

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бондарь И.А., Климонтов В.В., Королева Е.А. и др. Суточный профиль артериального давления и ЭхоКГ-параметры левого желудочка у больных диабетической нефропатией // Клиническая медицина. — 2004. — №10. — С. 18-21.
2. Шестакова М.В., Дедов И.И. Сахарный диабет и хроническая болезнь почек. — М.: Медицинское информационное агентство, 2009. — 482 с.
3. Al-Khoury S., Afzali B., Shah N. et al. Anaemia in diabetic patients with chronic kidney disease-prevalence and predictors // Diabetologia. — 2006. — Vol. 49. — P.1183-1189.
4. Astor B.C., Muntner P., Levin A., et al. Association of kidney function with anemia: The Third National Health and Nutrition Examination Survey (1988-1994) // Arch. Intern. Med. — 2002. — Vol. 162. — P.1401-1408.
5. Bordier L., Le Berre J.P., Garcia C., et al. Influence of blood pressure level on urinary albumin excretion rate and erythropoietin production in diabetic patients // Arch. Mal. Coeur Vaiss. — 2006. — Vol. 99. №7-8. — P. 701-704.
6. Bosman D.R., Winkler A.S., Marsden J.T., et al. Anemia With Erythropoietin Deficiency Occurs Early in Diabetic Nephropathy // Diabetes Care. — 2001. — Vol. 24. №3. — P. 495-499.
7. Jones S.C., Smith D., Nag S., et al. Prevalence and nature of anaemia in a prospective, population-based sample of people with diabetes: Teesside anaemia in diabetes (TAD) study // Diabet. Med. — 2010. — Vol. 27. №6. — P. 655-659.
8. Mostafa S.A., Burden A.C., Cropper L., Tagboto S. Haemoglobin response to intravenous iron in non-dialysis patients with chronic kidney disease and diabetes // The British Journal of Diabetes & Vascular Disease. — 2009. — Vol. 9. №5. — P. 126-128.
9. Mostafaa S., Tagbotoa S., Robinsonb M., et al. Overrepresentation of diabetic patients with renal anaemia in the primary care setting // Family Practice. — 2009. — Vol. 26. №6. — P.180-182.
10. Rosenberger C., Khamaisi M., Abassi Z., et al. Adaptation to hypoxia in the diabetic rat kidney // Kidney Int. — 2008. — Vol. 73. — P. 34-42.
11. Singh D.K., Winocour P., Summerhayes B., et al. Are low erythropoietin and 1,25-dihydroxyvitamin D levels indicative of tubulo-interstitial dysfunction in diabetes without persistent microalbuminuria? // Diabetes Res. Clin. Pract. — 2009. — Vol. 85. №3. — P. 258-264.
12. Thomas M.C., Cooper M.E., Tsalamandris C., et al. Anemia With Impaired Erythropoietin Response in Diabetic Patients // Arch. Intern. Med. — 2005. — Vol. 165. — P. 466-469.
13. Thomas M.C., MacIsaac R.J., Tsalamandris C., et al. Anemia in Patients with Type 1 Diabetes // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2004. — Vol. 89. №9. — P. 4359-4363.
14. Thomas M.C., MacIsaac R.J., Tsalamandris C., et al. Unrecognized Anemia in Patients With Diabetes: A cross-sectional survey // Diabetes Care. — 2003. — Vol. 26. № 4. — P. 1164-1169.
15. Winkler A.S., Marsden J., Chaudhuri K.R., et al. Erythropoietin depletion and anemia in diabetes mellitus // Diabet. Med. — 1999. — Vol. 16. — P. 813-819.

**Информация об авторах:** Хантакова Екатерина Александровна — ассистент, 664003, Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, ИГМУ, кафедра эндокринологии и клинической фармакологии, тел. (3952) 407884, e-mail: hantakovaea@mail.ru

© ГУЦОЛ.О., ТРУБНИКОВА Т.И., КОЛЕСНИЧЕНКО Л.С., ГАВРИЛОВ С.С. — 2013  
УДК 615.47:616-074;616-092;61:577.1

## ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА БЕЛКОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ И МОЧИ У ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ

Людмила Олеговна Гуцол<sup>1</sup>, Татьяна Ивановна Трубникова<sup>2</sup>,  
Лариса Станиславовна Колесниченко<sup>1</sup>, Сергей Сергеевич Гаврилов<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Иркутский государственный медицинский университет, ректор — д.м.н., проф. И.В. Малов, кафедра патологии с курсом клинической иммунологии и аллергологии, зав. — д.м.н., проф. И.Ж. Семинский; <sup>2</sup>Иркутский областной клинический консультативно-диагностический центр, гл. врач — к.м.н. И.В. Ушаков)

**Резюме.** Изучены возможности ранней диагностики множественной миеломы с применением капиллярного электрофореза белков сыворотки крови и мочи для определения парапротеинов у 100 больных. Установлено, что в большинстве случаев парапротеины обуславливали повышение общего белка крови, но в ряде случаев уровень общего белка оставался в пределах нормы или меньше, что затрудняло диагностику. Капиллярный электрофорез белков сыворотки крови и мочи является одним из определяющих методов выявления парапротеинов.

**Ключевые слова:** электрофорез белков, общий белок, М-пик, парапротеины, множественная миелома.

## DIAGNOSTIC VALUE OF CAPILLARY ELECTROPHORESIS OF PROTEINS IN BLOOD SERUM AND URINE IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA

L.O. Gutsol<sup>1</sup>, T.I. Trubnikova<sup>2</sup>, L.S. Kolesnichenko<sup>1</sup>, S.S. Gavrillov<sup>2</sup>  
(<sup>1</sup>Irkutsk State Medical University; <sup>2</sup>Irkutsk Regional Clinical Diagnostic Center)

**Summary.** The opportunities for early diagnosis of multiple myeloma through capillary electrophoresis of the blood serum and urine proteins to determine paraproteins on the material of 100 patients have been studied. It has been established that in most cases paraproteins caused increase of total blood protein, but in some cases the level of total protein remained within normal limits or less, making it difficult to diagnose. Capillary electrophoresis of blood serum and urine proteins is one of determinant methods for paraproteins identification.

**Key words:** protein electrophoresis; total protein; M peak; paraproteins; multiple myeloma.

Множественная миелома (ММ) — парапротеинемический гемобластоз, относящийся к группе иммуноглобулин-секретирующих В-клеточных лимфатических опухолей [2]. Вследствие мутации генов, ответственных за выработку иммуноглобулина, миеломные клетки синтезируют и секретируют патологические иммуноглобулины с измененной структурой, так называемые парапротеины (ПП), или моноклональные

белки (МБ), которые при электрофорезе белков сыворотки крови и мочи регистрируются в виде М-пика в β- или γ-зоне глобулинов [3]. Наиболее характерными проявлениями ММ являются анемия, гиперкальциемия, связанная с деструктивным поражением скелета, а также поражения почек [1]. ММ занимает 1% среди всех онкологических заболеваний, составляя при этом 10% от всех злокачественных заболеваний системы

крови. Распространенность заболевания ММ в России и Европе колеблется от 1,2 до 6 случаев на 100 тыс. населения в год [1]. Появление новых лекарственных препаратов и новых возможностей лечения ММ приводит к особой востребованности выявления заболевания на ранних сроках течения. В настоящее время в г. Иркутске и Иркутской области, несмотря на наличие средств современного высокотехнологичного лечения, отсутствует единый алгоритм первичной диагностики выявления МБ при ММ. Поэтому, вопрос о критериях оценки эффективности терапии в различных лечебно-профилактических учреждениях остается открытым и сегодня.

**Цель работы:** изучение возможности ранней диагностики ММ с применением современного метода лабораторной диагностики — капиллярного электрофореза белков сыворотки крови и мочи.

### Материалы и методы

Исследование было выполнено в период с января 2009 г. по декабрь 2012 г. на базе лаборатории биохимии Иркутского диагностического центра. В исследование включено 100 пациентов с диагнозом «множественная миелома». Контрольную группу (контроль) составили 25 здоровых человек с нормальными показателями общего белка, белковых фракций сыворотки крови и мочи в возрасте 55-70 лет, проживающие в г. Иркутске и Иркутской области.

Исследуемые биологические материалы: периферическая кровь и разовая моча. Методы исследования: 1) количественное определение содержания общего белка в сыворотке крови и моче; 2) электрофорез белков с визуальным определением наличия патологических белков при увеличении зоны  $\beta$ - или  $\gamma$ -глобулинов.

Статистическую обработку материала выполняли с использованием стандартного пакета программ прикладного статистического анализа (Statistics for Windows v. 6.0).

### Результаты и обсуждение

При проведении капиллярного электрофореза у всех больных с выявленной ММ на электрофореграмме увеличены зоны  $\beta$ - или  $\gamma$ -глобулинов и формируется М-пик (или М-градиент) (рис. 1).

Содержание общего белка в крови у исследованных больных ММ колебалось в интервале от 51,7 г/л до 164 г/л, в группе контроля —  $74,11 \pm 0,86$  г/л. После анализа уровня содержания общего белка сыворотки крови все пациенты с ММ были разделены нами на 3 группы (рис. 2): 1 группа (содержание общего белка в пределах нормы,  $73,86 \pm 0,14$  г/л,  $p > 0,1$ ) — 5% больных; 2 группа (содержание общего белка повышено,  $94,3 \pm 1,87$  г/л,  $p < 0,05$ ) — 75% больных; 3 группа (содержание общего белка было ниже нормы,  $66,45 \pm 1,6$  г/л,  $p < 0,05$ ) — 20% больных.

В первой группе при нормальном уровне общего белка сыворотки крови проведение капиллярного электрофореза белков сыворотки крови показало, что все белковые фракции находятся в пределах нормы, кроме фракции  $\beta$ -глобулинов, содержание которых увеличилось по сравнению с нормой в полтора раза ( $p < 0,05$ ). ПП в крови присутствует, но не оказывает значительного влияния на содержание общего белка и его фракций.

Во второй группе наблюдается статистически достоверное повышение содержания общего белка сыворотки крови и всех фракций белка кроме альбуминов, содержание которых снижалось ( $p < 0,05$ ). Такие резуль-

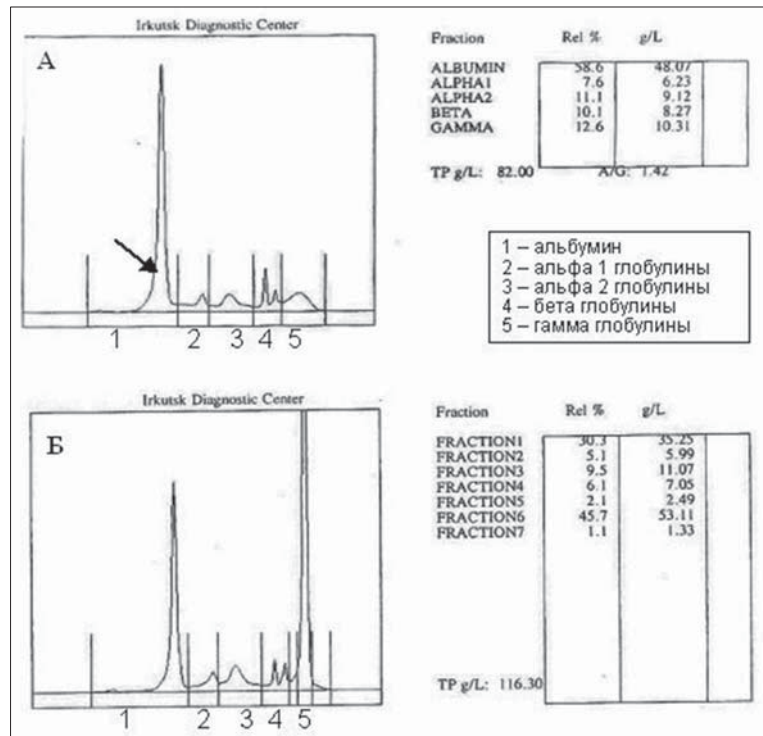


Рис. 1. А. Электрофорез белков сыворотки крови в пределах физиологической нормы. Б. Электрофореграмма при ММ: в зоне  $\gamma$ -глобулинов выявляется М-градиент (обозначен стрелкой), составляющий 45,7% ( $53,1$  г/л) от суммы всех белков сыворотки крови.

таты являются классическим вариантом присутствия ПП в сыворотке крови [1,5].

В третьей группе наблюдалось достоверное снижение содержания общего белка и альбумина ( $p < 0,05$ ), повышение содержания  $\alpha_2$ -глобулинов ( $p < 0,05$ ). Гипопротеинемия сформирована в основном за счет снижения фракции альбумина, подавления нормального синтеза общих иммуноглобулинов. Это больные с выраженным иммунодефицитом, нарушением синтетической функции белков печени, ХПН, увеличенным синтезом иммуноглобулинов ЛЦ, которые свободно фильтруются в мочу [1, 5, 7].

Частым осложнением у больных ММ является почечная недостаточность [6-8]. Причиной развития нефропатии при ММ является повреждение нефрона секретлируемым моноклональным иммуноглобулином и/или его фрагментами. В 90% случаев нефропатия развивается при секретиции моноклональных легких цепей Ig — белка Бенс-Джонса (BJ) [8]. При фильтрации легких цепей иммуноглобулинов через гломерулярный фильтр и нарушении процессов канальцевой реабсорбции свободные легкие цепи попадают в мочу и обнаруживаются при электрофоретическом анализе белка мочи [3].

Вследствие выше сказанного параллельно с исследованием сыворотки крови проводился электрофорез белков мочи на наличие белка BJ с предварительным количественным определением общего белка мочи.

Содержание белка в моче в каждой из 3-х групп имело свои особенности.

В первой группе больных при нормальном общем белке сыворотки крови повышение уровня белка в моче наблюдалось у 40% больных. У всех больных на электрофореграмме мочи определялся М-пик. Эти данные дают основание предполагать повышение белка в моче за счет белка BJ.

Во второй группе больных с повышенным уровнем белка сыворотки крови содержание белка в моче повышалось у 66,7% больных. При этом у 16% больных при повышенном белке в моче не определялся на фореграмме М-пик в моче. По-видимому, повышение содержания белка в моче у этих больных вызвано патологией

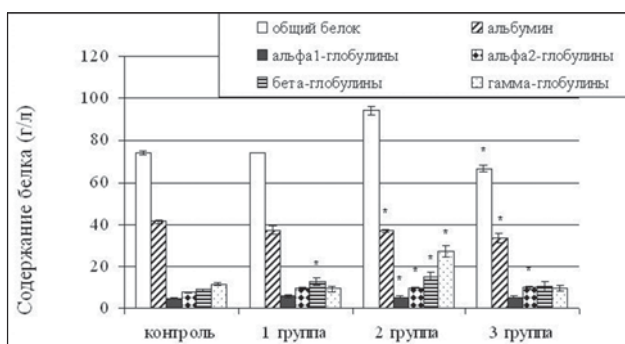


Рис. 2. Количественное распределение общего белка и белковых фракций в сыворотке крови здоровых и пациентов с ММ по группам. (\*) помечены статистически значимые отличия от нормального уровня белка в сыворотке крови.

почек, не связанной с ММ, а белок ВJ не образуется в количестве достаточном для обнаружения в моче. У 50,7% больных из второй группы повышенный белок сопровождался М-пиком на фореграмме. Эти данные дают основание предполагать повышение белка в моче за счет белка ВJ.

В третьей группе больных с пониженным уровнем белка сыворотки крови содержание белка в моче повышалось у 100% больных. У 60% больных этой группы методом капиллярного электрофореза мочи был выявлен М-пик и идентифицирован ВJ. У 40% отмечалось повышение содержания белка в моче без М-пика на электрофореграмме, т.е. у этих больных ВJ в моче не обнаруживался и патология почек была вызвана другими факторами.

Заболевание ММ относится к парапротеинемиям, для которых характерно увеличение содержания белков в крови. В зависимости от тяжести заболевания содержание общего белка и М-белка в крови больного различно. При незначительной секреции ПП содержание общего белка в крови может не изменяться, гиперпротеинемия не формироваться и отсутствовать белок в моче. В нашем исследовании относительно контрольной группы таких больных оказалось 3%. Если сравнить с референсными значениями (64-85 г/л) [9], то в эту группу попали бы 12% исследованных нами больных ММ.

При обследовании таких пациентов в клинике, при отсутствии других результатов исследований, патология может быть не обнаружена. Наличие патологических белков в крови отражалось в этих случаях только на электрофореграмме, выполненной методом капиллярного электрофореза. Поэтому, анализируя полученные результаты, можно прийти к выводу, что нельзя делать заключения о состоянии здоровья пациента только на основании содержания общего белка в крови и моче.

У 20% пациентов в нашем исследовании наблюдалось снижение содержания общего белка сыворотки крови. У таких больных врач скорее заподозрит патологию почек, печени, кишечника. Информация, полученная с помощью электрофореза белков, позволяет сузить количество необходимых для постановки диагноза исследований.

При обследовании больных на наличие ПП необходимо проводить исследование параллельно в сыворотке крови и моче, так как отсутствие патологического белка в крови не обязательно означает его отсутствие в моче. В нашем исследовании в трёх случаях ПП выявлялся только в моче.

Приведенные данные показывают, что выполнение капиллярного электрофореза крови и мочи позволяет выявить наличие ПП на ранней стадии заболевания. Врач клинко-диагностической лаборатории (КДЛ), получив результаты электрофоретического разделения белков сыворотки крови и мочи, при выявлении моноклональной фракции должен провести иммунофиксацию для подтверждения наличия ПП и идентификации класса патологического иммуноглобулина. При подтверждении дать рекомендацию о консультации больного у гематолога. На сегодняшний день электрофоретический метод в КДЛ является скрининговым и стоит у истоков ранней диагностики ММ, позволяет отслеживать патологический процесс и проводить адекватную терапию. Простота и доступность этого метода, а также неоспоримые преимущества, которые он даёт при выполнении измерений, позволяют надеяться на динамичное развитие методического обеспечения и скорейшее включение капиллярного электрофореза в обязательный перечень биохимических методов анализа, наиболее часто применяемых в повседневной лабораторной практике клиническими врачами.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М. Множественная миелома. — СПб.: Диалект, 2004. — 446с.
  2. Воробьев А.И. Руководство по гематологии. — М.: Нью-диамед, 2003. — С.151-184.
  3. Долгов В.В., Шевченко О.П. Лабораторная диагностика нарушений обмена белков: Учебное пособие. — М.: Эко-Мед-Полл, 1997. — С. 3-34.
  4. Лапин С.В., Тотолян А.А. Иммунологическая лабораторная диагностика аутоиммунных заболеваний. — СПб.: Человек, 2010. — 272 с.
  5. Лапин С.В., Мазинг А.В., Эмануэль В.М. Современные подходы к диагностике парапротеинемий. Оснащение современной лаборатории. // Справочник заведующего КДЛ — 2011. — №6. — С. 17-21.
  6. Сендерова О.М., Орлова Г.М. Почечная недостаточность у больных с различными иммунохимическими вариантами множественной миеломы. // Сборник тезисов VI съезда научного общества нефрологов России. — М., 2005. — С. 239.
  7. Сендерова О.М., Капорская Т.С., Силин А.П. Особенности поражения почек при миеломной болезни: клинические наблюдения // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). — 2006. — №1. — С. 90-92.
  8. Santostefano M., Zanchelli F., Zaccaria A., et al. The ultra structural basis of renal pathology in monoclonal gammopathies // J. Nephrol. — 2005. — Vol. 18. — P. 659-675.
- Информация об авторах:** Гуцол Людмила Олеговна — доцент кафедры, к.б.н., e-mail: gutzol@list.ru; Колесниченко Лариса Станиславовна — заведующий кафедрой, профессор, д.м.н., e-mail: kolesnichenko@mail.ru, 664003, г. Иркутск, ул.Красного Восстания,1; Трубникова Татьяна Ивановна — врач лаборатории биохимии, e-mail: tayatrubnikova@mail.ru; Гаврилов Сергей Сергеевич — врач лаборатории биохимии, e-mail: sergeigavrilov@mail.ru, 664047, Иркутск, ул. Байкальская, 109.