

ЭЛЕКТРОФОРЕЗ
традиции и новации

Грашин Роман Арикович

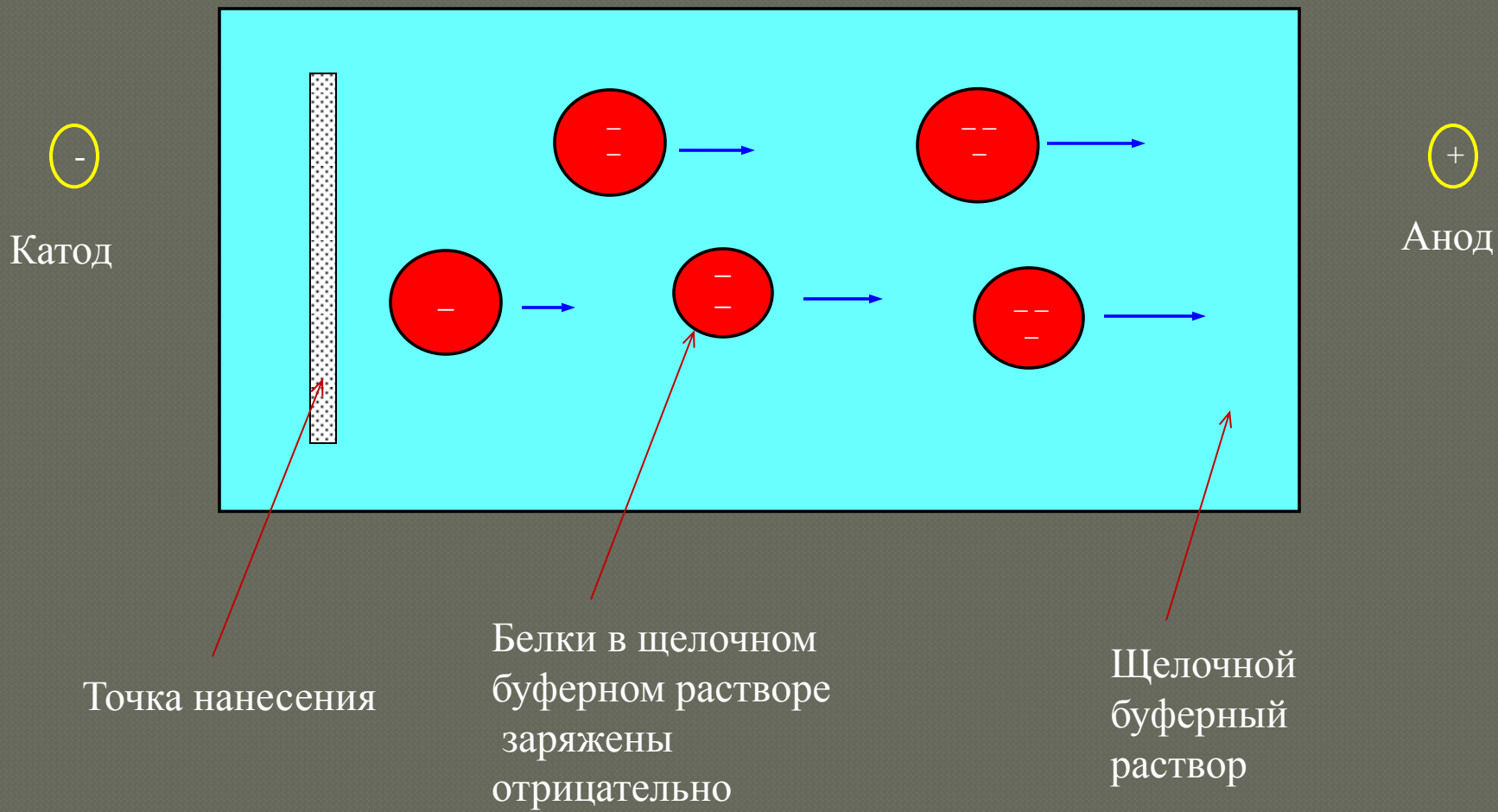
Типы электрофоретических систем

1. Электрофорез с подвижной границей (фронтальный) – свободное перемещение заряженных частиц в буферном растворе. Различимы границы фронта движущегося белка.
2. Зональный. Разделение смесей на фракции и отдельные зоны.
3. Стационарный (вытесняющий). Устанавливается состояние равновесия и ширина зон в дальнейшем не изменяется

Основной принцип зонального электрофореза на носителе

- Электрофорез применяется для разделения и анализа заряженных молекул.
- В биохимии электрофорез применяется, в первую очередь, для разделения белков и реже – нуклеиновых кислот.
- Под действием электрического поля белки разделяются согласно их заряду, мигрируя к аноду (+) или катоду (-).

ПРИНЦИП ЭЛЕКТРОФОРЕЗА БЕЛКОВ



Зональный – преимущества и недостатки

Проводится как в свободном растворе так и в поддерживающей среде – носителе

На электрофоретическую подвижность влияют:

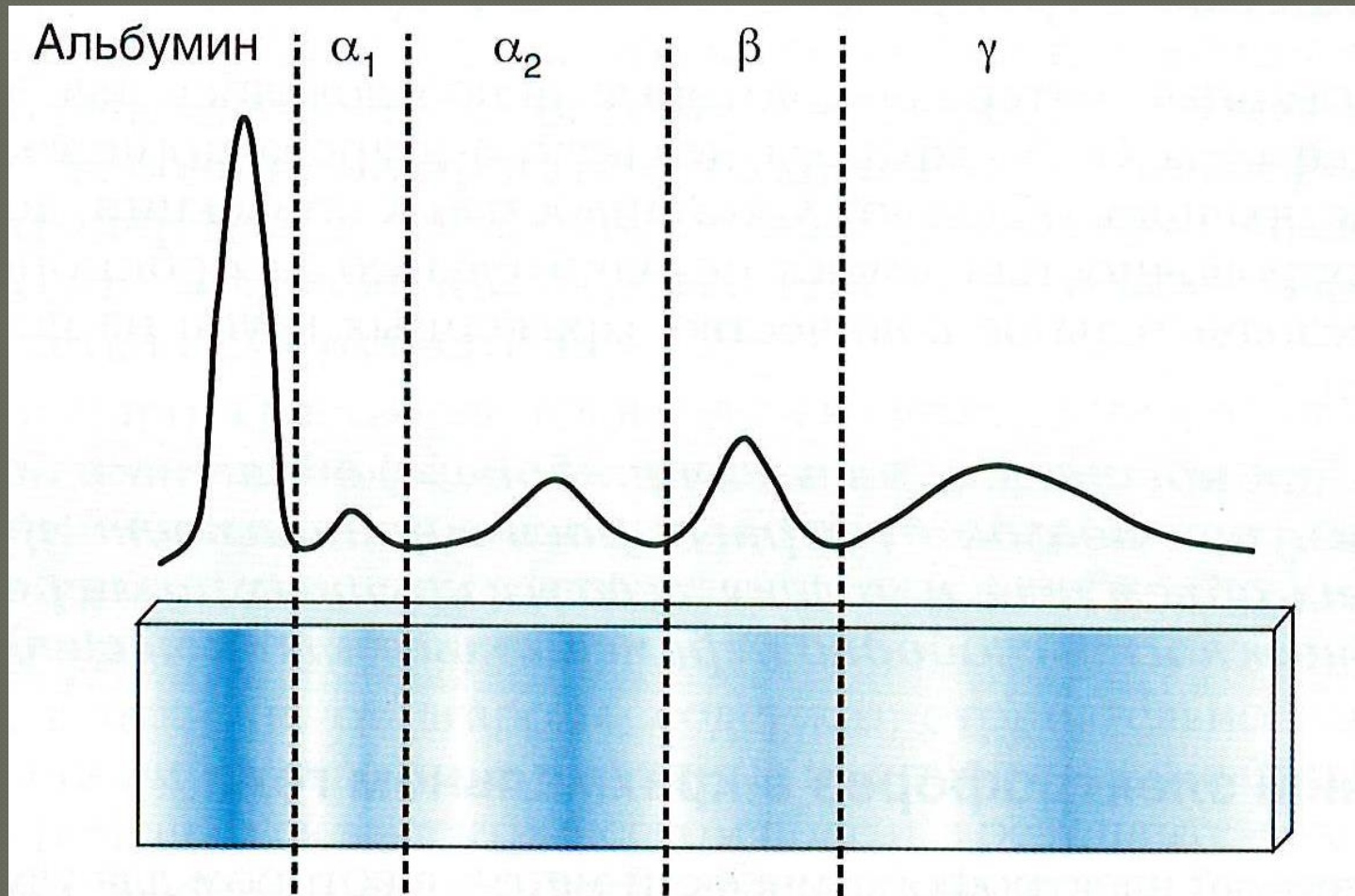
- Адсорбция молекул исследуемого вещества на поверхности раздела фаз;
- Электроэндоосмос;
- Испарение электролита – изменение pH и ионной силы раствора;
- Торможение движения макромолекул в пористых и волокнистых материалах.

- Использование недорогих и простых приборов;
- Высокое разрешение;
- Одновременный анализ нескольких образцов;
- Простота визуализации фракций и зон;
- Возможность выявления широкого спектра веществ.

Эволюция носителей для электрофореза

- **Жидкая среда по Тизелиусу** (*Очень долгая методика*)
- **Бумага** (*Долгая методика, адсорбция белков на бумаге, бумага неоднородна, высокая степень эндоосмоса и испарения электролита*)
- **Ацетатцеллюлозная мембрана** (*нейтральный носитель, имеет однородную микропористую структуру – поры несколько микрон; не содержит ионогенных групп, обладает низкой сорбционной способностью для белков, пригодна для иммунодиффузии-иммуноэлектрофорез*)
 - - высокая чувствительность;
 - -высокая разрешающая способность;
 - -небольшие затраты труда и времени;
 - - возможность использования в виде микрометода.
- *требует пропитывания буферным раствором и раствором, обеспечивающим прозрачность. Для разделения белков сыворотки и гемоглобинов)*

Фракции белков сыворотки крови при электрофорезе на ацетатцеллюлозе



Гели крахмала. Сложность приготовления, нестабильность состава, недостаточная скорость диффузии, крупные и ассиметричные молекулы не проникают в крахмальный гель.

Гели агара и агарозы (Готовый к использованию-идеальная среда, прозрачный носитель; многофункционален – белки сыворотки, гемоглобины, липиды, изоферменты... в зависимости от концентрации геля – 1-2%)

Полиакриламидный гель (ПААГ). Разделение молекул осуществляется в большей степени от размеров и м.м, а не от заряда.

Варианты разделения в ПААГ:

- однородная буферная система
- неоднородная (прерывистая) буферная система – диск электрофорез
- С градиентом пористости
- Изоэлектрическое фокусирование
- Изотахорофорез
- Двумерный электрофорез

Преимущества – гели прозрачны, после окрашивания возможна точная количественная оценка.

Capillary: преимущества

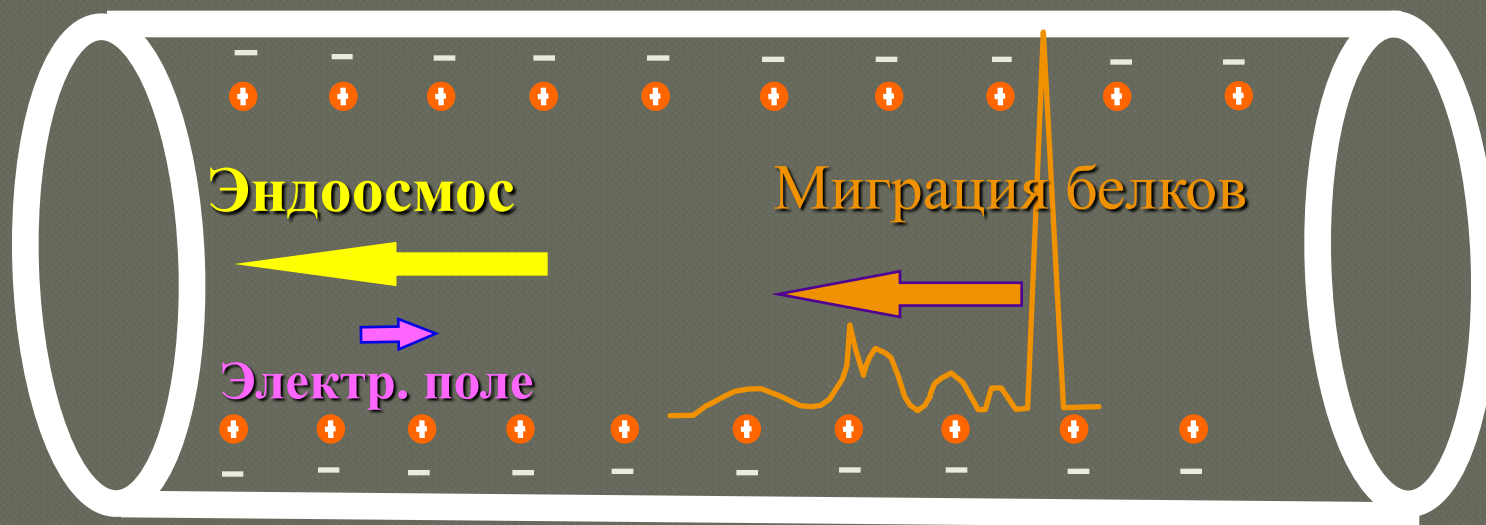
- Полная автоматизация, очень быстрая методика (благодаря применению очень высокого напряжения)
- Отсутствие носителя, свободная миграция в жидкой среде
- Очень высокая разрешающая способность и воспроизводимость результатов
- Малый объем образца (высокая чувствительность)
- Отсутствие этапа окрашивания, прямое измерение при 200 нм
- Получаемые кривые аналогичны кривым, получаемым с помощью денситометрии

Детекция

Катод -

Инжекция

Анод +



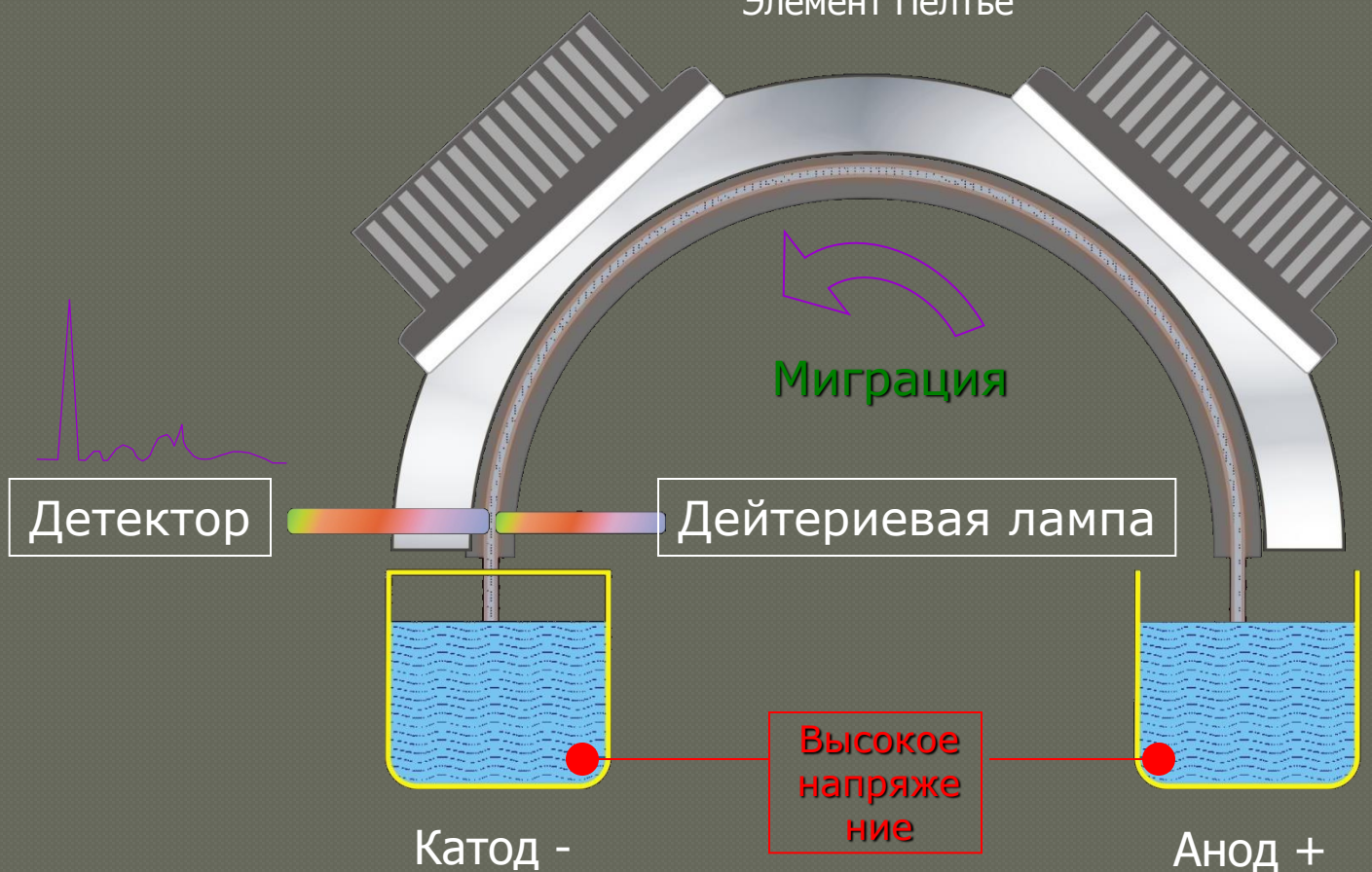
+ Положительные заряды ионов буферного раствора

- Отрицательные заряды стенок капилляра

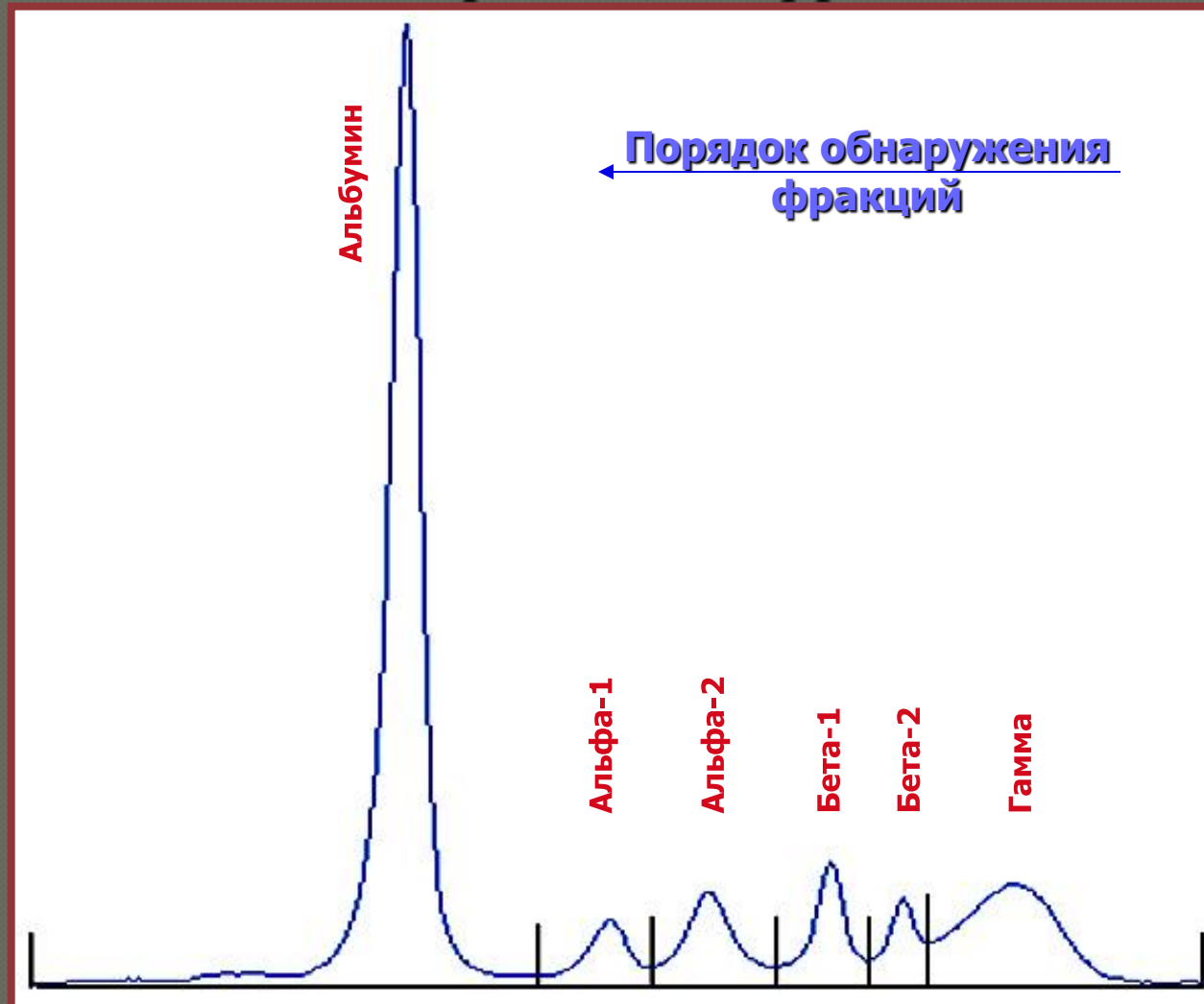
Сильная разница потенциалов создает сильный эндоосмотический поток.

Этот поток сильнее электрического поля – поэтому все белки движутся в сторону катода.

Температурный контроль –
Элемент Пелтье



Идентификация фракций



Альбумин
Альфа-1 кислый гликопротеид
Альфа-1 антитрипсин
Гаптоглобин
Альфа-2 макроглобулин

Бета-1
Бета-2

Гаммаглобулины
Комплемент С3
Трансферрин
Гемопексин

Выявление белков

- Используя различные красители или субстраты, можно выявлять различные группы белков:
 - * Белки сыворотки, мочи
 - * Липопротейны
 - * Изоферменты
 - * Гемоглобины

Последующие обязательные этапы электрофореза

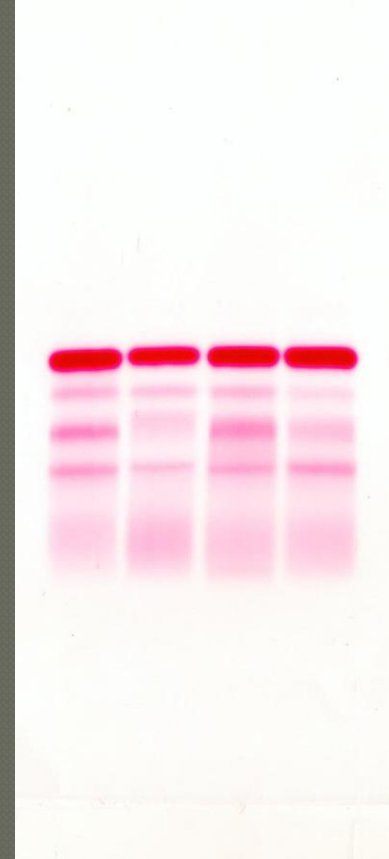
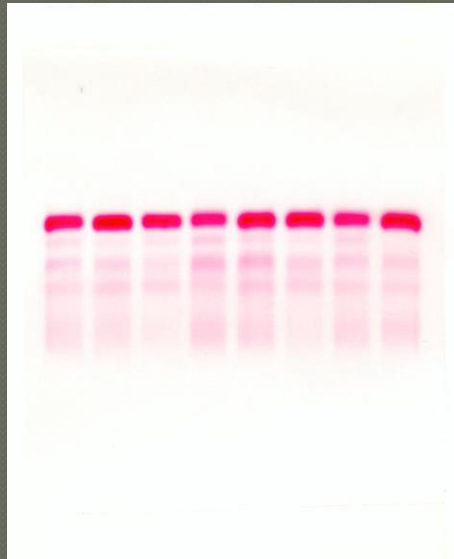
- Фиксация и удаление амфолитов из геля.
- Высушивание – ацетатцеллюлозных плёнок
- Окрашивание
- Количественный анализ окрашенных компонентов

Красители для белков сыворотки

(чаще кислые – связываются с основными группами белков)

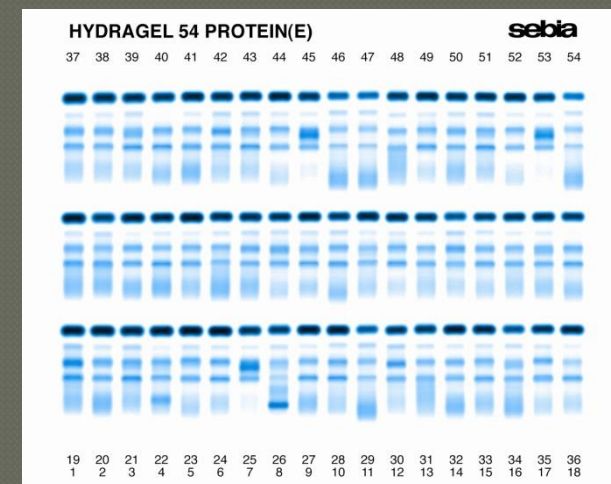
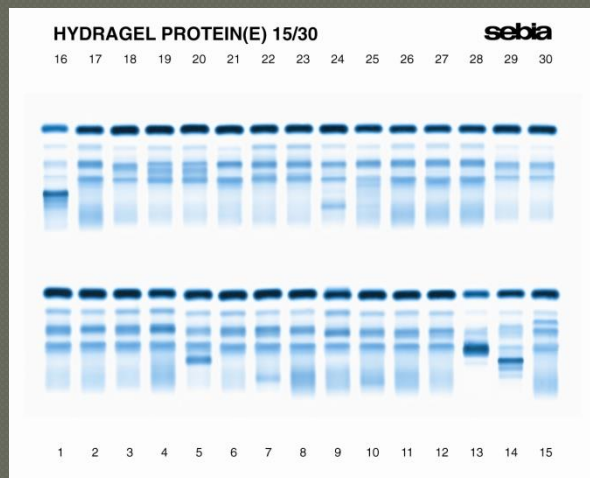
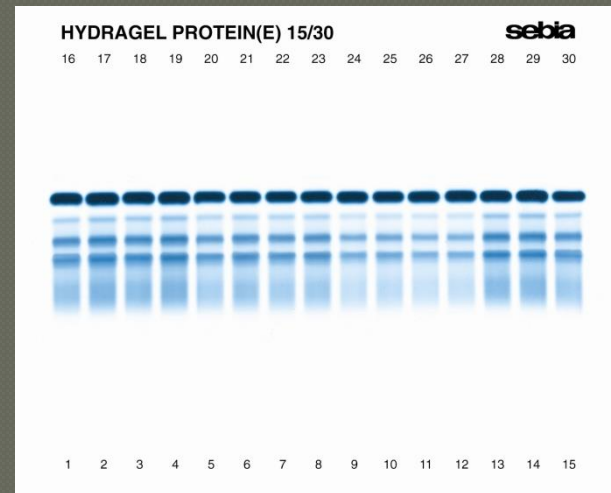
- Понсо красный (в 3% тху): *ацетатцеллюлозные пленки*
- Амидовый черный 10 В: (в 7% уксусной кислоте)- бумага, гель.
- Бромфеноловый синий (в смеси уксусной к-ты, этанола и воды)
- Кумасси голубой R-250 или G-250 (бумага, гель, целлюлоза)
- Фиолетовый кислый: *Преимущественно для качественного анализа*
- Судан чёрный, красный (липиды и липопротеины)
- Для выявления белков сыворотки, разделенных на 5 или 6 фракций.
- После окрашивания, на геле выявляются полосы белков, интенсивность которых отражает концентрацию этих белков в смеси.
- Для определения интенсивности: применяется денситометр.

Ацетатцеллюлоза

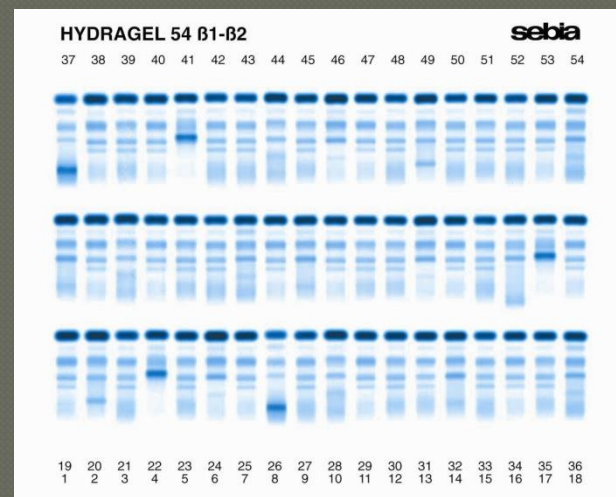
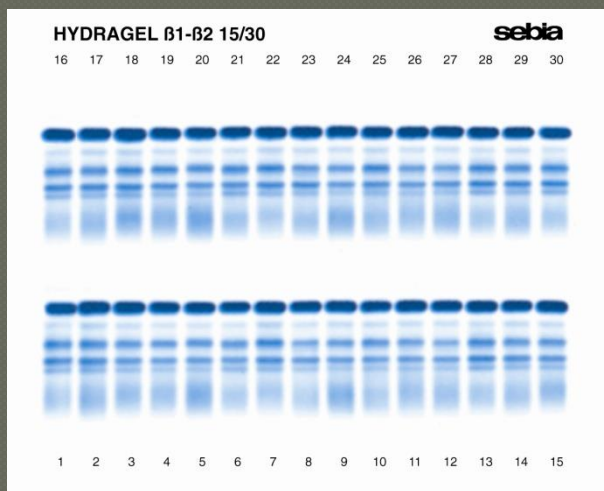
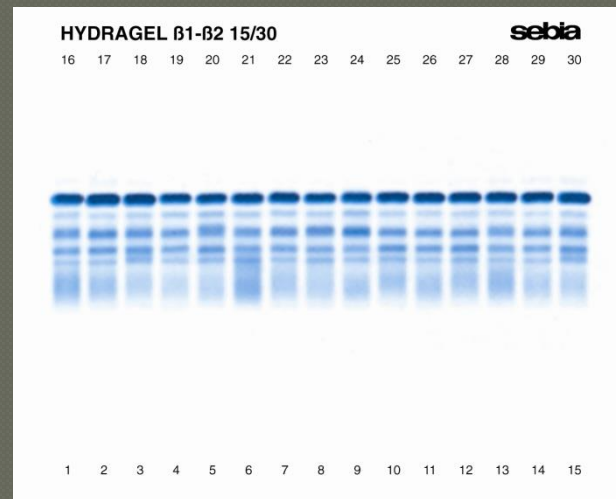
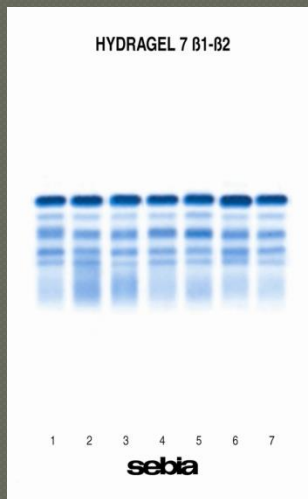


Позднее была заменена гелями агарозы

Белки сыворотки



Белки сыворотки



Параметры, влияющие на разделение:

- На разделение влияет целый ряд параметров:
 - * Концентрация агарозного геля
 - * Природа буферного раствора
 - * Температура
 - * Применяемое напряжение
 - * Способ нанесения образца

Значение электрофореза

- ◎ Обнаружение аномалий белкового профиля:
 - Количественные аномалии: увеличение или уменьшение отдельных фракций
 - Качественные аномалии: наличие аномальных фракций

cas pathologiques

	Albumine	Alpha 1	Alpha 2	Bêta	Gamma
Воспалительный профиль					
острый	N ou ↘	↗	N ou ↗	N N ou ↘	N ↗
хронический	N ou ↘	↗	N ou ↗	N N ou ↘	N ↗
Инфекции, опухоли, аллергии					
цирроз	↘	N ou ↘	N ou ↘	soudure N ou ↗	
гипопротеинемии					
- Profil exsudatif - Malnutrition	↘	N ou ↗	N ou ↗ N ou ↗	N ou ↘ N ou ↘	N ou ↘ N ou ↘
Нефротический синдром	↘	N ou ↘	↗	N ou ↗	↘
гипергаммаглобулинемии	↘	N	N	N	↗
DYSGLOBULINEMIES MONOCLONALES	↘	N	Présence d'un pic (en zone α2, β ou γ avec les immunoglobulines polyclonales normales ou diminuées)		

N = Normal

↗ ou ↘ = Augmentation ou diminution relative

Клиническое значение

- Электрофоретический анализ позволяет подтвердить диагноз или подсказать алгоритм дальнейших исследований:
 - синдром воспаления
 - нефротический синдром, ...
- В случае обнаружения аномальных полос – подозрение на:
 - миеломную болезнь
 - болезнь Вальденстрема (рак лимфатической системы)
 - вирусные и микробные инфекции, ...

В этом случае, для определения характера аномалии необходимо выполнение дополнительных тестов (ИФ или ИТ), с применением антисывороток (важно для выбора стратегии лечения).

Когда необходимо назначать электрофорез ?

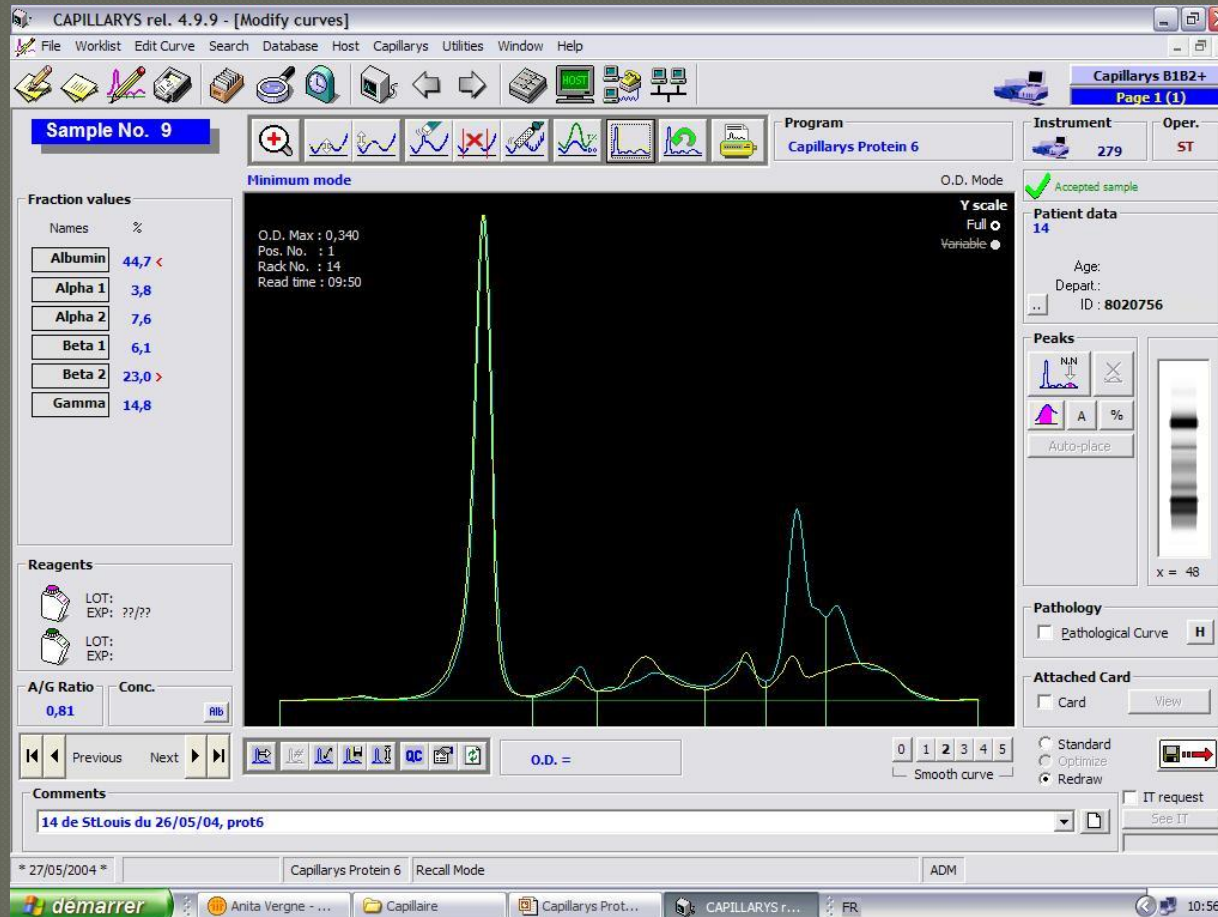
○ При наличии следующих признаков:

- сильное увеличение СОЭ,
- гиперкальциемия,
- гипер- или гипопротеинемия
- изолированная анемия.

◎ При наличии подозрения на:

- миелому
(костные боли, декальцинация...),
- макроглобулинемию Вальденстрема
(повышение вязкости сыворотки, геморрагический синдром...),
- иммунодефицит
(рецидивирующие инфекции, кожные поражения).
- **Общие признаки** : потеря веса, температура, астенический синдром....

Мониторинг состояния пациента Путем наложения кривых

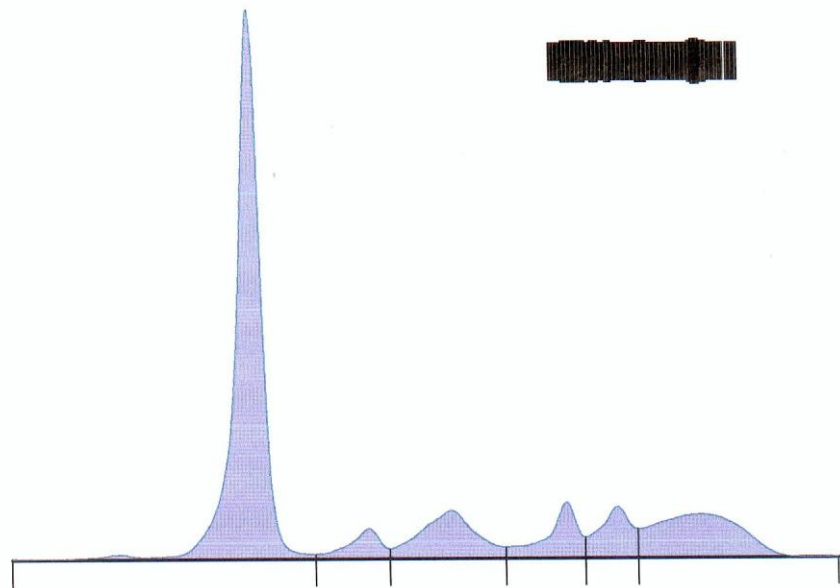


Величина аномального пика должна определяться регулярно – раз в 4 месяца, затем – раз в год ⇒ В 20% случаев – злокачественная трансформация (6 - 10 ans)

Система капиллярного электрофореза - Capillarys



Нормальный профиль



Electrophorèse des protéines sériques

Nom	%	Normales %	g/L	Normales g/L
Albumine	56,3	55,8 - 66,1	37,2	40,2 - 47,6
Alpha 1	4,0	2,9 - 4,9	2,6	2,1 - 3,5
Alpha 2	10,9	7,1 - 11,8	7,2	5,1 - 8,5
Beta 1	7,0	4,7 - 7,2	4,6	3,4 - 5,2
Beta 2	6,5	3,2 - 6,5	4,3	2,3 - 4,7
Gamma	15,3	11,1 - 18,8	10,1	8,0 - 13,5

A/G **1,29**

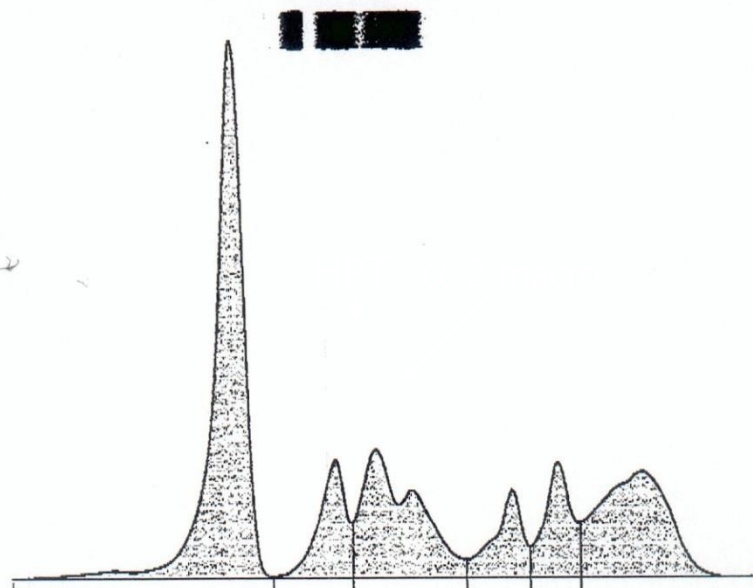
P. T. : **66** g/dl

ПРИМЕРЫ

Воспалительный синдром

Electrophorèse capillaire des protéines sériques

(technique réalisée sur Capillarys SEBIA)



Protéines totales = 73 g/l

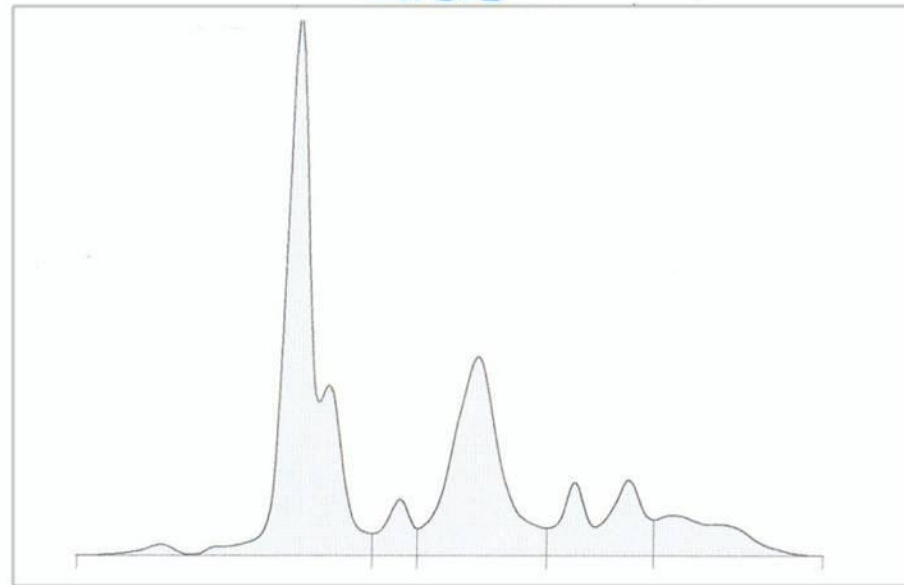
Rapp. A/G = 0,68

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumin	40,6	< 55,1 - 65,7	29,6	40,1 - 47,8
Alpha 1	7,8	> 3,1 - 5,6	5,7	2,2 - 4,1
Alpha 2	18,3	> 8,0 - 12,7	13,4	5,8 - 9,2
Beta 1	6,3	> 4,9 - 7,2	4,6	3,6 - 5,2
Beta 2	8,0	> 3,1 - 6,1	5,8	2,2 - 4,5
Gamma	19,0	> 10,3 - 18,2	13,9	7,5 - 13,2

Нефротический синдром

Electrophorèse capillaire des protéines sériques

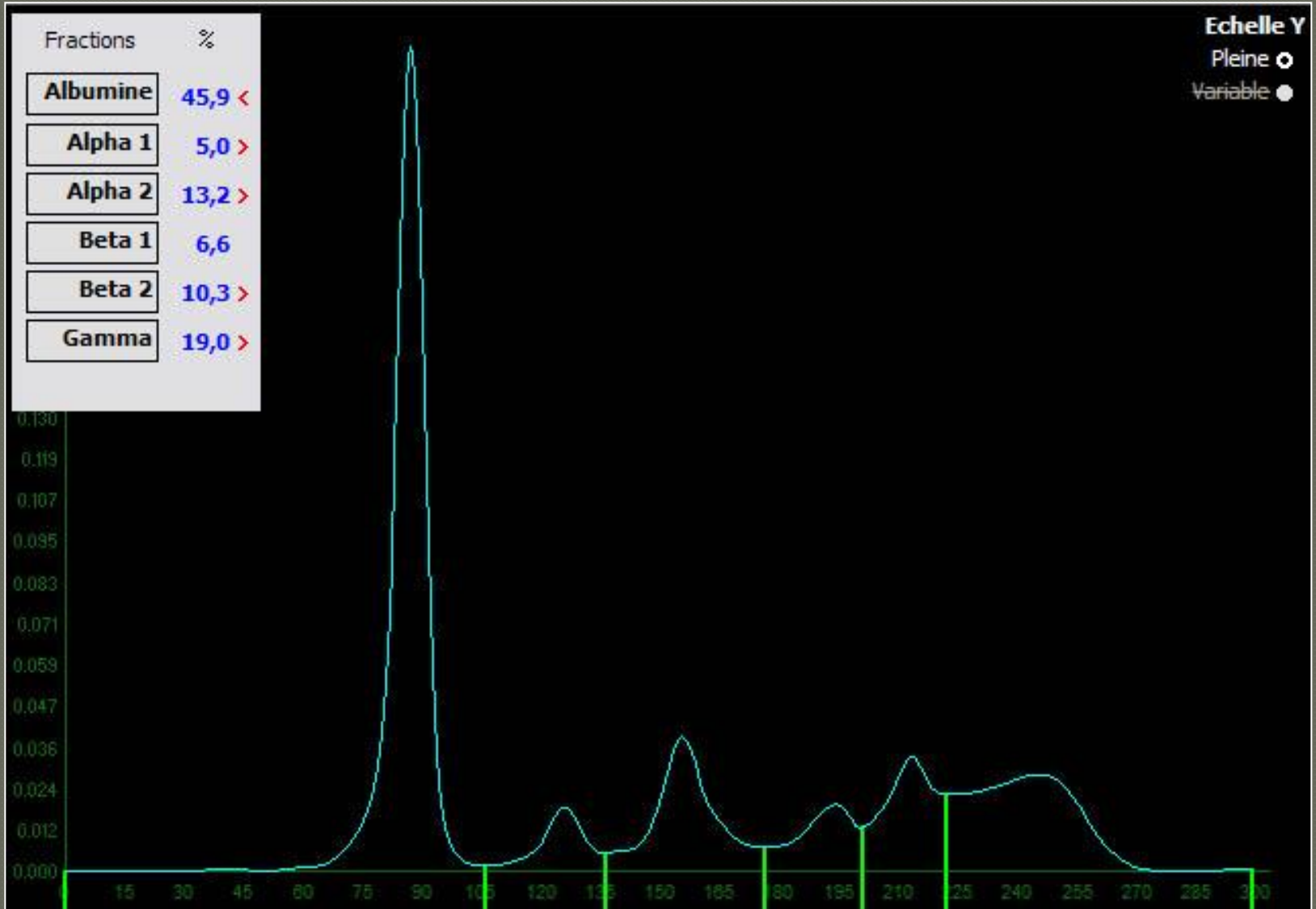
(technique réalisée sur Capillarys SEBIA)



Protéines totales = **37** g/l
Rapp. A/G = **0,93**

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	48,3	< 55,8 - 66,1	17,9	40,2 - 47,6
Alpha 1	4,0	< 2,9 - 4,9	1,5	2,1 - 3,5
Alpha 2	27,1	> 7,1 - 11,8	10,0	5,1 - 8,5
Beta	12,2	< 8,4 - 13,1	4,5	6,0 - 9,4
Gamma	8,4	< 11,1 - 18,8	3,1	8,0 - 13,5

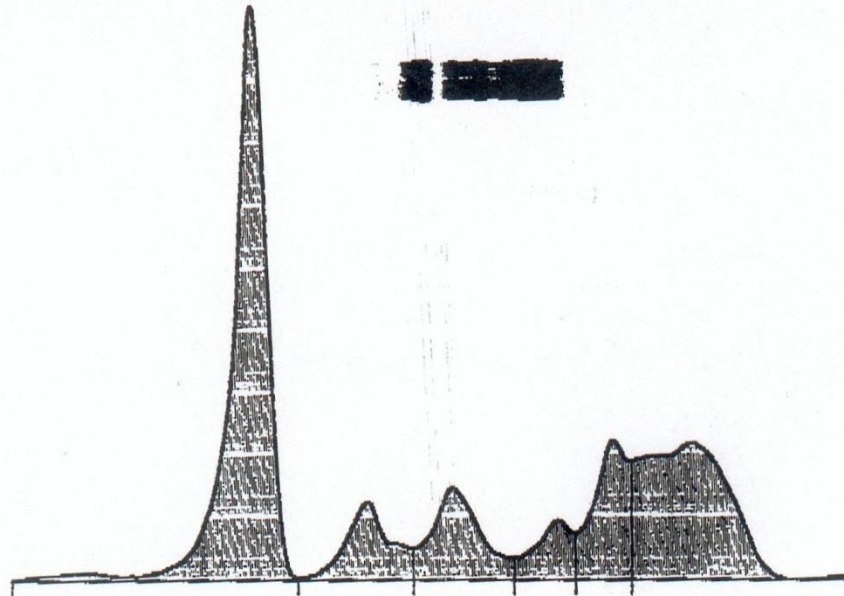
Бета-гамма мост



Бета-гамма мост

Electrophorèse des protéines sériques

Sur Automate CAPILLARYS

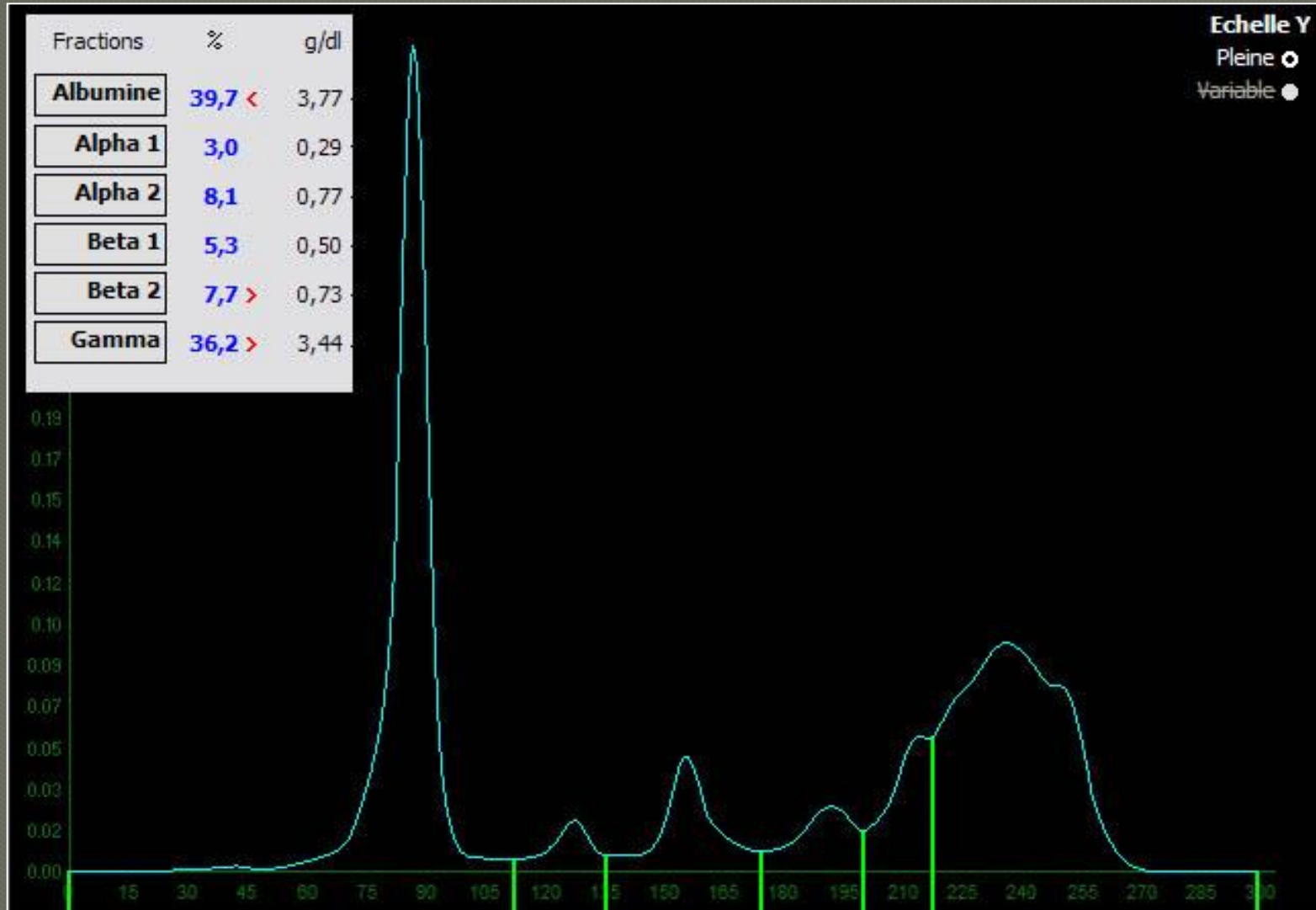


Rapp. A/G : **0,73**

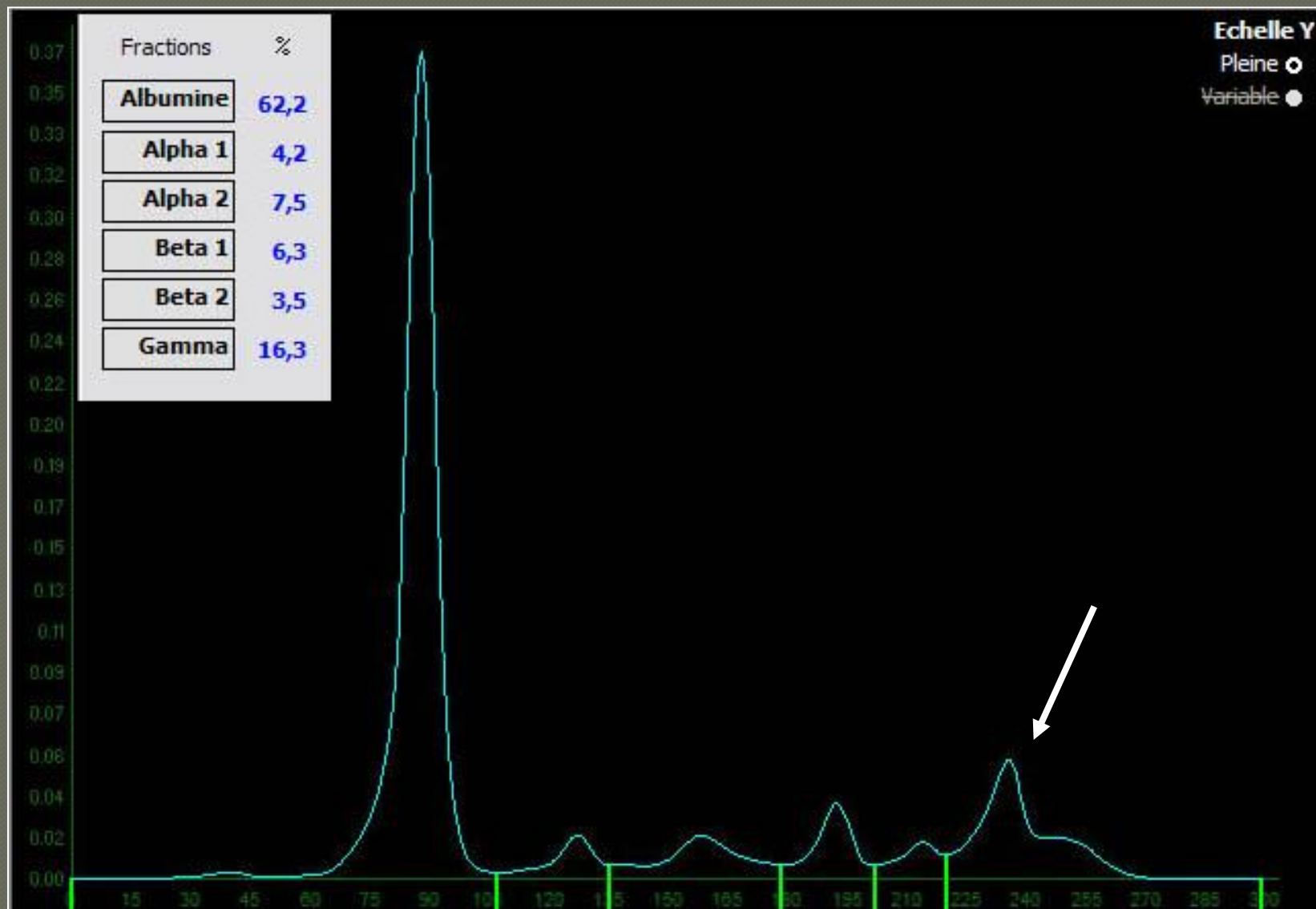
Protides totaux: **58** g/l

Nom	%	Normales %	g/l	Normales g/l
Albumine	42,3	< 55,1 - 65,7	24,5	40,1 - 47,8
Alpha 1	5,6	3,1 - 5,6	3,2	2,2 - 4,1
Alpha 2	11,7	8,0 - 12,7	6,8	5,8 - 9,2
Beta 1	4,7	< 4,9 - 7,2	2,7	3,6 - 5,2
Beta 2	10,4	> 3,1 - 6,1	6,0	2,2 - 4,5
Gamma	25,3	> 10,3 - 18,2	14,7	7,5 - 13,2

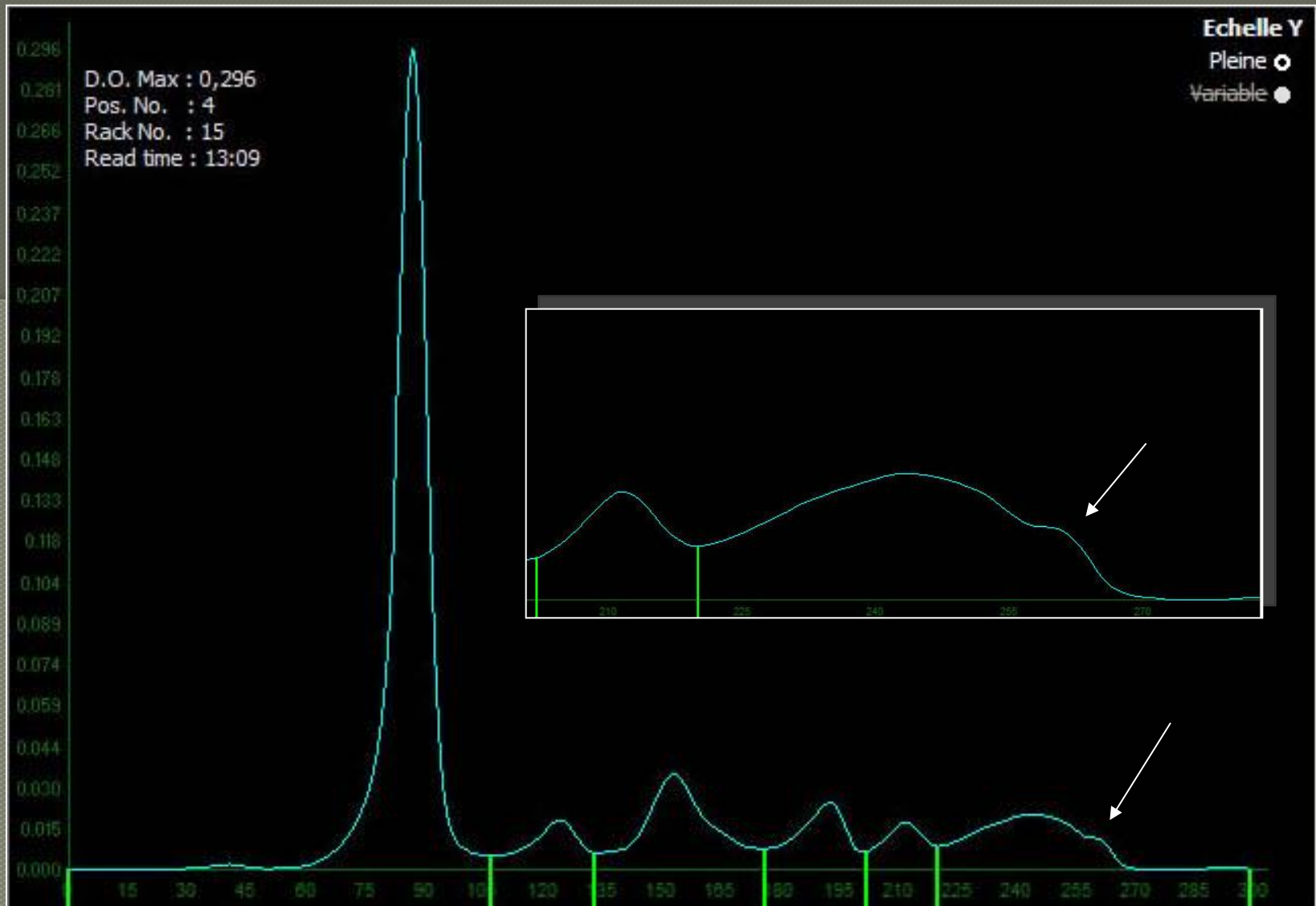
Гипергаммаглобулинемия и олигоклональный профиль



М-градиент в гамма-зоне



M-градиент в гамма-зоне



Echelle Y

Pleine ○

Variable ●

Fractions %

Albumine 62,2

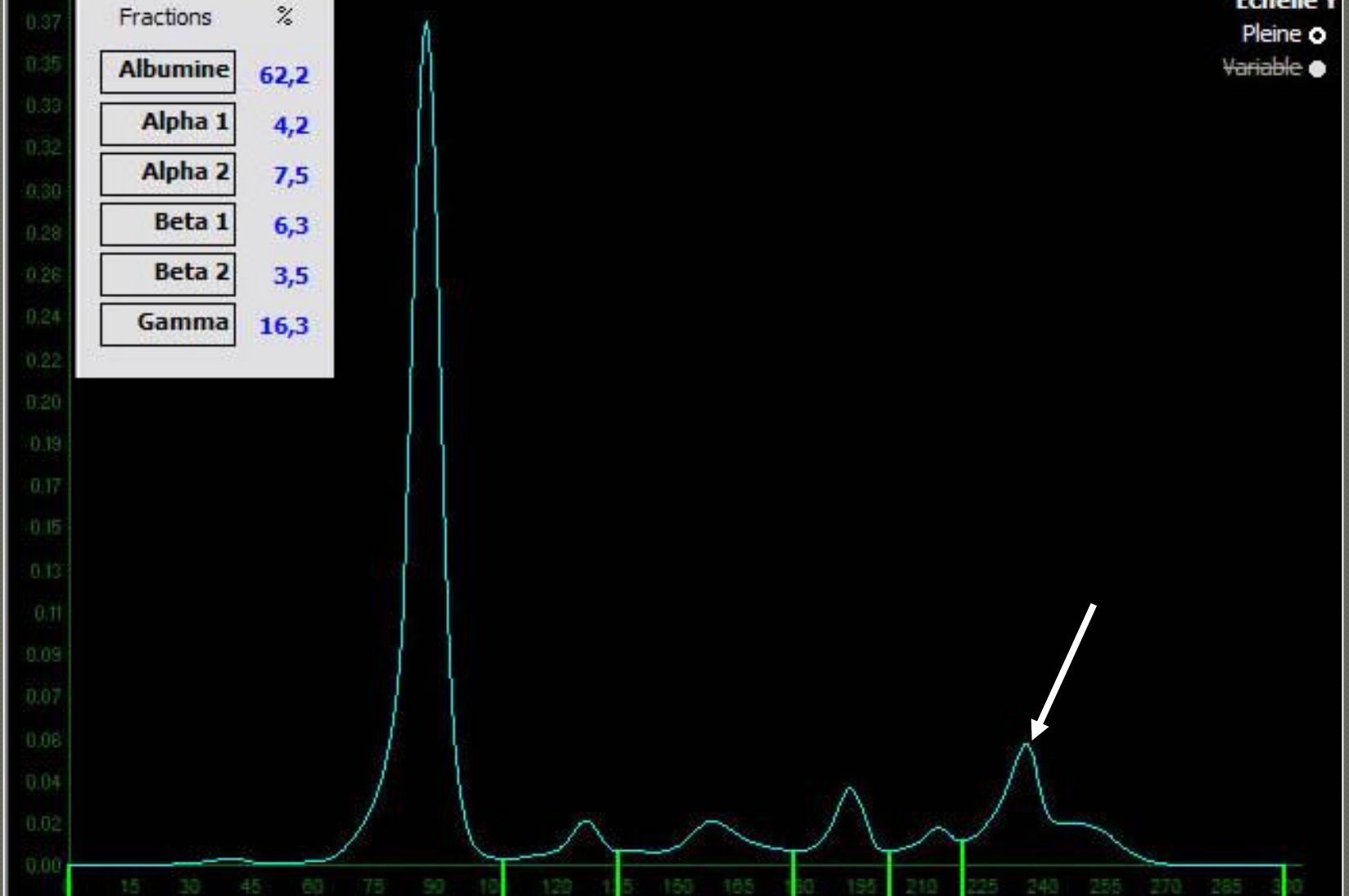
Alpha 1 4,2

Alpha 2 7,5

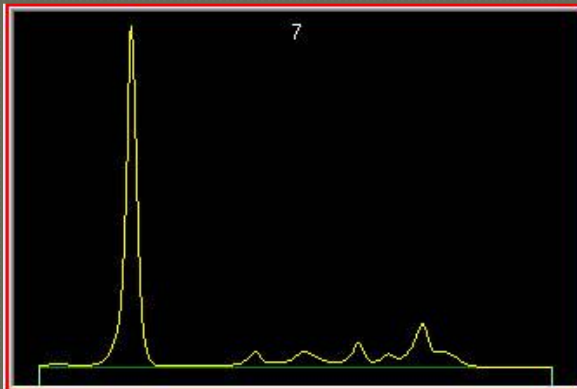
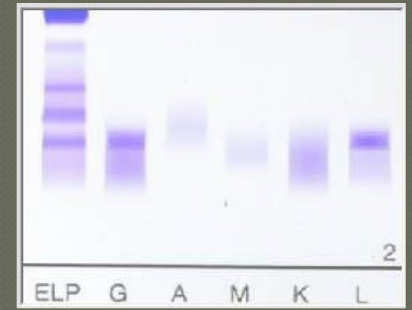
Beta 1 6,3

Beta 2 3,5

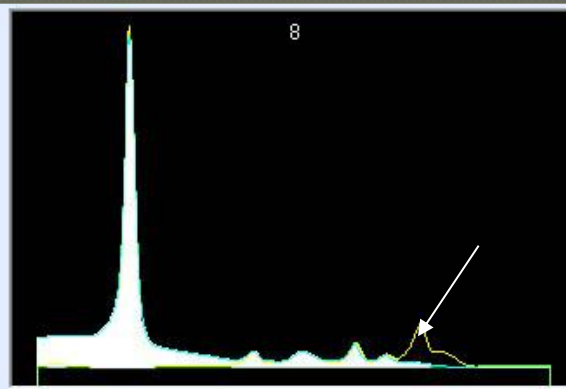
Gamma 16,3



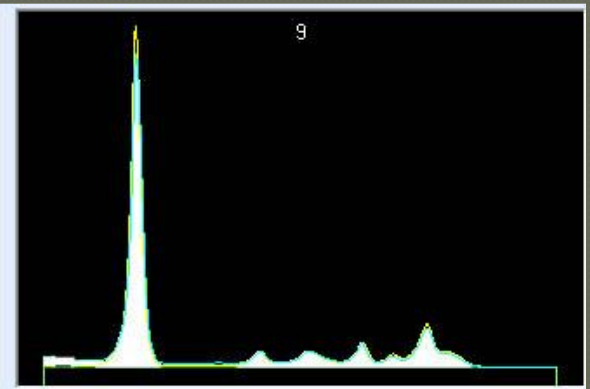
IgG лямбда



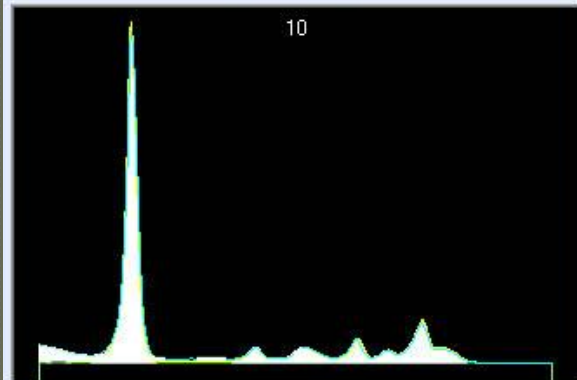
ELP



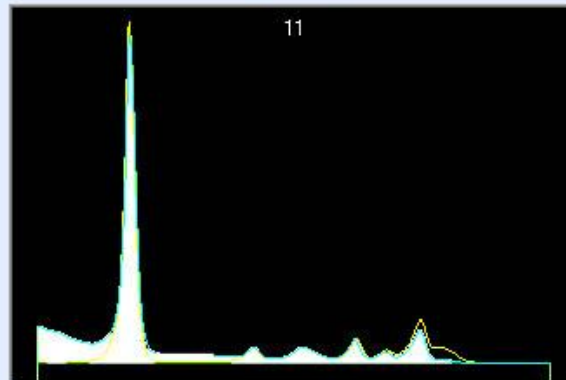
IgG



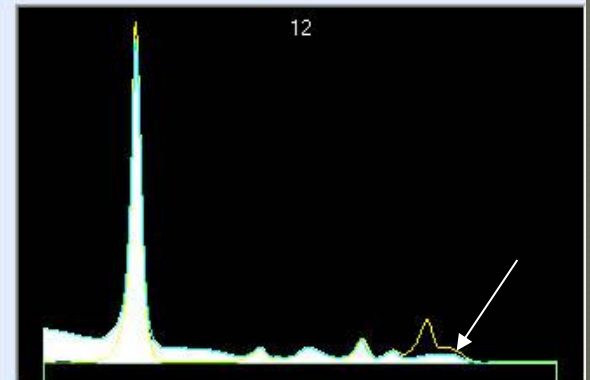
IgA



IgM



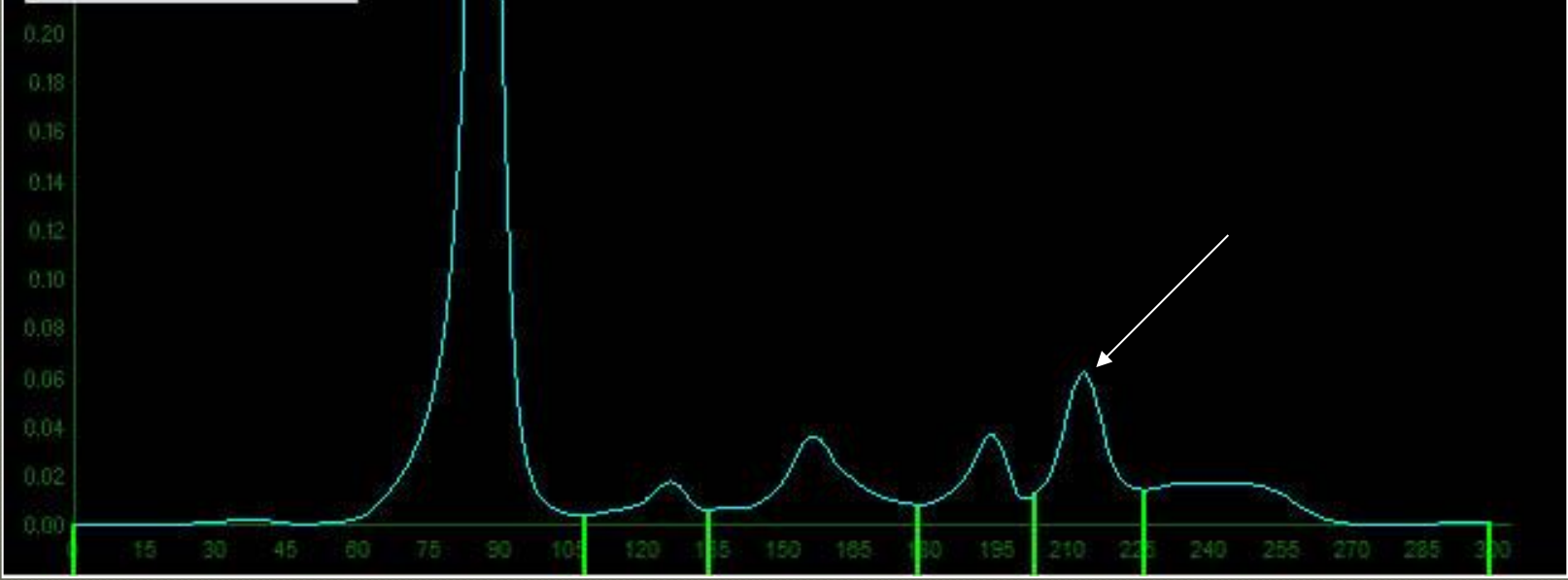
K



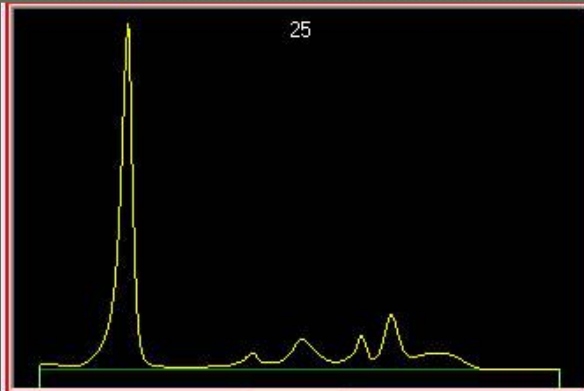
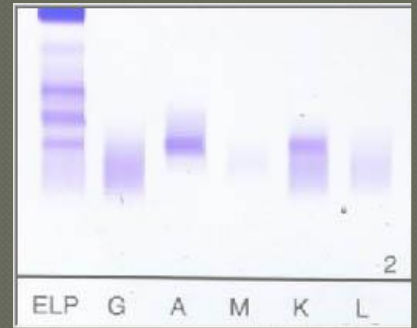
L

Fractions	%
Albumine	60,6
Alpha 1	3,5
Alpha 2	10,2
Beta 1	6,8
Beta 2	10,9 >
Gamma	8,0 <

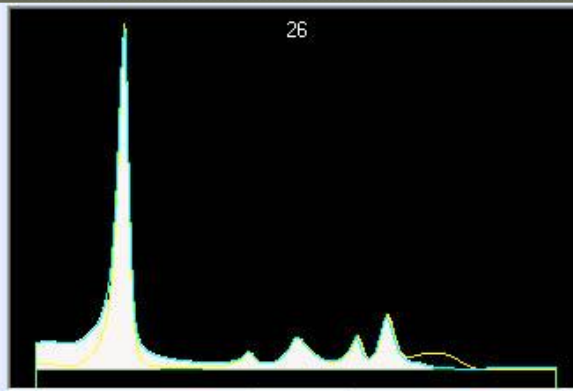
Echelle Y
 Pleine ○
 Variable ●



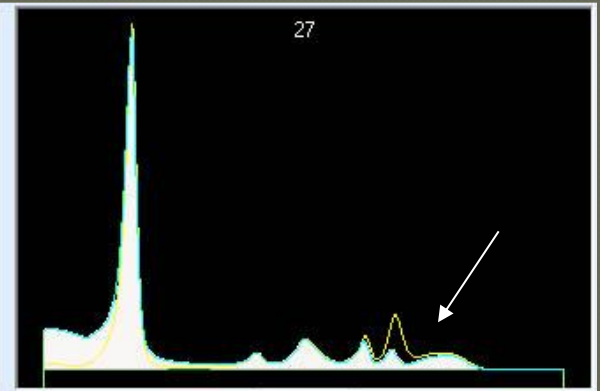
IgA каппа



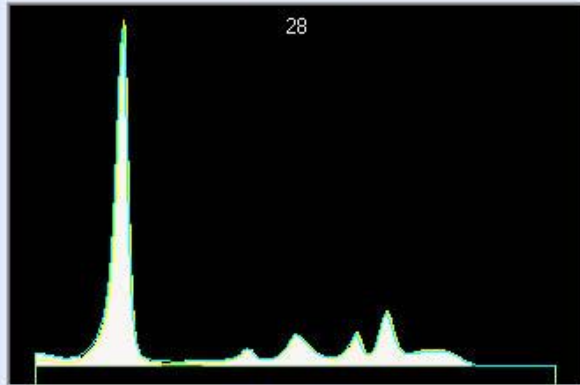
ELP



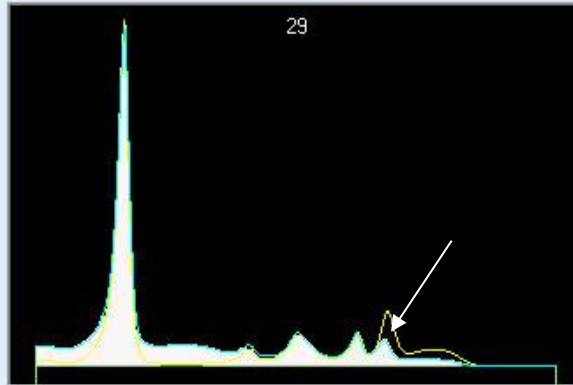
IgG



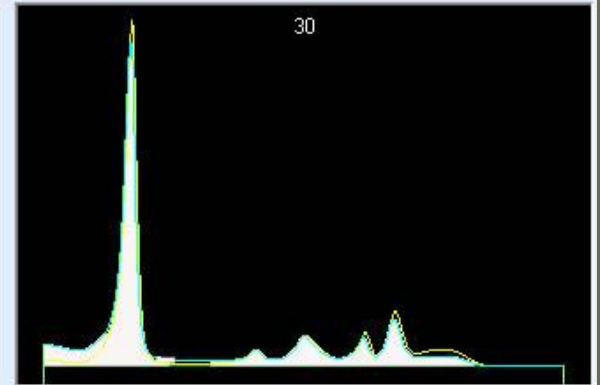
IgA



IgM

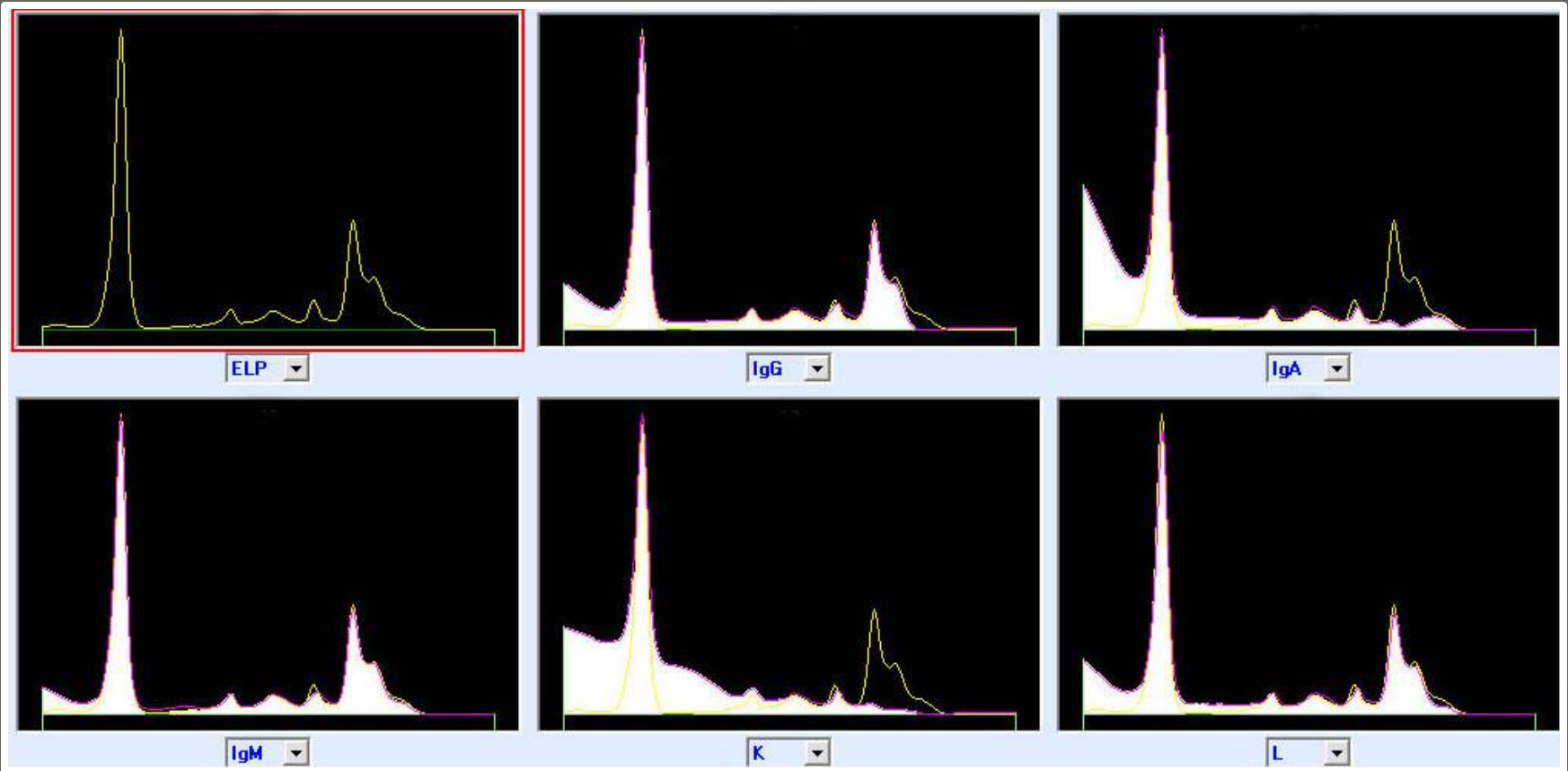


K

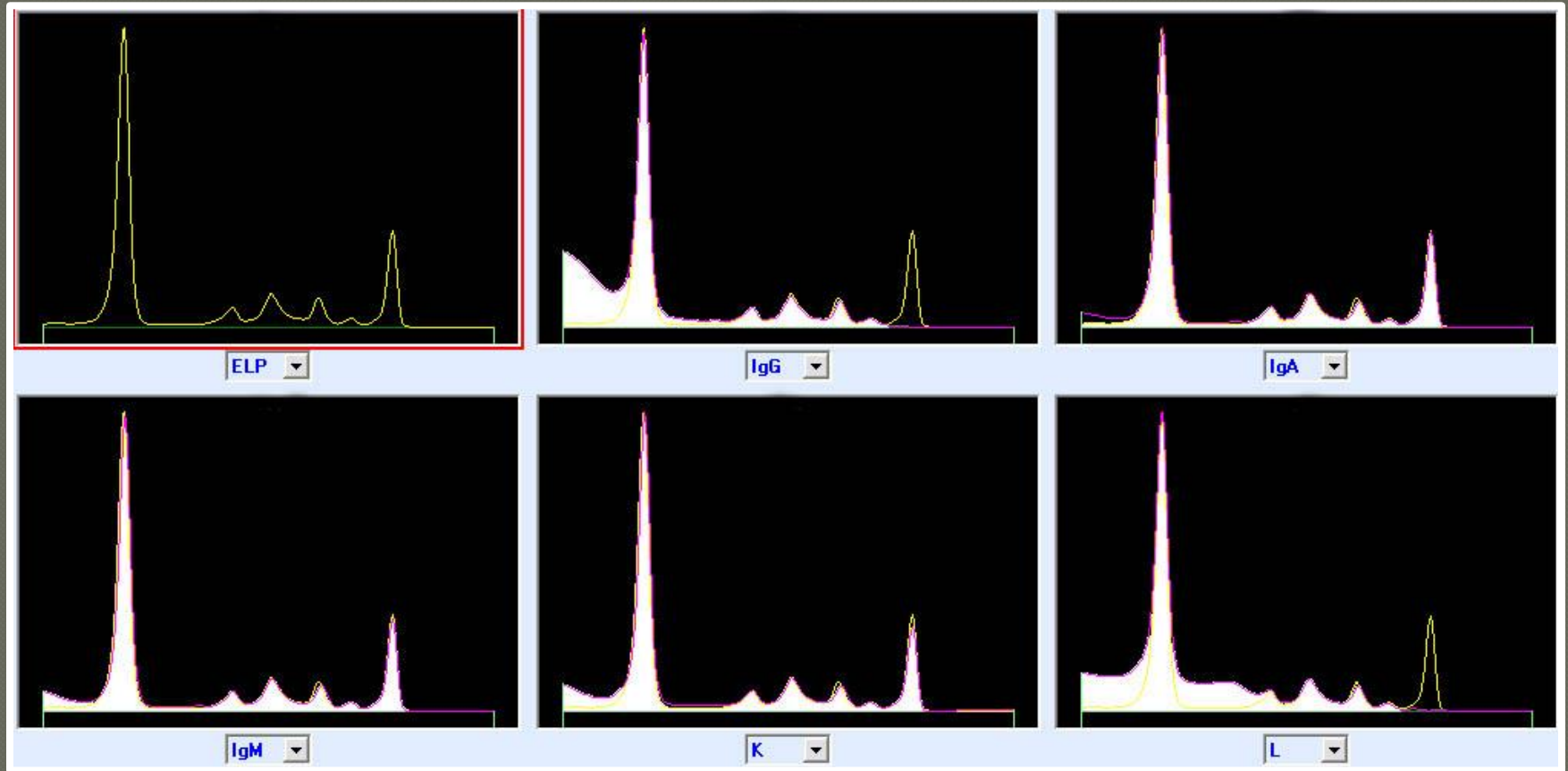


L

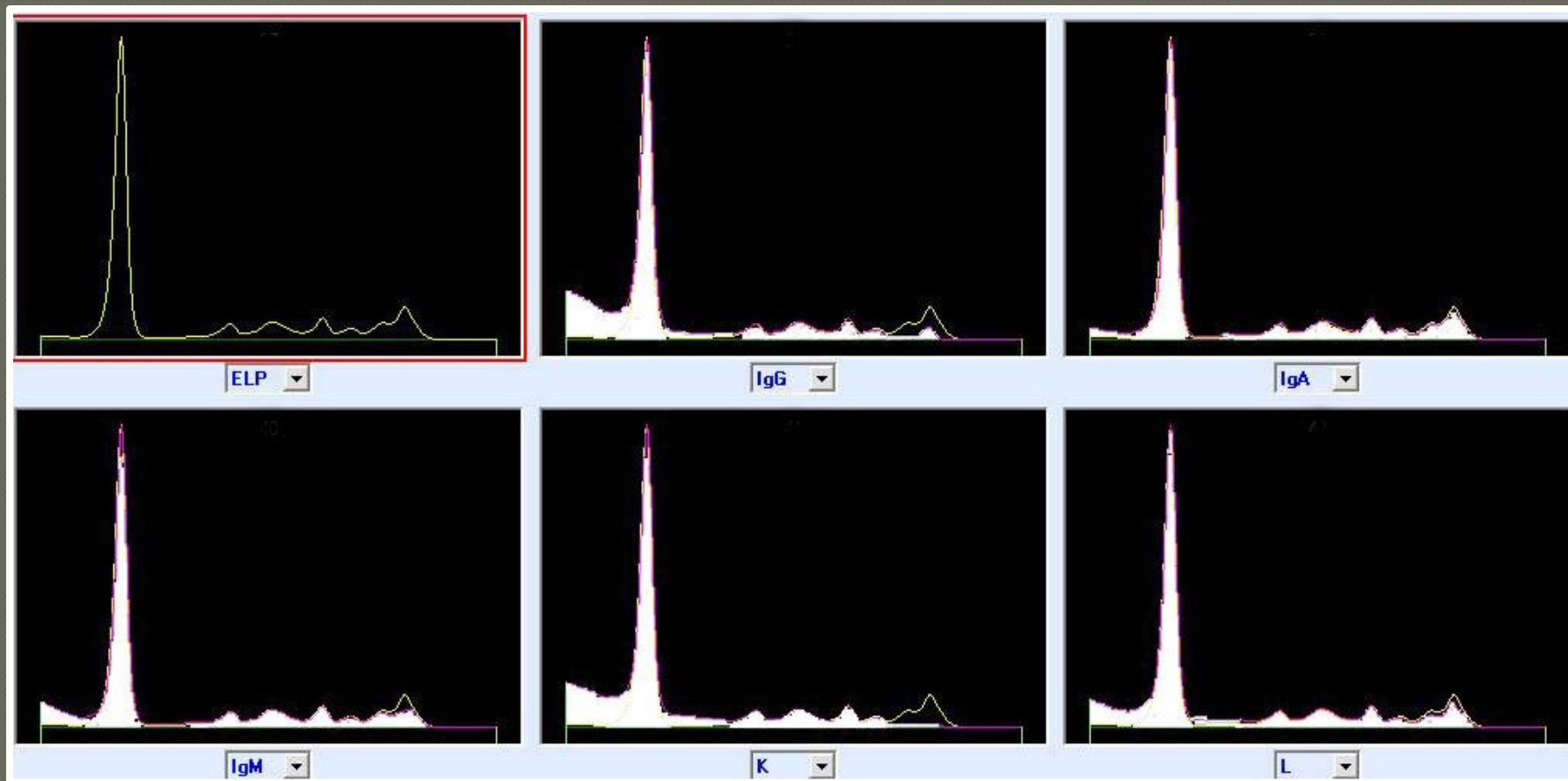
2 IgA каппа



IgG лямбда



IgG каппа и IgM лямбда



Другие методики капиллярного электрофореза

❖ CDT - Карбогидрат-дефицитный трансферрин (Carbohydrate Deficient Transferrin) - новый маркер для обнаружения и мониторинга злоупотребления алкоголем

Постоянное злоупотребление алкоголем вызывает изменение соотношения различных изоформ трансферрина :

- Содержание мало сиалированных изоформ (асиало- и дисиало-трансферрина) увеличивается при регулярном потреблении алкоголя в количестве, превышающем 50 – 80 г в день.
- Эти изоформы отражают регулярное потребление алкоголя в течение 1-2 недель перед проведением исследования (время полужизни маркера: около 17 дней).

Интерпретация

Результаты представляют в % соотношении от общей концентрации трансферрина, а не в абсолютном значении (учитываются физиопатологические вариации в концентрации трансферрина)

Содержание CDT в сыворотке снижается при снижении уровня потребления алкоголя пациентом

Определение уровня CDT – полезный тест для оценки абстиненции и наличия рецидивов у пациента

ГЕМОГЛОБИН

Электрофорез позволяет:

- ✓ разделять формы гемоглобина согласно их заряду с разрешением, сходным с разрешением методики изофокусирования,
- ✓ обнаруживать основные аномалии **Hb**:
 - обнаружение вариантов,
 - обнаружение бета- и альфа-талассемии.

Фракции гемоглобинов

Основная фракция гемоглобинов – гемоглобин А - 95%;

5% приходится на малые фракции - 3,5% составляет гемоглобин А₂

1,0 – 1,5% - гемоглобин F.

У новорожденных гемоглобин F составляет 20%, а к 4-5 мес. достигает величин взрослого человека.

Повышение гемоглобина F является важным критерием для диагностики β-талассемии, при которой одновременно повышается и содержание гемоглобина А₂. Особенно высокие цифры гемоглобина F могут быть при гомозиготной β-талассемии до 20-90%.

При гетерозиготной β-талассемии содержание гемоглобина F может быть нормальным или умеренно повышенным (2,5-7%). Однако надо иметь в виду, что повышение гемоглобина F не является специфичным для β-талассемии. Оно встречается при разных формах анемии: гемолитических, железодефицитной, гипопластической, лейкозах и др., сопровождающихся гипоксией. Возможно, что повышение гемоглобина F при этих заболеваниях развивается компенсаторно.

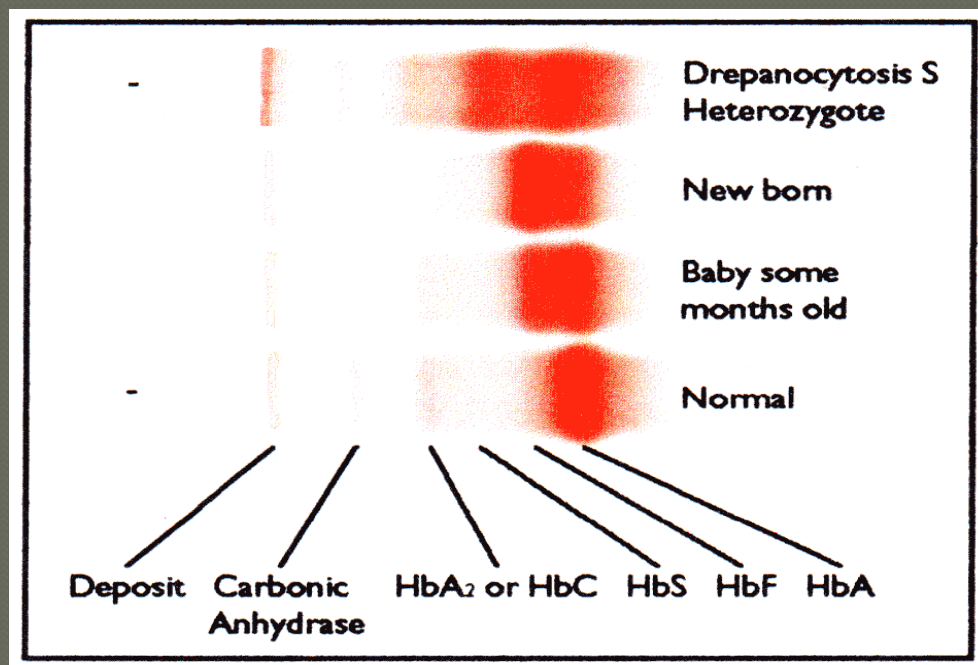
Гемоглобин А₂ отличается от гемоглобина А более медленной миграцией при электрофорезе, что является основой методов его определения. Химическая структура полипептидных цепей глобина у гемоглобина А₂ характеризуется наличием двух цепей α и двух цепей δ (α₂δ₂). Исследование гемоглобина А₂ наиболее информативно при исследовании методом электрофореза на ацетате целлюлозы.

Повышение содержания гемоглобина А₂ характерно для β-талассемии; при гетерозиготной форме болезни содержание А₂ составляет 4,2 – 8,9%.

К настоящему времени известно более 200 форм патологических гемоглобинов, отличающихся от нормальных структурой полипептидной цепи глобина, когда одна или несколько аминокислот заменены другими, или отсутствуют.

Наиболее частой наследственной патологией является гемоглинопатия S (серповидно-клеточная анемия).

Характерное распределение фракций гемоглобинов



– (катод)

+(анод)

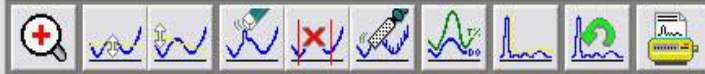
1- осадок; 2- карбоангидраза; 3- HbA₂ или HbC; 4- HbS; 5- HbF; 6- HbA.



HEMOGLOBIN(E)

Page 1 (1)

Sample No. 25



Program
HEMOGLOBIN(E)

Instrument
102

Oper.
ST

Minimum mode

O.D. Mode

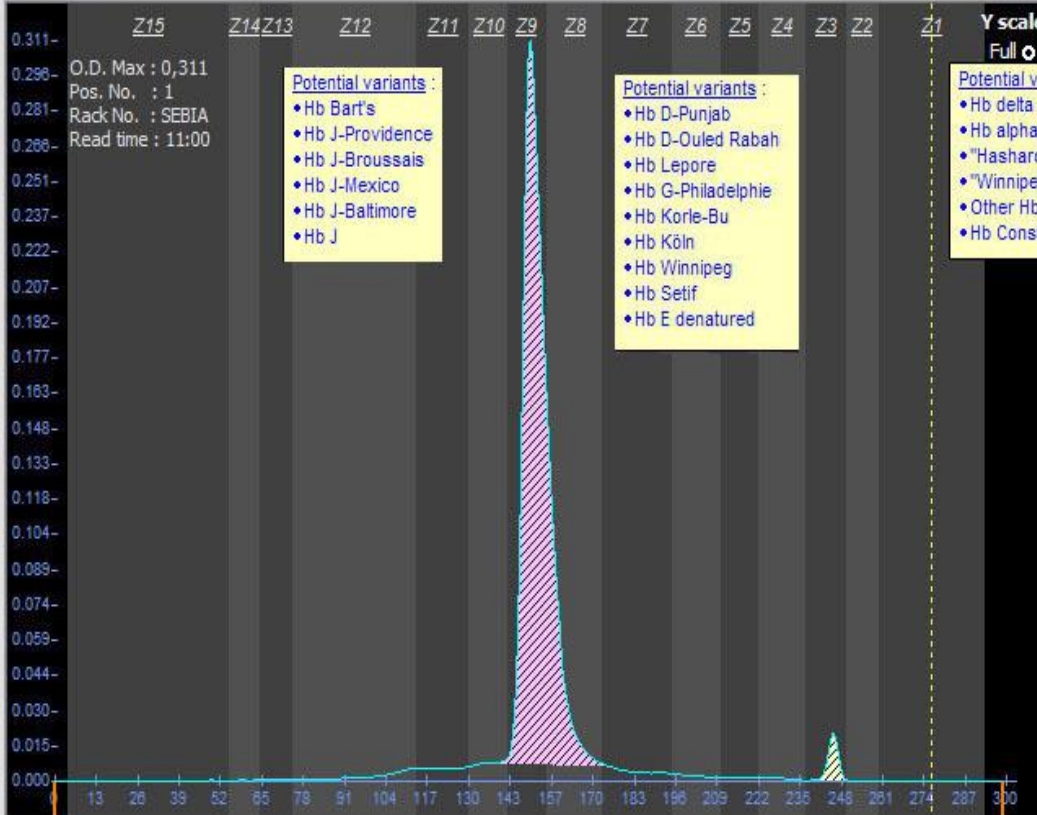
Y scale
Full

Accepted sample

Patient data
Rack: SEBIA Pos.: 1

Fraction values

Names	%
Hb A	97,2
Hb A2	2,8



- Potential variants :
- Hb Bart's
 - Hb J-Providence
 - Hb J-Broussais
 - Hb J-Mexico
 - Hb J-Baltimore
 - Hb J

- Potential variants :
- Hb D-Punjab
 - Hb D-Ouled Rabah
 - Hb Lepore
 - Hb G-Philadelphie
 - Hb Korle-Bu
 - Hb Köln
 - Hb Winnipeg
 - Hb Setif
 - Hb E denatured

- Potential variants :
- Hb delta A2
 - Hb alpha A2
 - "Hasharon" Hb A2 variant
 - "Winnipeg" Hb A2 variant
 - Other Hb A2 variants
 - Hb Constant Spring

Reagents



LOT: 29044/01

EXP:

LOT: 04092/01

EXP:

Ratio 1

Ratio 2

1,00

1,00

Conc.

Previous Next



O.D. = 0,0001

0 1 2 3 4 5

Smooth curve

Pathology

Pathological Curve H

Attached Card

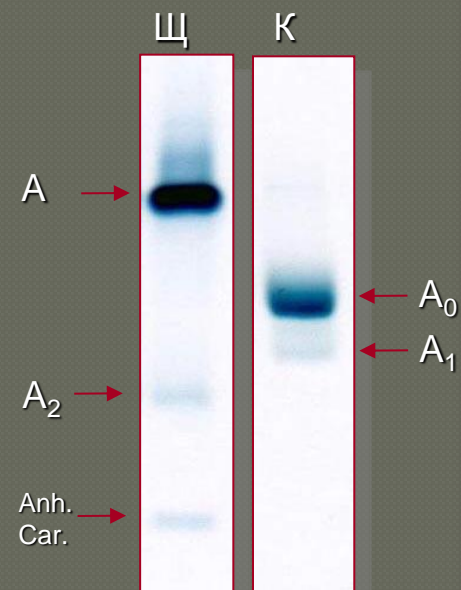
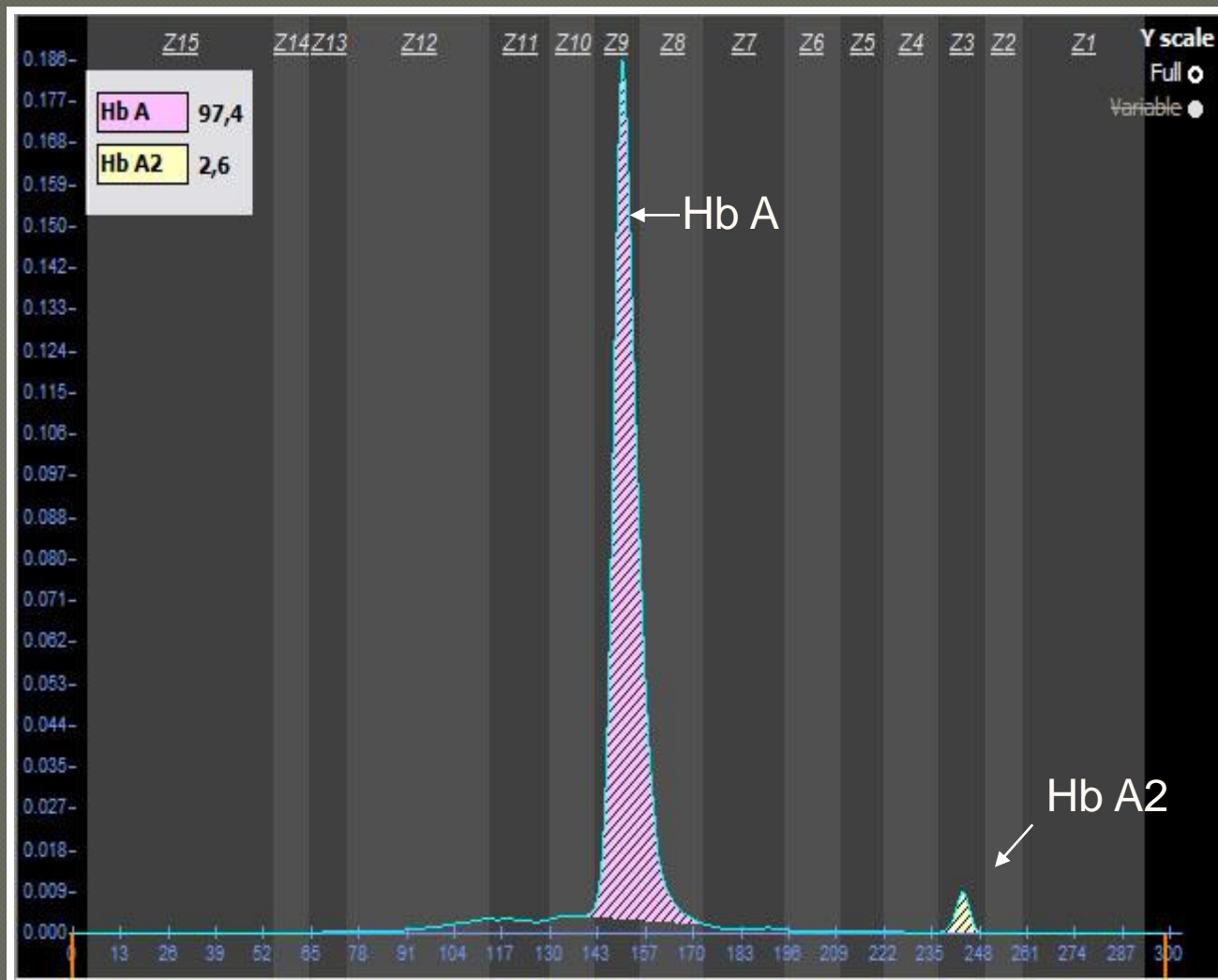
Card View

Comments
Sang normal

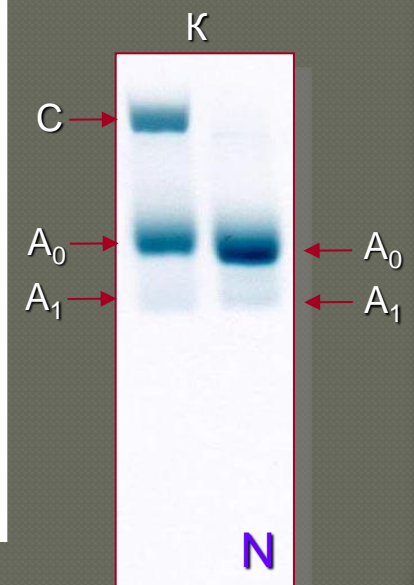
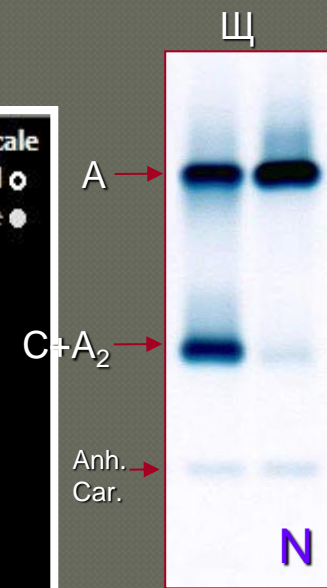
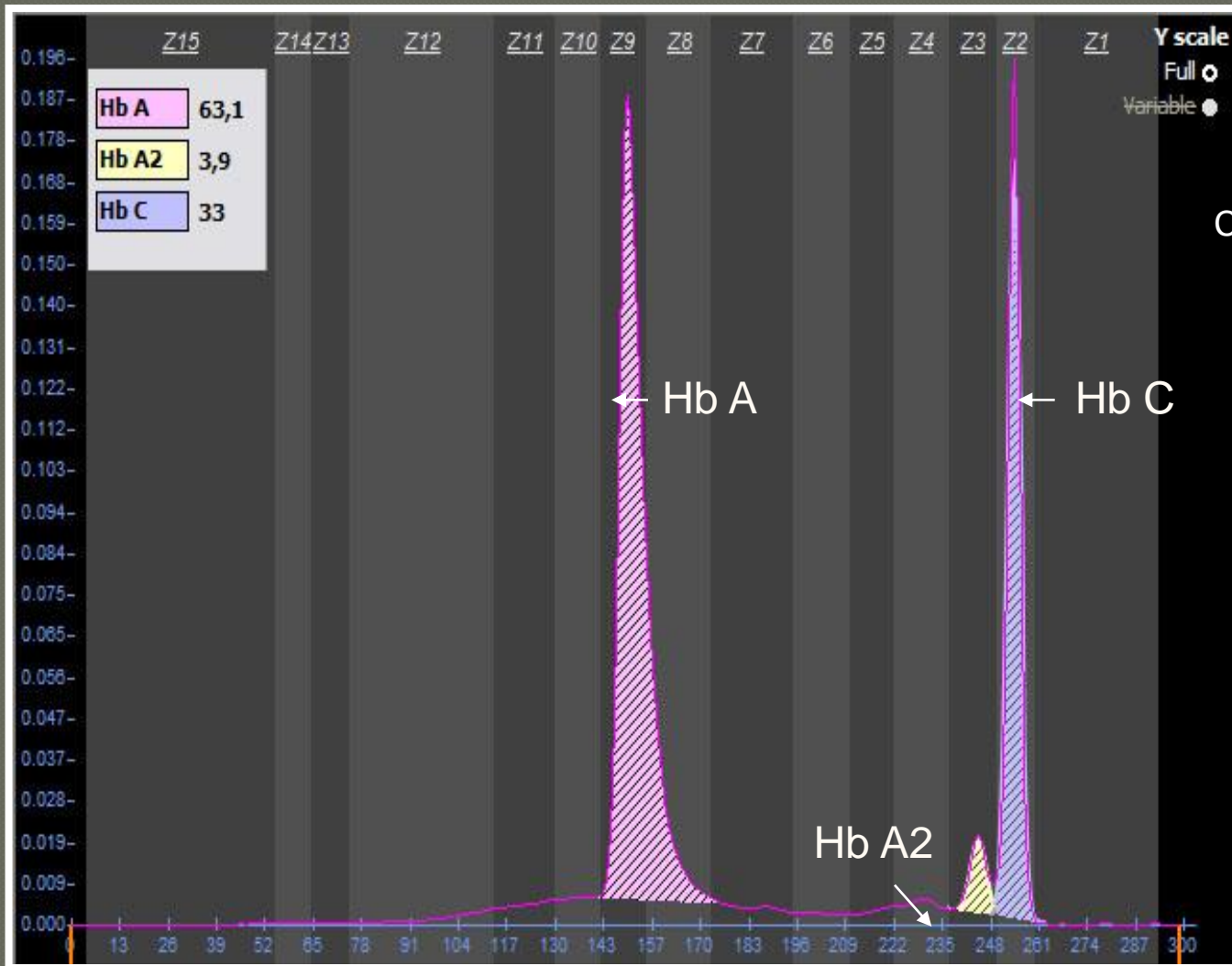


x = 276

Нормальный профиль

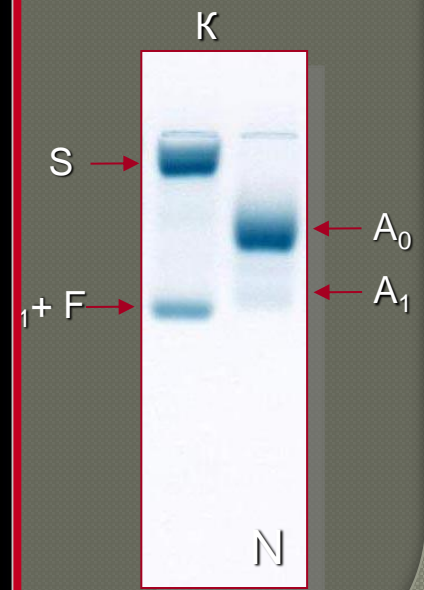
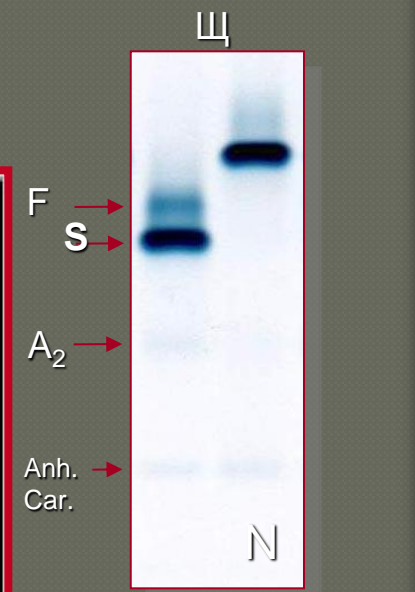
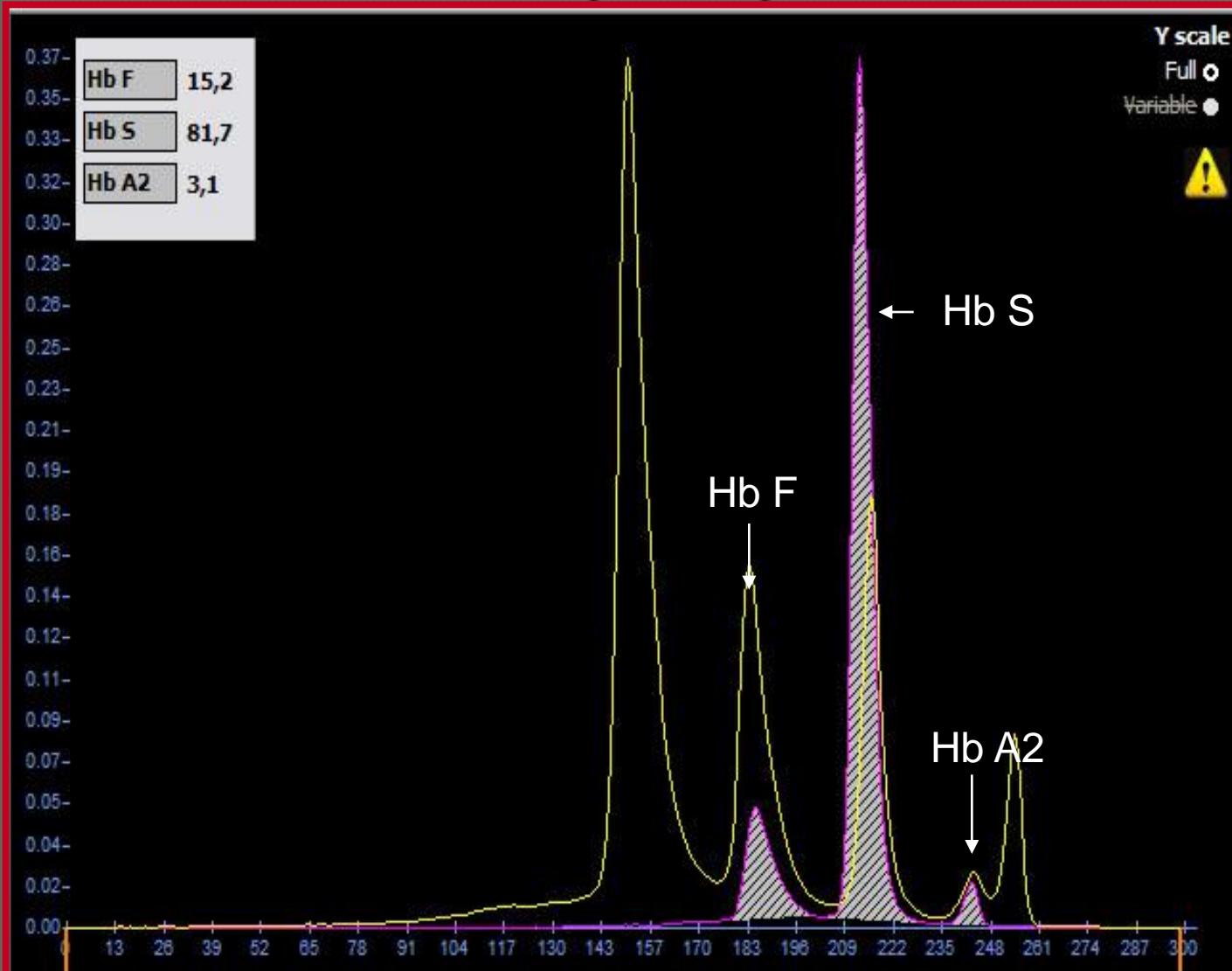


Гетерозигота А/С

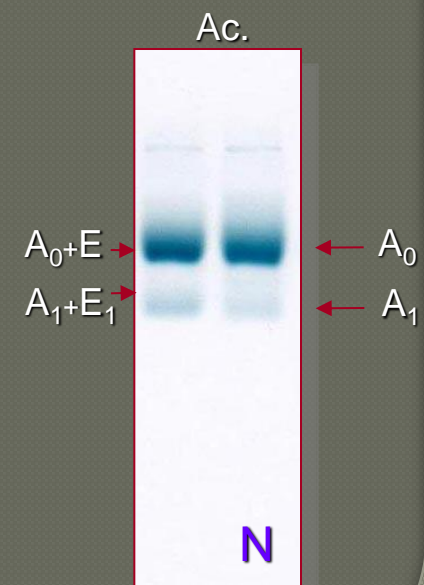
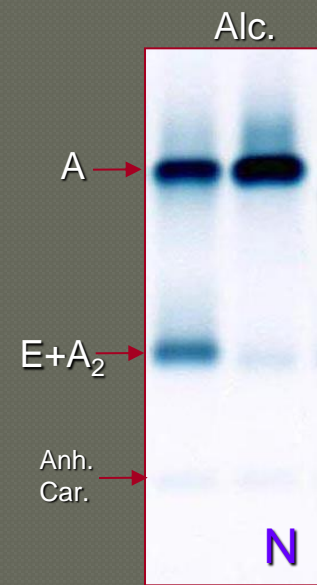
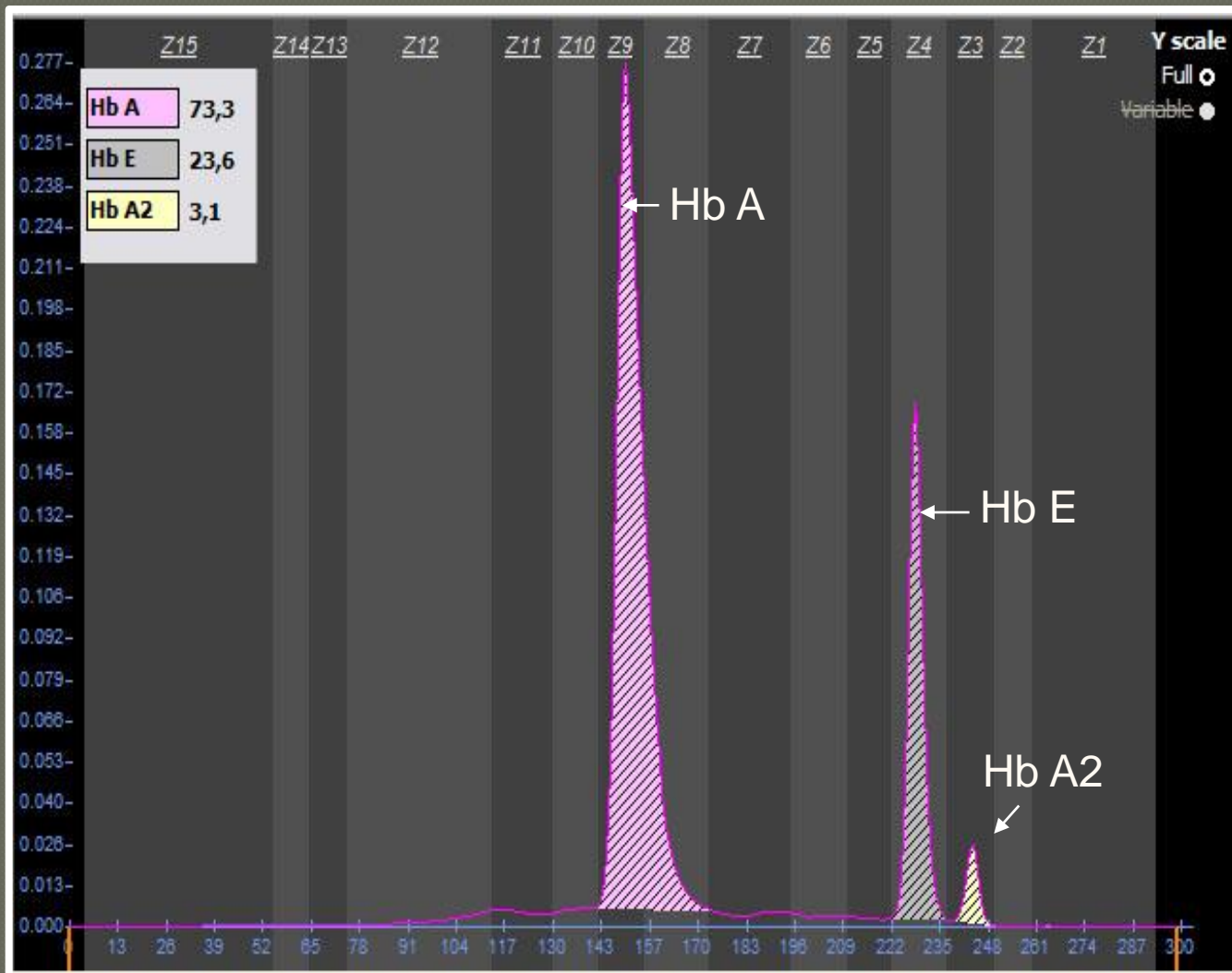


Гомозигота S + наличие Hb F

Наложение контрольной кривой AFSC



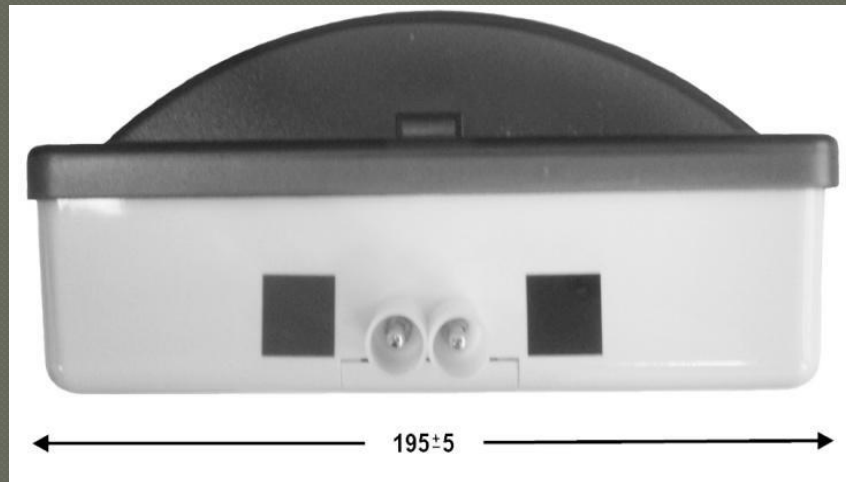
Гетерозигота А/Е

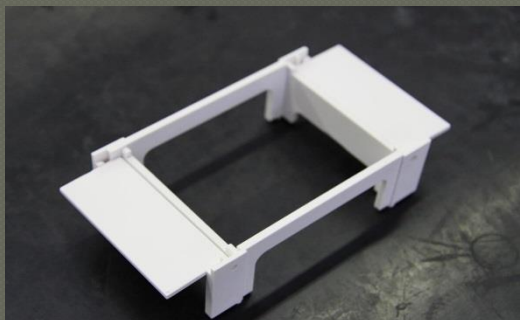


HOSPITEX DIAGNOSTICS

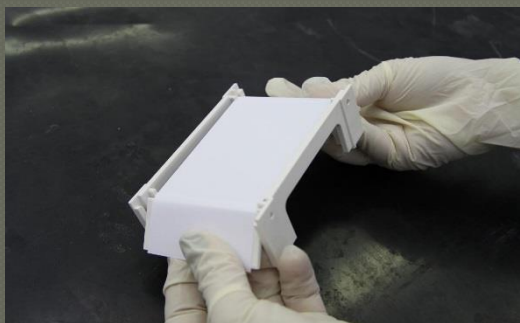
- Система **Scanion** предназначена для микроронального электрофореза биологических макромолекул на ацетате целлюлозы. Для **Scanion** разработаны методы и реагенты, обеспечивающие разделение в электрическом поле и последующее выявление фракций белков сыворотки крови, липопротеидов и гемоглобина.
- Система для электрофореза **Scanion** рекомендована для использования в клинико-диагностических лабораториях







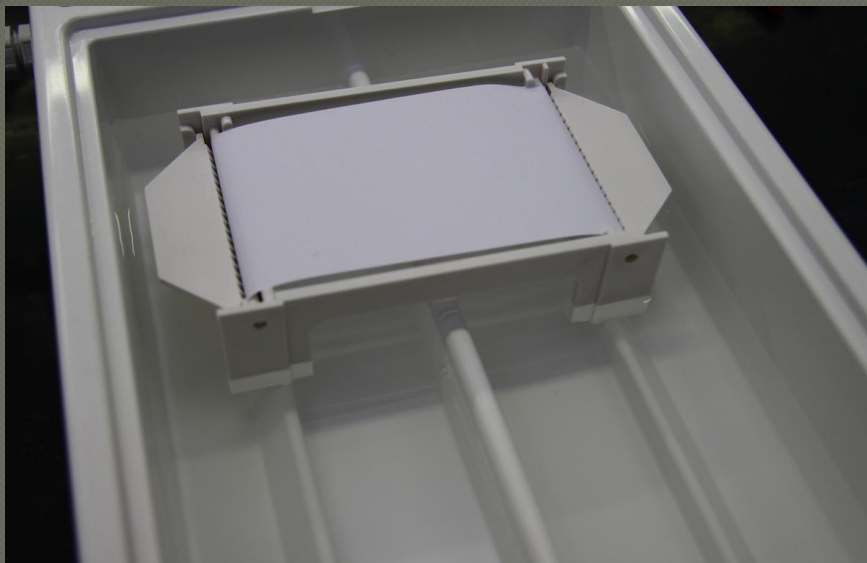
Открытие боковых мобильных крыльев моста



Размещение пропитанной буферным раствором мембраны на мостике



Установка боковых фиксаторов



Размещение мостика с мембраной в камере. Ножки мостика должны находиться между возвышающихся ребер на дне камеры разгонки.

Не допускается высыхание АЦ мембран. О высыхании свидетельствует появление на мембране белых пятен. В этом случае пропитывание мембран буфером следует повторить

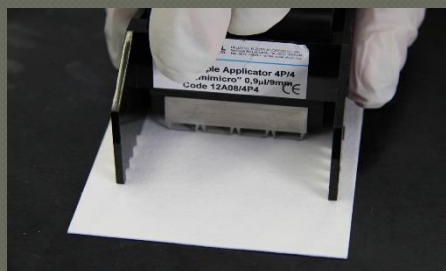


Объем наносимых образцов на планшет:

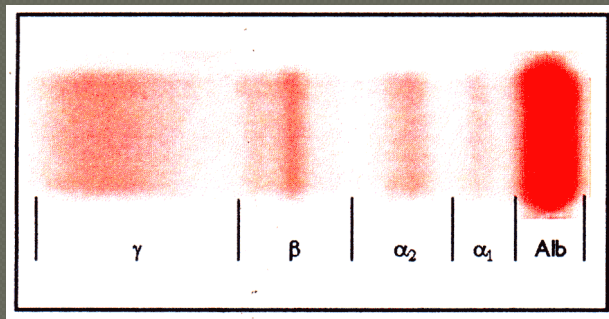
10-20 мкл каждого образца для 8-позиционного аппликатора;
20-30 мкл каждого образца для 4-позиционного аппликатора



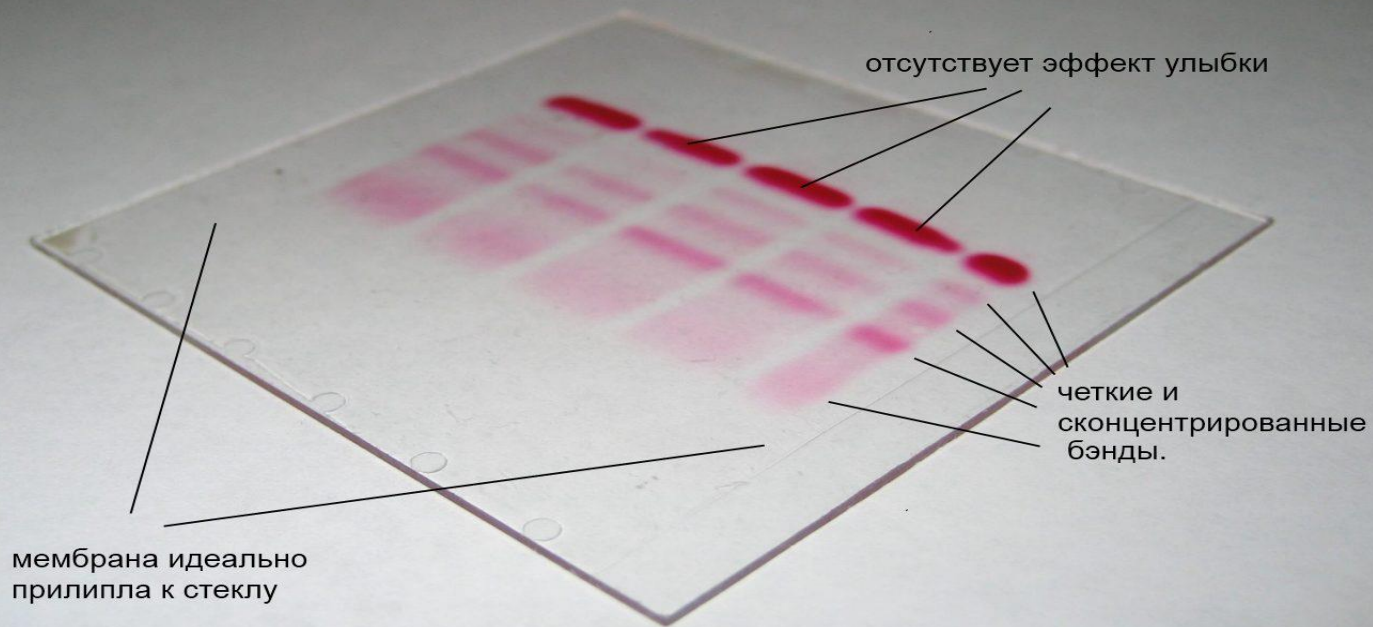
Размещение аппликатора на планшете, так чтобы полоски аппликатора находились над выступами с нанесенными образцами

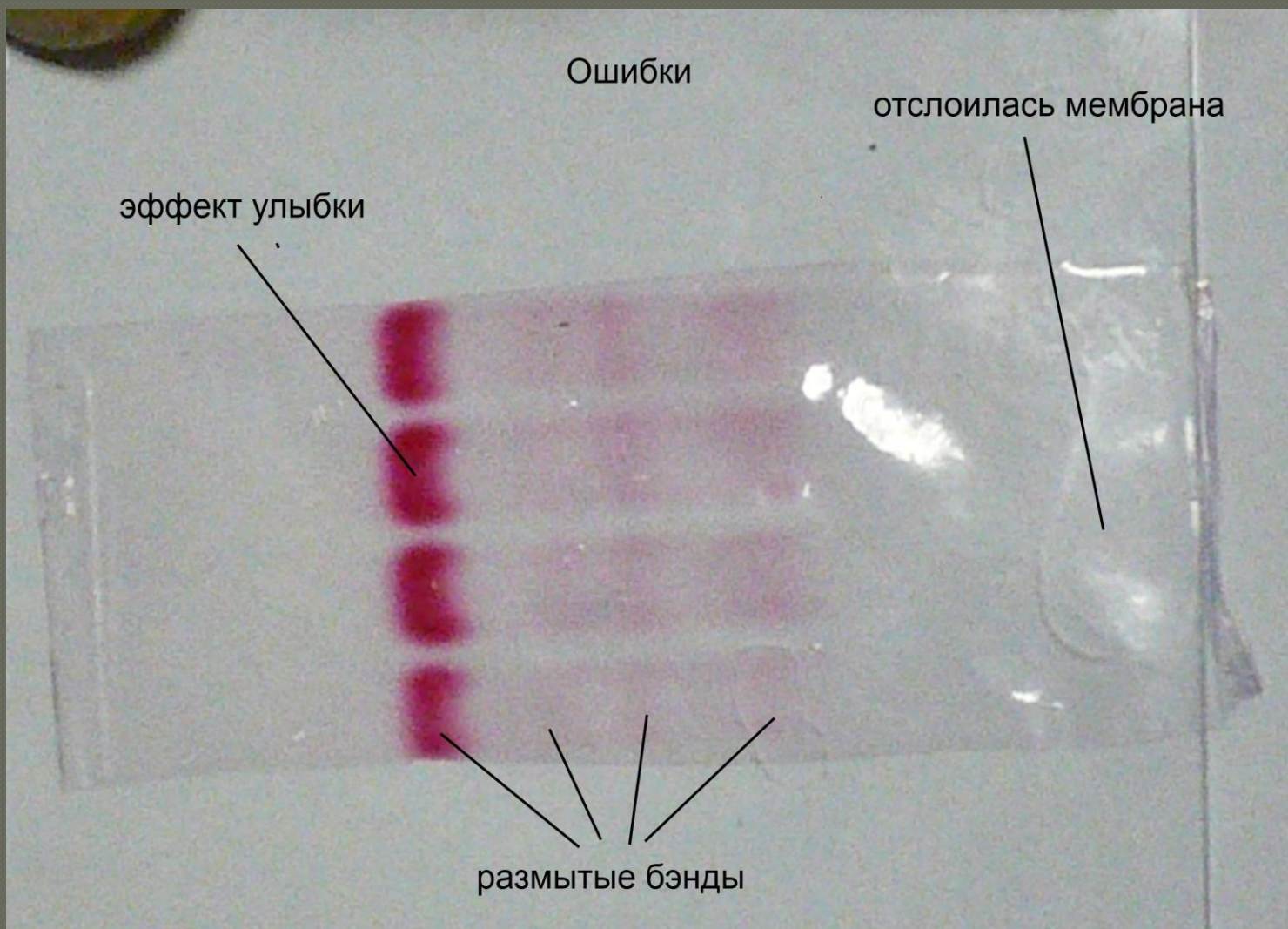


Нанесение образцов на АЦ мембрану



правильная разгонка





Ошибки

отслоилась мембрана

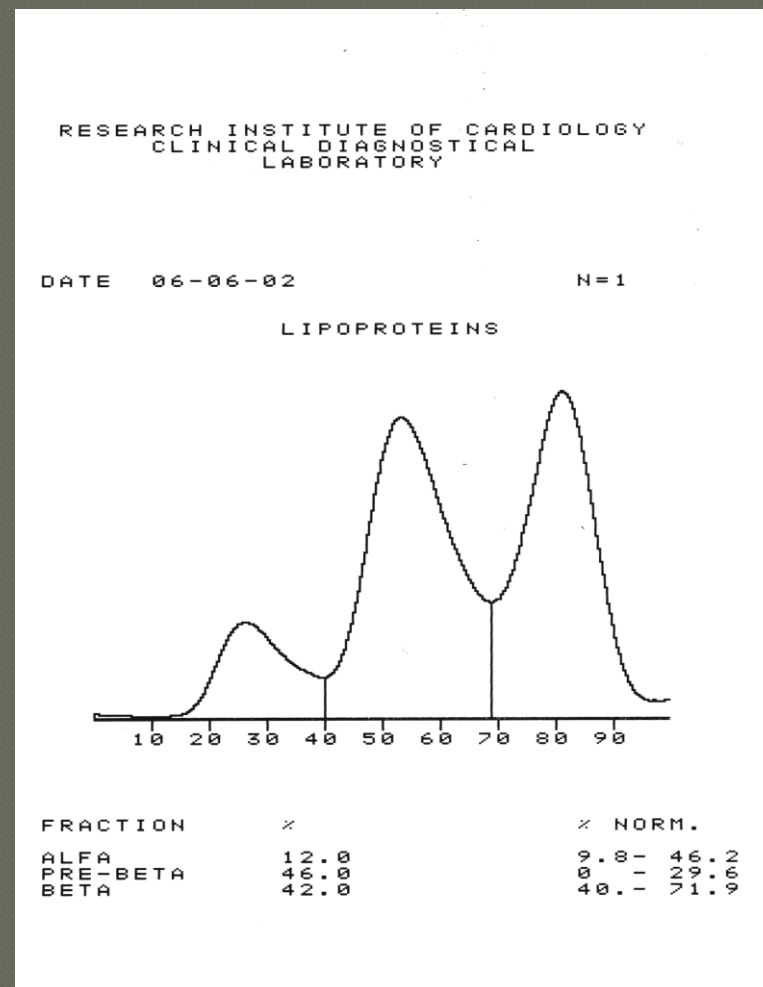
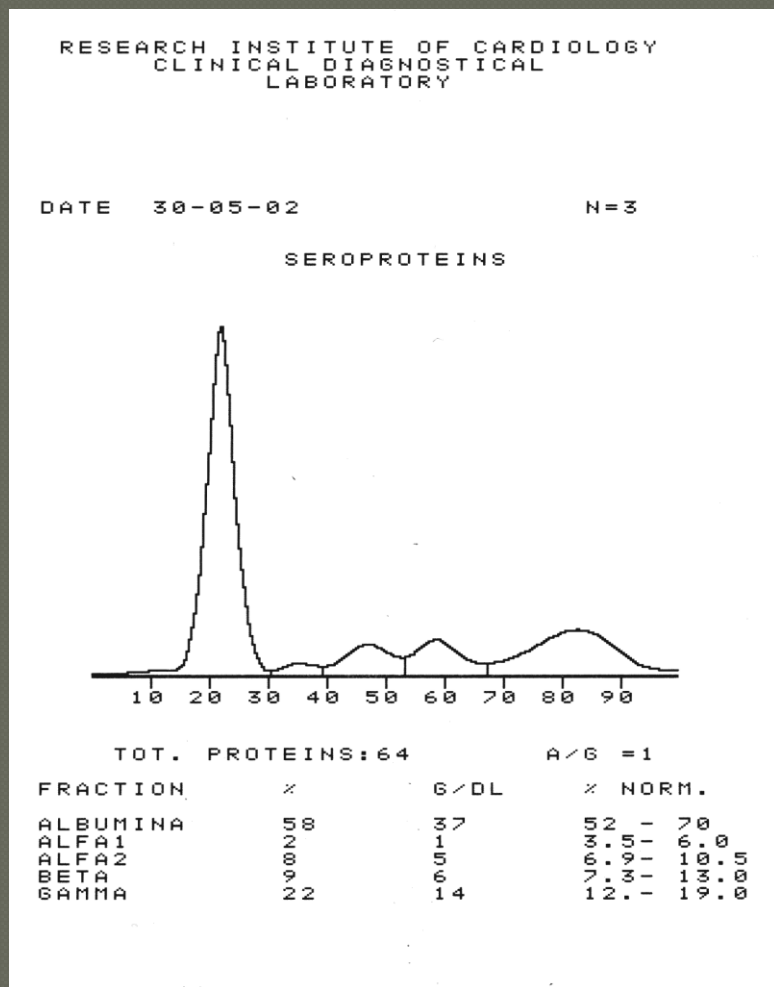
эффект улыбки

размытые бэнды

Примеры денситограмм, полученные на денситометре *Scanion*

Фракции белков сыворотки крови

Фракции липопротеидов сыворотки крови



Типичные ошибки при электрофорезе

Отсутствие напряжения	Нет миграции белков
Несоблюдение полярности	- = - = - = - =
Перепады напряжения	Искажение вида фракций
Низкое напряжение	Медленная миграция
Несоответствие рН буфера	Нет миграции, преципитация на матрице
Высокая ионная сила буфера	Медленная миграция
Размер молекул белка превышает размеры пор матрицы	Тонкие и интенсивные полосы на электрофореграмме
Перегревание или высушивание матрицы	деформация электрофореграмм по краям матрицы
Наличие солей в образце	Размытость стартового (катодного края полос)
Избыточное количество образца	Искажение вида фракций

Качественная и количественная оценка электрофореграммы

- Электрофорез белков сыворотки крови используется для скрининга качественных или количественных нарушений белкового состава сыворотки крови

Качественная оценка – проводят сравнительный анализ полученной электрофореграммы с электрофореграммами, соответствующими различным типам диспротеинемий

- Полуколичественная оценка соотношений условных фракций. Если содержание общего белка в исследуемом образце сыворотки крови известно, то протеинограмму выражают в г/л.

Метод электрофореза является полуколичественным, нестандартизированным
Существуют контрольные сыворотки, аттестованные для электрофореза.
Используются для контроля сходимости и воспроизводимости.

Место электрофореза среди методов анализа белкового спектра крови

Определение типа электрофореграммы может подтвердить предполагаемый клинический диагноз, помочь выявить скрытую патологию, оценить тяжесть заболевания, мониторировать процесс лечения и восстановление биосинтетической функции печени и лимфоидной ткани.

Абсолютные показания для проведения электрофореза:

- Миеломная болезнь
- Иммунодефициты
- Гемоглобинопатии
- Генетические аномалии (бисальбуминемия и др)

Целесообразно также проводить электрофорез при:

- Заболеваниях печени, нефротическом синдроме, злокачественных новообразованиях, коллагенозах;
- Врожденном или приобретенном дефиците белков сыворотки, наличии аномальных белков;
- При снижении содержания общего белка < 60 г/л или повышении > 85 г/л, при снижении концентрации альбумина < 35 г/л, а также при увеличении скорости оседания эритроцитов > 25 мм/ч

Электрофоретические фракции и составляющие их белки сыворотки крови

Зона (фракция)	Доминантные компоненты			Другие клинически значимые белки (минорные компоненты)
	Белки	Молекулярная масса, кДа	Средняя концентрация в сыворотке, г/л	
	Преальбумин	54	0,25	
Альбумин	Альбумин	66	44	
α_1 -глобулины	α -липопротеид			α_1 -антихимотрипсин
	α_1 -антитрипсин	55	2,9	
	кислый α_1 -гликопротеид	40	1,0	
α_2 -глобулины	Гаптоглобин	85	2,0	антитромбин III ингибитор C1-эстеразы α_2 -HS-гликопротеид C-реактивный белок
	α_2 -макроглобулин	725	2,6	
	церулоплазмин	132	0,35	
	Gc-глобулин	52		
β_1 -глобулины	Трансферрин	77	3,0	C4-комплемент β_2 -микроглобулин
	β -липопротеид	300	1,0	
	C3 комплемент	340	1,0	
	гемопексин			
γ -глобулины	IgG,	160	14,0	IgD, IgE легкие цепи Ig, лизоцим
	IgA,	170	3,5	
	IgM	900	1,5	

Функции белков плазмы

Функция	Белки плазмы крови (примеры)
Транспорт (связывание)	Альбумин, апо А-1, апо В, трансферрин, гаптоглобин, гемопексин, ретинол-связывающий белок, преальбумин, транскортин и др.
Поддержание онкотического давления	Все белки, но преимущественно альбумин
Поддержание буферной емкости плазмы	Все белки
Коагуляция/фибринолиз	Фибриноген, факторы свертывания, белки фибринолиза, антикоагулянты
Иммунная защита	Иммуноглобулины, компоненты комплемента, С-реактивный белок
Острофазный ответ	С-реактивный белок, амилоидный белок А сыворотки крови, фибриноген, α_1 -анти-трипсин, гаптоглобин, церулоплазмин
Ферменты	Компоненты комплемента, церулоплазмин, лизоцим
Ингибиторы ферментов	α_1 -ингибитор протеиназ, (α_1 -антитрипсин), антитромбин, α_2 -макроглобулин и др.
Контроль, регуляция	Плацентарный лактоген, α_1 -антитрипсин, α_1 -антихимотрипсин, антитромбин, α_2 -макроглобулин, С1-ингибитор эстераз, цистатин С, интер- α -трипсин ингибитор
Другие функции (структура, иммуносупрессия, адгезия, накопление белков и др.)	α_2 -гликопротеид (структура, костный матрикс), альбумин, преальбумин (депо белка), ассоциированный с беременностью α_2 -гликопротеид (иммуносупрессия), фибриноген (межклеточная адгезия)

Факторы, влияющие на концентрацию белков плазмы

	ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ		
Возраст	Недоношенные	36-60 г/л	3,6-6,0 мг/дл
	Новорожденные	46-70 г/л	4,6-7,0 мг/дл
	1 неделя	44-76 г/л	4,4-7,6 мг/дл
	Дети до 1 года	51-73 г/л	5,1-7,3 мг/дл
	до 2 лет	56-75 г/л	5,6-7,5 мг/дл
	свыше 2 лет	60-80 г/л	6,0-8,0 мг/дл
	Взрослые	64-83 г/л	6,4-8,3 мг/дл
Пол	Мужские и женские половые гормоны влияют на концентрацию многих белков: α -фетопротеин, ферритин, IgM		
Лекарства	Влияние оказывают оральные контрацептивы, тестостерон, фенотиазины, эстрогены		
Физическая нагрузка	Активная физическая работа повышает уровень белка дополнительно до 10 % к исходному		
Генетические факторы	Имеют значение фенотипы, связанные с расовыми различиями, наследственный дефицит отдельных белков		
Питание	Влияет на уровень комплемента, преальбумина, ретинол-связывающего белка		
Беременность	Влияет на транспортные белки, существенно возрастает уровень α -фетопротеина		
Сон	Продолжительный сон может изменять концентрацию белков		
Окружающая среда	У жителей тропиков уровень иммуноглобулинов выше, чем в зоне с холодным климатом		

ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Потери	Патологические потери через поврежденный орган, например, при нефротическом синдроме, клубочковой и канальцевой протеинурии, потери через кишечник
Синтез	Синтез белков плазмы нарушается при заболеваниях печени и почек, возможна наследственная недостаточность синтеза отдельных ферментов
Изменение объема циркулирующей крови	Происходит в результате гипер-, гипогидратации или перераспределения между водными пространствами организма
Катаболизм	Усиливается при воспалении
Скорость утилизации	Меняется при воспалении, заболеваниях почек
Компенсаторные механизмы	Возрастание концентрации высокомолекулярных белков при нефротическом синдроме

Диагностическое значение изменений общего белка крови

Повышение концентрации

Дегидратация

- недостаточное питье
 - избыточные потери воды при потоотделении, профузных поносах, болезни Аддисона, диабетическом кетоацидозе
- Увеличение концентрации одного или нескольких индивидуальных белков
- острые и хронические инфекции
 - аутоиммунные болезни
 - парапротеинемические гемобластомы
 - миеломная болезнь
 - болезнь Вальденстрема
 - болезнь тяжелых цепей
 - лимфогранулематоз
 - саркоидоз
 - активный хронический гепатит
 - цирроз печени без выраженной недостаточности гепатоцитов

Снижение концентрации

Пониженный синтез белка

- недостаток белка в пище, голодание
- мальабсорбция, энтериты, панкреатиты
- болезни печени (цирроз, атрофия и др.)
- длительное лечение кортикостероидами

Увеличенные потери белка

- гломерулонефрит и др. патология почек
- сахарный диабет
- асцит, экссудаты и трансудаты
- ожоги
- кровотечения

Повышенный распад белка

- тиреотоксикоз
- длительная физическая нагрузка
- длительная лихорадка
- травмы
- опухоли

Гипергидратация

Спасибо за внимание !