МУЗ «ПЕРВАЯ ГОРОДСКАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ БОЛЬНИЦА СКОРОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ»

СЕВЕРНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

КУРС КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Общий белок, его значение и методы определения

Выполнила врач-интерн:

Гернет М.М.

г. Архангельск 2008 г.

**Содержание**

Введение

Классификация

Белки плазмы крови

Альбумины

Глобулины

Клинико-диагностическое значение

Гипопротеинемия

Гиперпротеинемия

Методы определения общего белка в сыворотке крови

Список использованной литературы

**Введение**

Белки – высокомолекулярные органические азотсодержащие соединения, состоящие более чем из 20 видов альфа-аминокислот. Условной границей между крупными полипептидами и белками служит молекулярная масса 8000-10000. Плазменные белки синтезируются преимущественно в печени, клетках плазмы, лимфатических узлах, селезенке и костном мозге.

Плазма крови человека содержит более 100 различных белков, различающихся по происхождению и функциям. Из 9-10% сухого остатка плазмы крови на долю белков приходится 6.5-8.5%.

**Классификация**

* Простые (протеины) (содержат только аминокислоты)
* Сложные (протеиды) (аминокислоты и неаминокислотные компоненты: гем, производные витаминов, липиды или углеводы)
* Фибриллярные (составляющие многие плотные ткани)
* Глобулярные (альбумины (4-5%), глобулины (2-3%), фибриноген (0.2-0.4%)

Существуют следующие функциональные классы белков:

- транспортные белки (трансферрин)

- Белки острой фазы (С-реактивный белок)

- Белки неострой фазы (Альбумин, трансферрин)

- Комплемент и свертывающие факторы (комплемент С4, фактор VIII)

- Ферменты (Амилаза)

- Антифермент (Антитромбин III)

- Протеогормоны (Инсулин)

- Иммуноглобулины (IgG)

- Белки, чьи функции недостаточно изучены (альфа-гликопротеиновая кислота)

Физиологическая функция белков плазмы состоит в поддержании коллоидно-осмотического давления, буферной емкости плазмы, в некоторых случаях – депонировании (хранении) молекул липидов, продуктов метаболизма, гормонов, лекарственных веществ и микроэлементов. Некоторые белки плазмы выполняют ферментативную функцию, иммуноглобулины осуществляют гуморальный иммунитет. Компоненты комплемента и С-реактивный белок важны для осуществления неспецифической резистентности, особенно в случае бактериальных инфекций. Баланс между факторами и ингибиторами свертывания обеспечивают жидкое состояние крови в норме и быстрое свертывание в случае травмы

**Белки плазмы крови**

**Альбумины:**

Нормируемое значение 56.5 – 66.8 (На альбумин в сыворотке крови приходится приблизительно 60% общего белка. Альбумины синтезируются в печени (примерно 15г/сут), время их полураспада составляет примерно 17 дней. Онкотическое давление плазмы на 65-80 % обусловлено альбумином. Альбумины выполняют важную функцию транспортировки многих биологически активных веществ, в частности гормонов. Они способны связываться с ХС, билирубином. Значительная часть кальция в крови также связана с альбумином. Альбумины способны соединяться с различными ЛС.

Возможны как качественные, так и количественные изменения альбуминов плазмы крови. Качественные изменения альбуминов очень редки из-за гомогенного состава этой белковой фракции; количественные изменения проявляются гипер- и гипоальбуминемией.

Гиперальбуминемию наблюдают при дегидратации в случаях тяжелых травм, при обширных ожогах, холере.

Гипоальбуминемии бывают первичные (у новорожденных детей в результате незрелости печеночных клеток) и вторичные, обусловленные различными патологическими состояниями, аналогичными тем, что вызывают гипопротеинемию. В понижении концентрации альбуминов может также играть роль гемодилюция, например при беременности. Снижение содержания альбуминов ниже 22-24 г/л сопровождается развитием отека легких.)

**Глобулины:**

* Альфа 1 - 3.5 - 6.0 (основные компоненты данной фракции включают α1 –антитрипсин, α1 – липопротеид, кислый α1 – гликопротеид) (Изменение фракции α1 – глобулинов наблюдают при острых, подострых, обострении хронических воспалительных процессов; поражении печени; всех процессах тканевого распада или клеточной пролиферации. Снижение фракции α1 – глобулинов наблюдают при дефиците α1 – антитрипсина, гипо - α1 – липопротеидемии.)
* Альфа 2 - 6.9 – 10.5 (фракция содержит α2 – макроглобулин, гаптоглобин, алипопротеины А, В (апо-А, апо-В), С, церулоплазмин) (увеличение фракции α2 – глобулинов наблюдают при всех видах острых воспалительных процессах, особенно с выраженным экссудативным и гнойным характером (пневмонии, эмпиема плевры, другие виды гнойных процессов); заболеваниях, связанных с вовлечением в патологический процесс соединительной ткани (коллагенозы, аутоиммунные заболевания, ревматические заболевания); злокачественных опухолях; в стадии восстановления после термических ожогов; нефротическом синдроме; гемолизе крови в пробирке. Снижение фракции наблюдают при сахарном диабете, панкреатитах (иногда), врожденной желтухе механического происхождения у новорожденных, токсических гепатитах. К α2 – глобулинам относится основная масса белков острой фазы. Увеличение их содержания отражает интенсивность стрессорной реакции и воспалительных процессов при перечисленных видах патологии.
* Бета - 7.3 – 13.0 (β-фракция содержит трансферрин, гемопексин, компоненты комплемента, иммуноглобулины и липопротеины) (увеличение фракции бета-глобулинов выявляют при первичных и вторичных гиперлипопротеинемиях, заболеваниях печени, нефротическом синдроме, кровоточащей язве желудка, гипотиреозе. Понижение величины содержания бета-глобулинов выявляют при гопо-бета-липопротеинемии.
* Гамма - 12.8 – 19.0 (γ-фракция содержит Ig (IgG, IgA, IgM IgD, IgE), поэтому повышение содержания γ-глобулинов отмечают при реакции системы иммунитета, когда происходит выработка AT и аутоантител: при вирусных и бактериальных инфекциях, воспалении, коллагенозах, деструкции тканей и ожогах. Значительная гипергаммаглобулинемия, отражая активность воспалительного процесса, характерна для хронически активных гепатитов и циррозов печени. Повышение фракции γ - глобулинов наблюдают у 88-92% больных хроническим активным гепатитом (причем у 60-65% больных оно весьма выраженное — до 26 г/л и выше). Почти такие же изменения отмечают у больных при высокоактивном и далеки зашедшем циррозе печени, при этом нередко содержание γ-глобулином превышает содержание альбуминов, что считают плохим прогностическим признаком.

При определённых заболеваниях возможен повышенный синтез белком, попадающих в фракцию γ-глобулинов, и в крови появляются патологические протеины — парапротеины, которые выявляют при электрофорезе. Для уточнения характера этих изменений необходим иммуноэлектрофорез. Подобные изменения отмечают при миеломной болезни, болезни Вальденстрема.

Повышение содержания в крови γ-глобулинов также наблюдают при ревматоидном артрите, СКВ, хроническом лимфолейкозе, эндотелиоме, остеосаркоме, кандидамикозе.

Уменьшение содержания γ-глобулинов бывает первичным и вторичным.

Различают три основных вида первичных гипогаммаглобулинемий: физиологическую (у детей в возрасте 3-5 мес), врождённую и идиопатическую. Причинами вторичных гипогаммаглобулинемий могут быть многочисленные заболевания и состояния, приводящие к истощению иммунной системы.

Сопоставление направленности изменении содержания альбуминов и глобулинов с изменениями общего содержания белка даёт основание для заключения, что гиперпротеинемия чаще связана с гиперглобулинемиями, в то время как гипопротеинемия обычно обусловлена гипоальбуминемией. В прошлом широко применяли вычисление альбумин-глобулинового коэффициента, то есть отношения величины фракции альбуминов к величине фракции глобулинов. В норме этот показатель составляет 2,5-3,5. У больных хроническими гепатитами и циррозами печени этот коэффициент снижается до 1,5 и даже до 1 за счёт снижения содержания альбумина и повышения фракции глобулинов. В последние годы всё больше внимания уделяют определению содержания преальбуминов, особенно у тяжёлых реанимационных больных, находящихся на парентеральном питании. Снижение концентрации преальбуминов — ранний и чувствительный тест белковой недостаточности в организме больного.)

Коэффициент А\Г обычно используется как индекс соотношения альбумина и глобулинов.

Изменения этого коэффициента могут наблюдаться при циррозе печени, гломерулонефрите, нефротическом синдроме, остром гепатите, системной красной волчанке.

Концентрация белков в плазме крови зависит от соотношения между скоростью их синтеза и выведения из организма, а также объема распределения.

Многие белки образуются в печени, плазматические клетки и лимфоциты синтезируют иммуноглобулины, макрофаги – белки системы комплимента. Пассивная потеря белков с низкой молекулярной массой происходит через почечные клубочки и стенку кишечника. Часть из этих белков подвергается реабсорбции либо захватывается и расщепляется в слизистой оболочке кишечника. Большинство белков плазмы после их захвата путем пиноцитоза катаболизируется в клетках эндотелия капилляров или мононуклеарных фагоцитов.

**Физиологические роли белков** крови многочисленны, основные из них следующие:

* Поддерживают коллоидно-онкотическое давление, сохраняя объем крови, связывая воду и задерживая ее, не позволяя выходить из кровеносного русла;
* Принимают участие в процессах свертывания крови;
* Поддерживают постоянство Рн крови, формируя одну из буферных систем крови;
* Соединяясь с рядом веществ (ХС, билирубин и др.), а также с ЛС, доставляют их в ткани.
* Поддерживают нормальный уровень катионов в крови путем образования с ними недиализируемых соединений (например, 40-50%кальция сыворотки связано с белками; значительная часть железа, меди, магния и других микроэлементов также связано с белками);
* Играют важнейшую роль в иммунных процессах;
* Служат резервом аминокислот;
* Выполняют регулирующую функцию (гормоны, ферменты и другие биологически активные белковые вещества).

**Клинико-диагностическое значение**

Нормопротеинемия – нормальное содержание общего белка

Гипопротеинемия – пониженное содержание общего белка

Гиперпротеинемия – повышенное содержание белка

**Гипопротеинемия**

1. Недостаточное поступления белка пищи, наблюдаемое обычно при недоедании, голодании, опухоли, сужении пищевода, нарушении функции желудочно-кишечного тракта (вследствие ухудшения переваривания и всасывания белковых компонентов пищевых продуктов), например, при продолжительных воспалительных процессах кишечника.

По мнению А.А.Покровского, даже несбалансированный аминокислотный состав пищи может иногда приводить к гипопротеинемии.

Для обеспечения нормальных процессов жизнедеятельности организм утилизирует альбуминовую фракцию белков плазмы крови. При усиленном расходовании альбуминов (в основном обусловливающих онкотическое давление крови) развиваются так называемые онкотические или голодные отеки. Вообще говоря, всякое уменьшение содержания белка в плазме крови ниже 5 г% часто сопровождается гипопротеинемическими отеками тканей.

1. Понижение процессов биосинтеза белка (хронические паренхиматозные гепатиты, острые и хронические заболевания, длительные нагноительные процессы, злокачественные новообразования, тяжелые тиреотоксикозы и т.д.).
2. Потеря белка организмом при острых и хронических кровотечениях, при резко увеличенной проницаемости капиллярных стенок (при токсическом их поражении, когда белки крови выходят в ткани), при кровоизлияниях, образовании обширных экссудатов, выпотов в серозные полости, отеках.

Выход белков(главным образом альбуминов)из русла крови происходит при нарушении почечного фильтра вследствие органических заболеваний почек (особенно нефрозах и амилоидозах), при которых белок почти всегда обнаруживается в моче, а также при ожогах.

1. Дефектопротеинемии (альбуминемия) – врожденное отсутствие или недостаточное содержание церулоплазмина в плазме крови при болезни Вильсона.
2. У женщин в период лактации и последних месяцев беременности.
3. Нефротический синдром
4. Квашиоркор (острая белковая недостаточность)
5. Ретенционный солевой синдром

**Гиперпротеинемия**

1. Серьезное обезвоживание
2. При сгущении крови из-за незначительных потерь жидкости, что бывает при профузных поносах, усиленном потоотделении, неукротимой рвоте, несахарном диабете, при холере, непроходимости кишечника, генерализованном перитоните, тяжелых ожогах, лишении воды.
3. При хроническом полиартрите и некоторых и некоторых хронических воспалительных процессах.
4. Стойкая гиперпротеинемия до 12 г% и выше отмечается при миеломной болезни (плазмацитоме), макроглобулинемии Вандельстрема, при которых в плоских костях черепа появляются дополнительные очаг и образования «ненормальных», патологических белков – парапротеинов.

Гипопротеинемия связана почти всегда с гипоальбуминемией, а гиперпротеинемия – с гиперглобулинемией.

Гипоальбуминемию организм компенсирует гиперглобулинемией (даже если нет раздражения ретикуло-эндотелиальной системы) для того, чтобы сохранить уровень коллоидно-осмотического давления. Напротив, увеличение глобулинов компенсируется гипоальбуминемией.

Важное диагностическое значение имеет выяснение количественных взаимоотношений между отдельными фракциями сыворотки крови. Их изучение позволяет произвести дифференциацию заболеваний даже тогда, когда содержание общего белка в сыворотке оказывается неизменным.

**Методы определения общего белка в сыворотке крови**

Референтные величины концентрации общего белка в сыворотке крови – 65-85 г/л

1. Азотметрические
2. Определение удельного веса сыворотки
3. Весовые (гравиметрические), когда белки крови осаждают, высушивают до постоянного веса и взвешивают на аналитических весах.
4. Рефрактометрические
5. Колориметрические
6. Нефлометрические
7. Поляриметрические
8. Спектрофометрические
9. **Рефрактометр ИРФ – 454 Б2М**

предназначен для определения белка в сыворотке крови, спинно-мозговой жидкости, контроля концентрации лекарств, измерения плотности мочи.

1. **Cobas integra – Total Protein Gen.2**

Принцип теста: двухвалентная медь реагирует в щелочном растворе с белковыми пептидными связями с образованием характерного пурпурного цветного биуретового комплекса.

1. **Определение белковых фракций сыворотки крови методом электрофореза на ацетатцеллюлозной пленке.**

Буферный раствор предназначен для электрофоретического разделения белков сыворотки крови на мембранах из ацетатцеллюлозы с последующим денситометрическим определением белковых фракций.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Принцип электрофоретического разделения белков основан на различной скорости движения молекул белков сыворотки крови в постоянном электрическом поле определенной напряженности. Разделенные белковые фракции окрашиваются красителем. Интенсивность окраски белковых фракций пропорциональна их количеству.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Сыворотка крови, свободная от гемолиза, липемии и не желтушная. Белковые фракции сыворотки крови стабильны в плотно закрытой пробирке при 18-25 в течение 8 часов, при 2-8 – в течение 3 дней, при 20 – в течение 1 месяца.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

* 1. Проведение электрофореза
  2. сухие мембраны осторожно положить на поверхность буфера для электрофореза, избегая быстрого их погружения, и выдержать до полного смачивания. Смоченные мембраны аккуратно промокнуть между листами плотной фильтровальной бумаги, не допуская их высыхания. Перед нанесением образцов желательно провести фазу префореза. Для этого мембрану следует поместить в камеру для электрофореза и включить ток в выбранном режиме на 10 минут. Фазу префореза можно заменить длительным замачиванием мембраны в растворе буфера (несколько часов).
  3. с помощью аппликатора нанести анализируемые образцы сыворотки крови на расстоянии 2-3 см от катодного края мембраны. Мембрану поместить в электрофоретическую камеру и подключить ток.

2. Обработка электрофореграммы

2.1. краситель Пунцовый С.

После отключения тока мембрану осторожно перенести в раствор красителя на 3-5 минут, затем дважды на 3 минуты в 5-7% раствор уксусной кислоты (до отбеливания фона).

* 1. электрофореграмму обработать с помощью сканера и компьютерной программы.

1. **Тимоловая проба**

Принцип метода:

Сывороточные бета-глобулины, гамма-глобулины и липопротеины осаждаются при рН 7.55 тимоловым реактивом. В зависимости от количества и взаимного отношения белковых фракций при реакции возникает помутнение, интенсивность которого измеряют турбидиметрически.

Клинико-диагностическое значение:

Тимоловая проба более пригодна для функционального исследования печени, чем коллоидно-устойчивые пробы. Считают что она положительна в 90-100 % случаев болезни Боткина (уже в преджелтушной ее стадии и при безжелтушной форме) и при токсическом гепатите. Реакция положительна при послегепатитном и постнекротическом, особенно желтушном циррозе (в отличие от других форм циррозов), при коллагеновых заболеваниях, малярии и вирусных инфекциях. При механической желтухе она (в 75% случаев) отрицательна, что имеет дифференциально-диагностическое значение.

При механической желтухе проба становится положительной лишь в случае, если процесс осложняется паренхиматозным гепатитом. Для дифференциации механической желтухи от паренхиматозной большое значение имеет применение тимоловой пробы с пробой Бурштейна (на бета- и пре-беталипопротеиды).

При паренхиматозной желтухе обе пробы положительны, при механической желтухе тимоловая проба отрицательна, проба Бурштейна – резко положительна.

**Список использованной литературы**

1. Специфические белки в клинической лабораторной диагностике: вопросы и ответы. – Тёпфер Г., Тома Р., Цавта Б., М., 2004. – 96с