогностическое значение.

- Альбумин, трансферрин, иммуноглобулины G являются маркерами гломерулярного типа протеинурии,
- обнаружение в моче только альбумина и трансферрина свидетельствует о селективной гломерулярной протеинурии,
- наличие в моче альбумина, трансферрина и иммуноглобулинов G свидетельствует о более тяжелой неселективной гломерулярной протеинурии.

Дисфункция проксимальных канальцев нарушает реабсорбцию профильтровавшихся белков, развивается тубулярная протеинурия. В этих случаях в моче появляются белки, в норме проникающие через интактный клубочковый фильтр, но не реабсорбирующиеся в проксимальных канальцах. Альбумин при таких тубулоинтерстициальных заболеваниях обнаруживается в значительно меньшей концентрации относительно других небольших белков, чем при заболеваниях, связанных с потерей селективности клубочкового барьера по отношению к размеру или заряду фильтруемых частиц.

Маркерами тубулярной протеинурии могут служить:

- α_1 -микроглобулин,
- β_2 -микроглобулин,
- ретинолсвязывающий белок.

Отдельно следует отметить необходимость определения наряду с альбумином, трансферрином и иммуноглобулинами G, α -микроглобулином, β_2 -микроглобулином α_2 -макроглобулина для дифференцировки типа протеинурии.

- α_2 -макроглобулин (молекулярная масса 720 кДа) не может пройти через почечный фильтр ни при какой гломерулярной патологии.
- его присутствие в моче обязательно указывает на постренальную протеинурию.

Основные маркеры всех типов патологической протеинурии представлены на рисунке 1.

Рисунок 1 Маркеры патологической протеинурии



Определение качественного и количественного состава белков суточной мочи необходимо не только для диагностики, но и для выбора оптимальной лечебной тактики. Так, исследование селективности протеинурии помогает решить вопрос о степени агрессивности иммуносупрессивной терапии при гломерулонефрите: наилучший терапевтический эффект наблюдается и наименьшая иммуносупрессия требуется при высокоселективной протеинурии. При лечении стероидрезистентных форм гломерулонефрита широко используется циклоспорин. При этом нефротоксичность циклоспорина может проявляться канальцевой протеинурией.

В целом, исследование белкового состава мочи позволяет дифференцировать клубочковую, т.е. характерную для нефрита, и канальцевую протеинурию, что дает возможность своевременно решить вопрос о целесообразности продолжения лечения циклоспорином.

Методы определения белкового состава мочи

Разделение белков на фракции согласно их молекулярной массе с помощью *электрофореза* с детергентом додецилсульфатом натрия позволяет оценить весь спектр выделяемых с мочой белков и их процентное соотношение в диапазоне молекулярных масс от 10 до 900 кДа. В зависимости от сочетаний различных по молекулярной массе белков можно выделить различные типы уропротеинограмм, по которым судят не только об уровне (клубочковом и канальцевом), но и степени дисфункции/поражении нефронов почки (минимальной, умеренной, выраженной).

Альтернативным подходом к исследованию белкового состава мочи для дифференцирования типов протеинурии являются *иммунохимические методы* (в частности иммуноферментный, **иммунотурбидиметрический** анализ), которые позволяют идентифицировать отдельные специфические белки-«маркеры» того или иного типа протеинурии.

Клиническая информативность лабораторных данных напрямую зависит от правильного выбора аналитических методов.

Выбор метода предполагает знание и патофизиологических механизмов, и критериев аналитической надежности применяемых методик.

В лаборатории клинической диагностики Российского Научного центра хирургии проведена сравнительная оценка диагностической информативности электрофоретических и иммунотурбидинамических методов определения белкового состава мочи. Был исследован белковый состав суточной мочи у 50 пациентов после трансплантации почки. Исследования проводились иммунотурбидиметрическим методом с помощью наборов фирмы Aptec Diagnostics nv (Бельгия) и методом автоматизированного электрофореза в агарозном геле с детергентом додецил сульфатом натрия на аппарате Hydrasys Sebia, Франция.

Имунотурбидиметрически определялись концентрации следующих показателей:

- альбумина (диапазон определения 0-400 мг/л, чувствительность 12,5 мг/л), трансферрина (0-20 мг/л чувствительность 0,5 мг/л),
- иммуноглобулинов G (0-300 мг/л чувствительность 4 мг/л),
- α_1 -микроглобулина (0-50 мг/л чувствительность 1 мг/л),
- β_2 -микроглобулина (0-10 мг/л чувствительность 0,15 мг/л),
- каппа и лямбда свободных легких цепей иммуноглобулинов (0-340 и 0-200 мг/л соответственно),
- α_2 -макроглобулина (0-340 мг/л).

Во всех 50 случаях исследования белкового состава мочи как электрофоретическими, так и иммунотурбидиметрическими методами были получены полностью идентичные заключения о патогенезе протеинурии.

Отмечается хорошая корреляция концентраций:

- альбумина (коэффициент корреляции $r = 0.9740$, $p = 0.0000$),
- трансферрина ($r = 0.9225$, $p = 0.00014$),
- иммуноглобулинов G ($r = 0.9481$, $p = 0.00003$).

Заключение

Определение качественного и количественного состава белков суточной мочи позволяет:

- судить о патогенетическом типе протеинурии (преренальная, ренальная и постренальная),
- определять уровень и степень дисфункции/поражения гломерулярного фильтра почек и/или канальцев почек (гломерулярный, тубулярный или смешанный типы протеинурии),
- оценивать состояние почек в динамике,

что важно для выбора оптимального, патогенетически обоснованного лечения.

Следует отметить более высокую чувствительность иммунотурбидиметрических методов определения специфических белков.

Таким образом, данные методики отличают:

- простота и скорость выполнения анализа,
- высокая чувствительность,
- отсутствие необходимости в специальном оборудовании (используются полуавтоматические и автоматические биохимические анализаторы),
- отсутствие необходимости накопления проб.

- отсутствие необходимости в специальном оборудовании (используются полуавтоматические и автоматические биохимические анализаторы),

В целом, исследования белкового состава мочи существенно расширяют возможности неинвазивных лабораторных методов в диагностике и мониторинге заболеваний почек.

Журнал для врачей «Лаборатория» , 2006, N 1, стр.7-9.