

Электрофорез

- ***направленное перемещение ионов в электропроводящем растворе под действием внешнего электрического поля***
- заряженные частицы перемещаются к аноду или катоду в зависимости от заряда
- после начала электрофореза скорость движения сначала увеличивается, пока не уравновесит силу трения, затем частицы продолжают двигаться с постоянной скоростью

- Размеры молекул простых и сложных белков, нуклеиновых кислот в растворе по своим размерам соответствуют коллоидным частицам
- Несут определенный электрический заряд за счет групп, способных к диссоциации
- Заряд белка зависит от
 - аминокислотного состава
 - других групп, способных к диссоциации
 - pH среды (изменяя, можно обеспечить положительный или отрицательный заряд определенной величины)

Факторы, определяющие электрофоретическую подвижность белков

- Величина заряда
- Размер белковой молекулы
- Форма белковой молекулы (чем менее шарообразна, тем больше тормозится движение молекулы)
- При электрофорезе выделяется тепло – снижается вязкость – увеличивается электрофоретическая подвижность (но и усиление диффузии и размывание зон)

Факторы, определяющие электрофоретическую подвижность белков

- Для стабилизации зон используют:
 - в жидкой среде – использование **градиента плотности**
 - введение в среду твердых носителей (**поддерживающая среда**). Носители имеют пористую или волокнистую структуру, увеличивается разрешающая способность электрофореза.
Упрощается визуализация образовавшихся фракций

Факторы, определяющие электрофоретическую подвижность белков

Недостаток – носители имеют полярные группы (целлюлоза – карбоксильные, агар – сульфогруппы и др.) Они связывают гидроксильные ионы, содержащиеся в буферном растворе. Поверхность носителя приобретает отрицательный заряд, а в растворе накапливаются положительно заряженные ионы.

При подключении постоянного тока эти ионы начинают двигаться к катоду, создавая поток жидкости. Такое перемещение электролита в противоположном электрическому току - **эндоосмос**)

Электрофорез белков плазмы крови

Электрофорез белков плазмы крови проводят, как правило, в щелочном буфере, при котором белки приобретают отрицательный заряд и мигрируют к аноду. Если скорость миграции белка выше эндосмоса, белок смещается к аноду. При равенстве скорости миграции и эндоосмоса белок остается на месте. Если эндосмос превышает анодную подвижность белка, белок перемещается к катоду. Явление электроэндоосмоса иногда используют для достижения более высокого разрешения.

- При добавлении к среде NaCl ионы Na^+ взаимодействуют с отрицательно заряженными группами белка, уменьшается суммарный отрицательный заряд, снижается скорость его движения к аноду – улучшается разделение белковых фракций. Высокоразрешающий электрофорез проводят в буферных системах с большой ионной силой

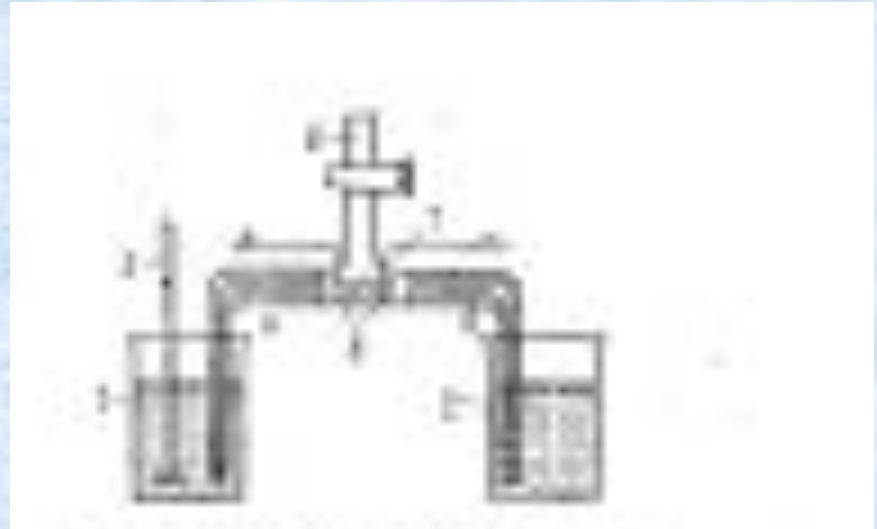
Факторы, определяющие электрофоретическую подвижность белков

Свойства разделяемых веществ	Суммарный заряд, величина и форма молекул
Свойства носителя	Структура, эндоосмос
Свойства буферного раствора	pH, ионная сила
Условия проведения электрофореза	Температура, сила тока

Виды электрофореза

- **Электрофорез с подвижной границей** – разделение идет в жидкой среде в U-образной кювете. Исследуемый образец помещается в нижнюю часть, одно колено заполняют буферным раствором. Под действием электрического поля заряженные частицы смещаются в сторону противоположно заряженного электрода.
- О скорости миграции судят по перемещению границы. Результаты фиксируются оптической системой
- Из-за диффузии границы зон нечеткие

к



Камера Тизелиуса

Виды электрофореза

- **Зональный электрофорез в поддерживающей среде** – обеспечивает стабильность зон, используется непрерывная буферная система. В оба электродных сосуда вносится один буферный раствор
- Снижается влияние диффузии и конвекции
- Проводят на природных (ацетатцеллюлоза, крахмал, агар, агароза) и синтетических носителях
- Носители имеют структуру
 - волоконистую (целлюлоза)
 - пористую (ацетатцеллюлоза, гели)

Носители готовятся в виде

- пленок (ацетатцеллюлоза)
- порошка (полиамид)
- блоков (крахмал, агар, агароза, полиакриламид)

На электрофоретическую подвижность влияют

- **адсорбция молекул** исследуемого вещества на поверхности раздела фаз
- **Присутствие ионогенных групп** в носителях (целлюлоза – карбоксильные, агар – сульфогруппы, стекло – силанольные). Появление обратного тока электролита (электроэндоосмос) и удержание на поверхности носителя некоторого количества разделяемых молекул
- **Испарение электролита** – изменение ионной силы и рН буферного раствора
- **Торможение движения молекул** в волокнистых и пористых материалах

Зональный электрофорез на бумаге



- Имеет две электродные камеры, между ними – приспособление для поддержания бумаги. Влажная камера уменьшает испарение.

- Специальная бумага пропитывается буферным раствором, наносится образец и подключается ток
- За ходом электрофореза наблюдают с помощью окрашенного вещества
- После электрофореза бумагу высушивают и окрашивают

Зональный электрофорез на бумаге

- Недостатки метода:
 - неоднородность по структуре
 - при волокнистой структуре частицы движутся как в капиллярах (торможение движения)
 - содержит отрицательно заряженные карбоксильные группы, имеющие отрицательный заряд
 - испарение жидкости с поверхности вызывает дополнительный поток электролита. Повышается его ионная сила

Метод имеет историческое значение, используются другие носители

Зональный электрофорез на ацетатцеллюлозе

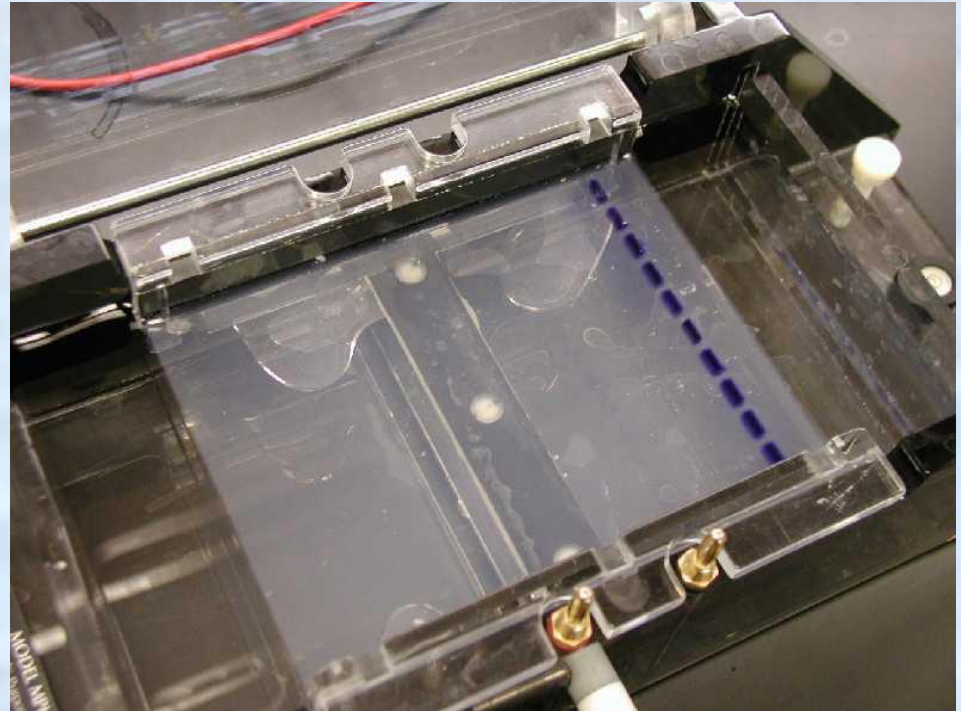


- Пленки имеют однородную структуру
- Диаметр пор – несколько микрон
- Не содержат ионогенных групп
- Низкая сорбция белков
- Может использоваться иммуноэлектрофореза

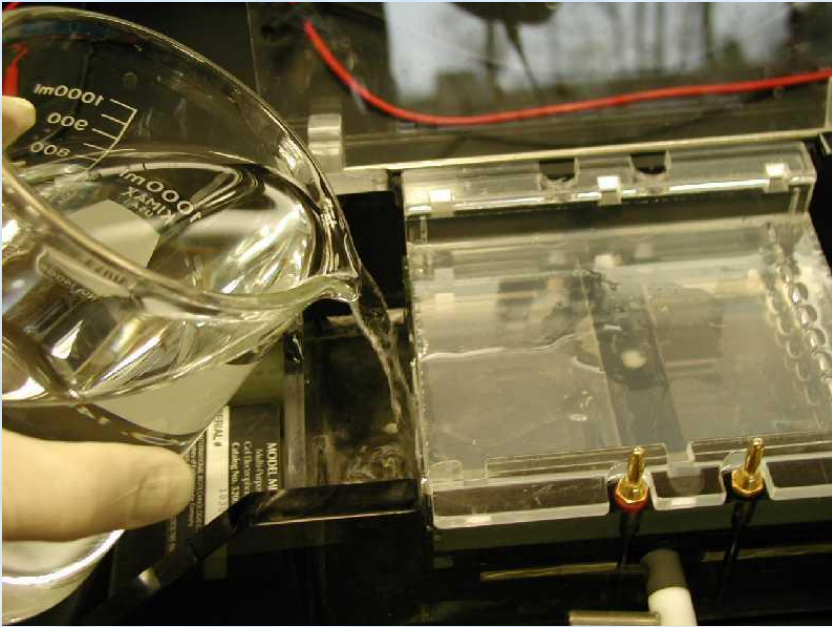
Камера для электрофореза для ацетатцеллюлозной пленке

Преимущества-

- достаточно высокая чувствительность
- высокая разрешающая способность
- небольшие затраты труда и времени
- возможность использовать как микрометод (до 3 мкл сыворотки крови)



Зональный электрофорез на ацетатцеллюлозе



Пленку смачивают буферным раствором, избыток буфера удаляют, пленку помещают в прибор для электрофореза, наносят пробы (8-16 образцов).

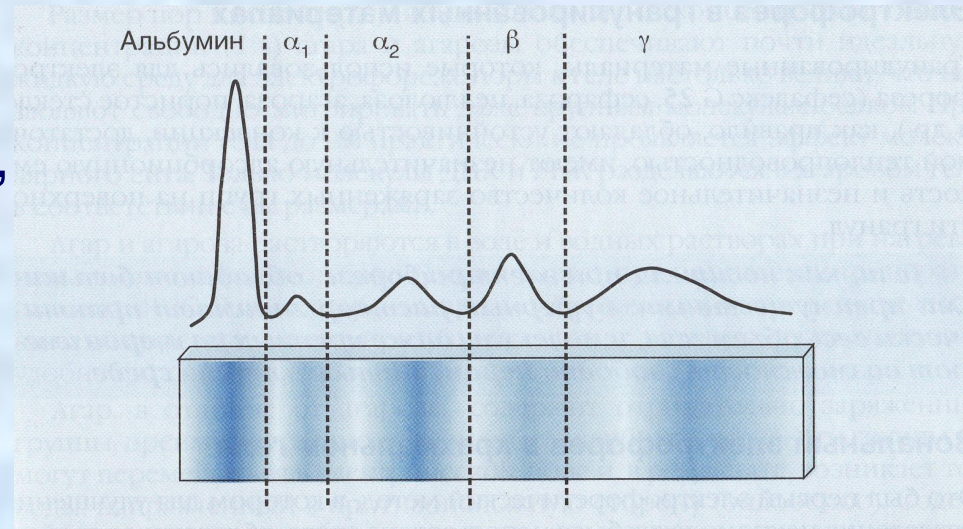
При подключении тока пробы мигрируют к аноду.

Время разделения – не менее 30 мин.

Белки разделяются на 5-6 фракций.

Фракции белков сыворотки крови при электрофорезе на ацетатцеллюлозе

После окончания электрофореза пленка удаляется, подсушивается, фракции белка фиксируются и окрашиваются (пунцовый или амидовый черный). Оцениваются методом денситометрии. Метод широко используется в клинико-диагностических исследованиях



Приборы для электрофореза для ацетатцеллюлозной пленке



Аппарат для электрофореза



Электрофорез в гранулированных материалах

- ***Зональный электрофорез в крахмальном геле***
 - сложность приготовления крахмального геля
 - нестабильность состава геля
 - недостаточно высокая скорость диффузии
 - крупные молекулы белков (Ig M, ЛП) или асимметричные молекулы (фибриноген) не проникают в крахмальный гель

Электрофорез в гранулированных материалах

- ***Зональный электрофорез в геле агара и агарозы***
 - электрофорез идет как в жидкой среде, но меньше свободная диффузия
 - размер пор зависит от концентрации агара и агарозы (1% - поры велики, и могут мигрировать даже крупные молекулы, 2% - нет эффекта молекулярного сита).
 - агар содержит отрицательно заряженные группы
 - растворяются при нагревании, застывают при $t < 40^\circ \text{C}$ с образованием прозрачной пленки
 - при разделении сывороточных белков получается 8-11 полос
 - используя высокоочищенную агарозу, высокую ионную силу буфера получают электрофорез с высоким разрешением
 - хорошо сочетается с иммунопроявлением и иммунофиксацией

Электрофорез в гранулированных материалах

- **Электрофорез в полиакриламидном геле**
- Синтетический материал с капиллярной структурой
- Размеры пор могут быть сопоставимы с размерами белковых молекул
- Подвижность молекул находится в обратной зависимости от среднего размера пор в геле – разделение происходит не только по заряду, но и по размеру.
- Гель прозрачен, механически прочен, химически устойчив и инертен
- Можно использовать в широком диапазоне pH, ионной силы, температуры

Электрофорез в полиакриламидном геле

- **Варианты :**
 - в однородной буферной системе
 - в неоднородной (прерывистой) буферной системе
 - с градиентом пористости
 - изоэлектрическое фокусирование
 - изотахофорез
 - двухмерный электрофорез

Диск-электрофорез

- Используется неоднородная разделяющая система – образуются зоны, имеющие форму диска
- Разделение белков проводится в геле с различным размером пор, применяются буферы с разным значением рН – создается прерывистый градиент электрического потенциала и рН

Диск-электрофорез

Верхний и нижний сосуды с электродами. Стеклянные трубки заполняются разделяющим гелем, сверху – крупнопористый концентрирующий гель. Проба смешивается со стартовым гелем.

В стартовом и концентрирующем геле концентрируются белки

В разделительном геле белки разделяются по размеру и заряду молекул

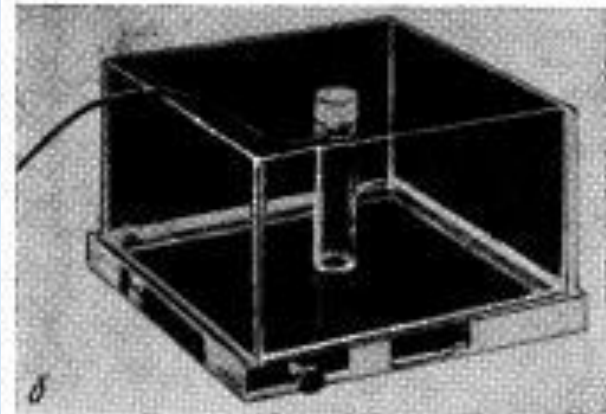
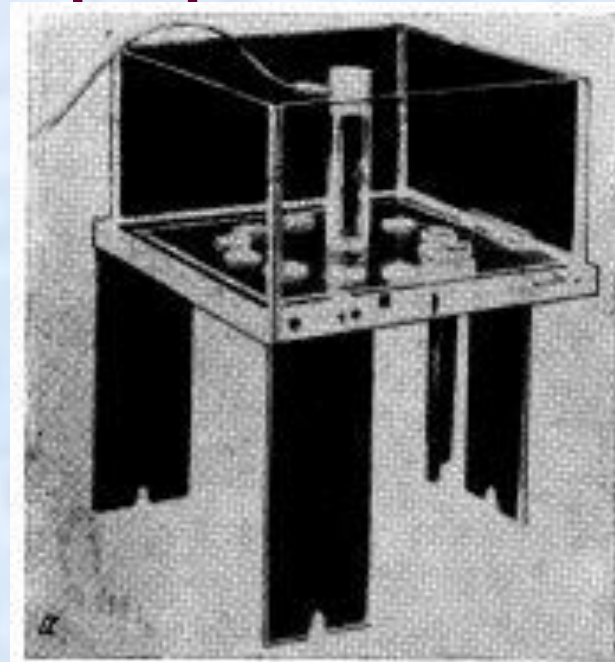


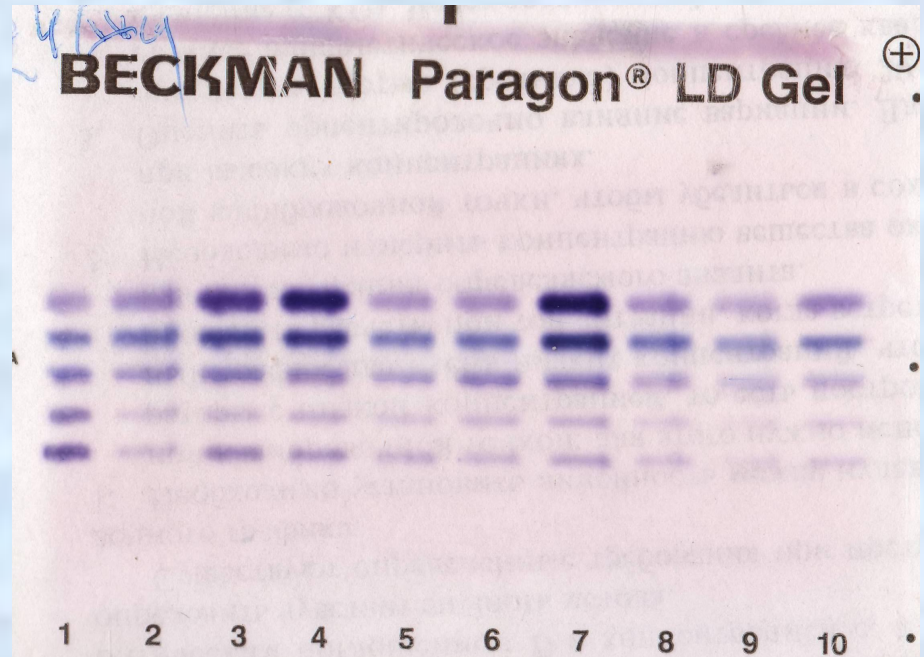
Рис. 99. Прибор для электрофореза в полиакриламидном геле:
а — верхний; б — нижний буферный резервуары.

Диск-электрофорез в полиариламидном геле

Преимущества:

Гель прозрачен, при высушивании дает тонкую прозрачную пленку

После окрашивания возможна количественная оценка фракций

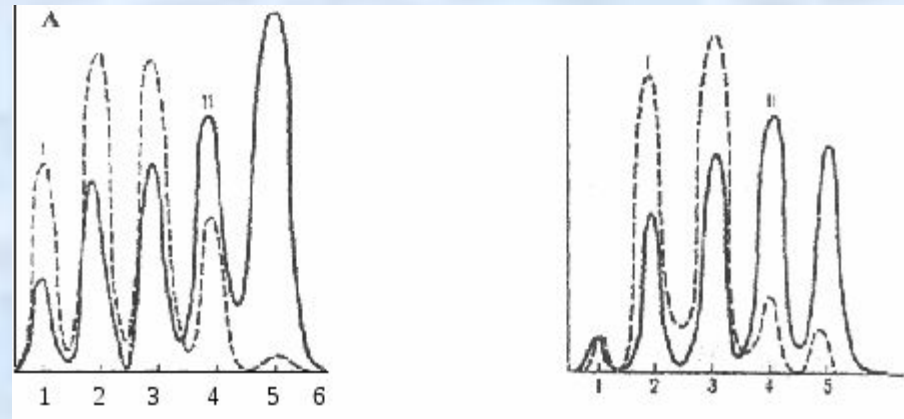


Тест-набор для электрофореза



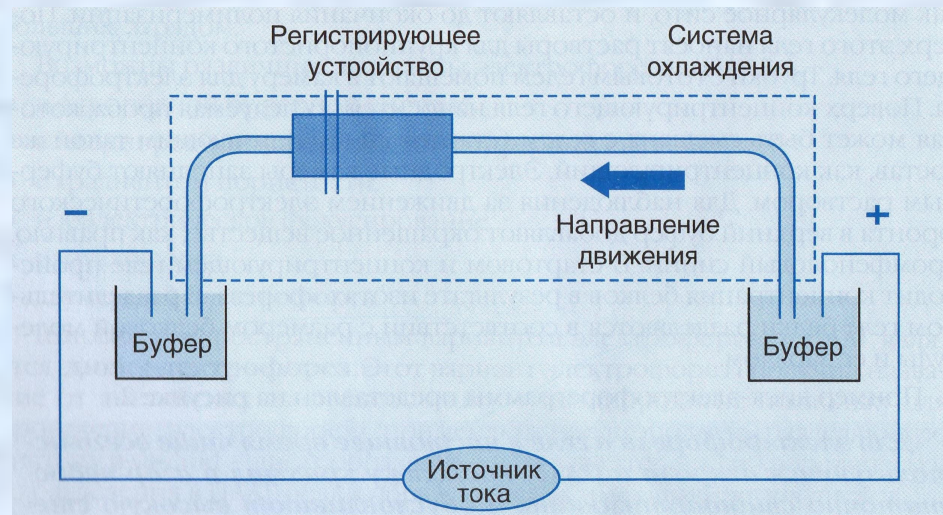
Диск-электрофорез

Количественная
оценка фракций
проводится
денситометрически



Капиллярный электрофорез

- В качестве камеры используется тонкостенный кварцевый капилляр (внутренний диаметр <math><100\text{ мкм}</math>)
- Высокое напряжение электрического поля
- Продолжительность разделения – 5-30 мин



Миграция белков при капиллярном электрофорезе

- Разделение происходит за счет движения под действием электрического поля и тока жидкости, образующейся в результате эндоосмоса и направленной в противоположном направлении
- Стенка капилляра имеет отрицательный заряд, буфер заряжен положительно

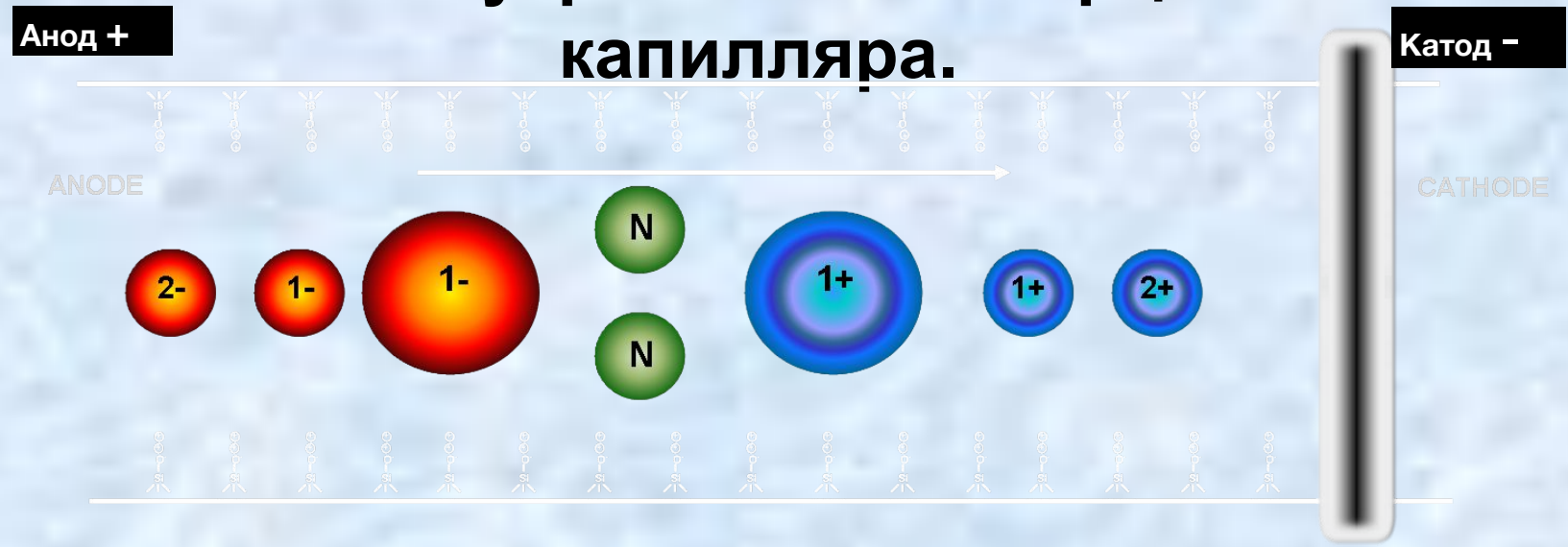


Направление движения белков определяется соотношением: электроосмотическая подвижность превышает скорость миграции под действием внешнего электрического поля. В результате белки сыворотки крови мигрируют к отрицательно заряженному катоду



Капиллярный электрофорез (СЕ)

Оборудование, предназначенное для разделения образцов анализируемой смеси на компоненты, посредством взаимодействия пробы с электрическим полем внутри тонкого кварцевого капилляра.



Основы капиллярного электрофореза

Разделение аналитов основано на их распределении по величине электрического заряда.



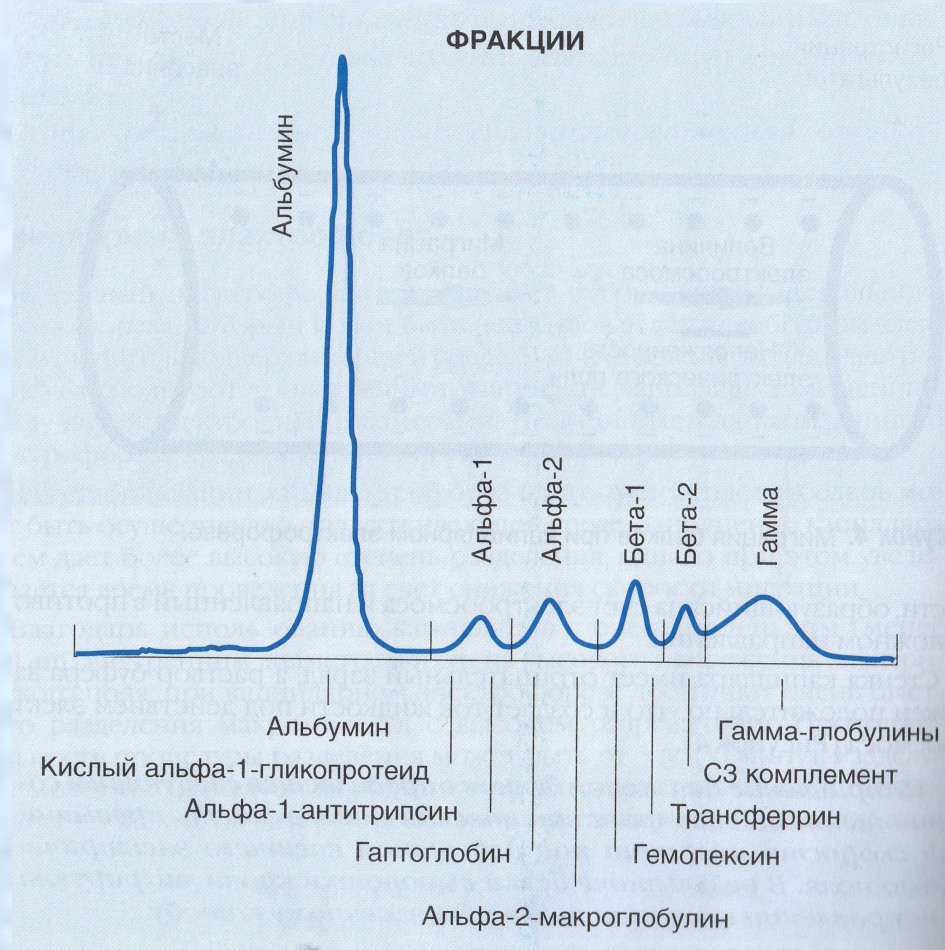
Разделение смеси основано на разнице заряда и скорости прохождения аналитов через детектор.

Результаты разделения и идентификации белков с использованием капиллярного электрофореза

Регистрация – детекторы УФ излучения, лазерные нефелометры, спектрофлуориметры

Преимущества –

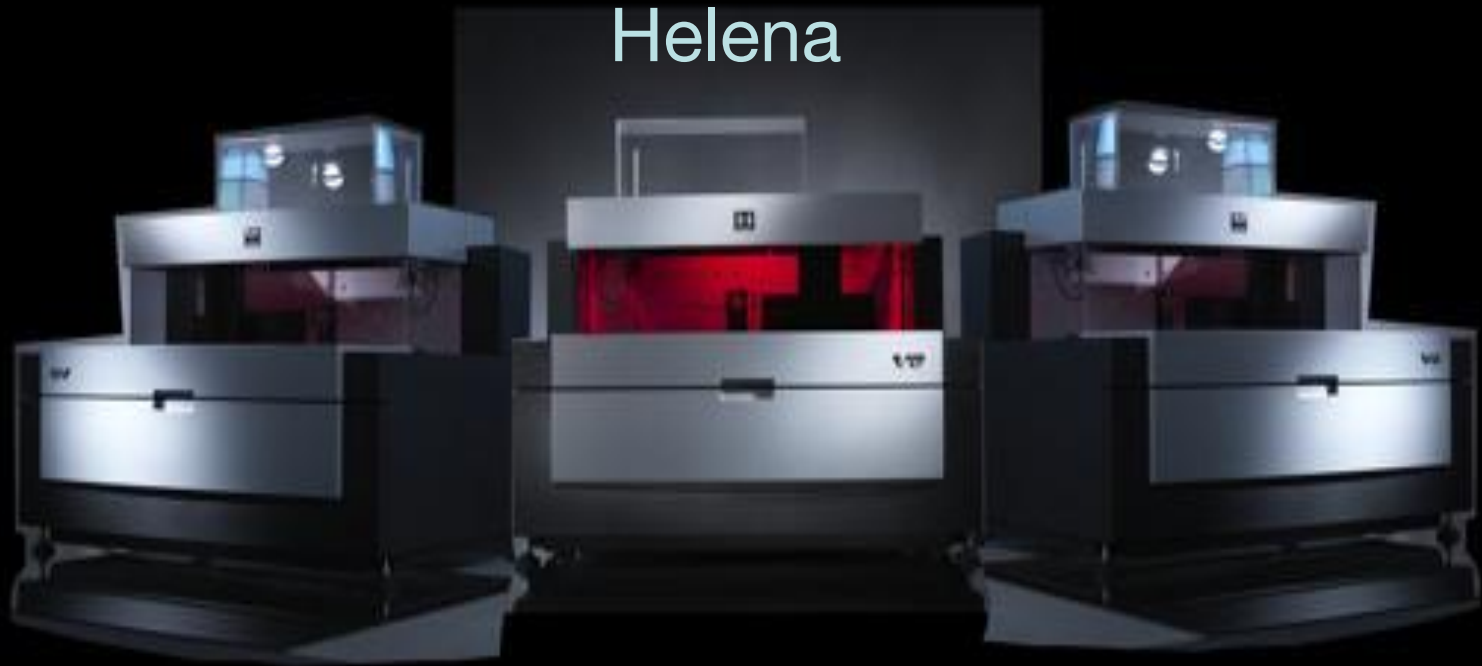
- высокое разрешение
- высокая воспроизводимость
- высокая продуктивность (более 100 образцов в час)



СОВРЕМЕННЫЙ КАПИЛЛЯРНЫЙ ЭЛЕКТРОФОРЕЗ

Знакомьтесь – V8 – новое решение от компании

Helena



V8

Стационарный электрофорез

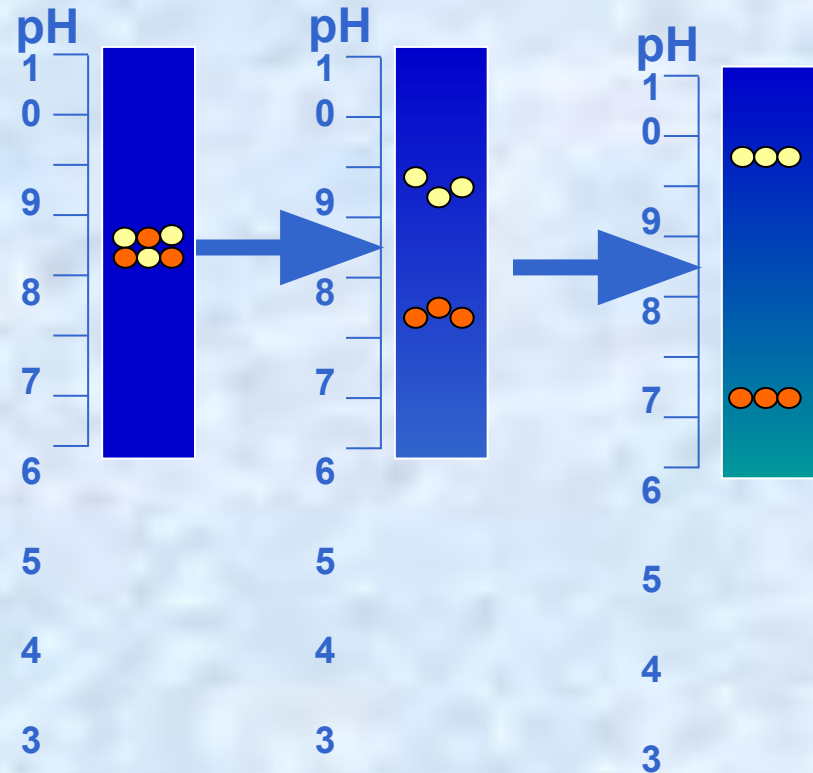
- Через некоторое время после начала разделения макромолекул достигается распределение компонентов смеси, и ширина зон в дальнейшем не изменяется
- ***Изоэлектрическое фокусирование***
- ***Изотахорофорез***

Изоэлектрическое фокусирование

- **Метод разделения веществ, обладающих амфотерными свойствами, в соответствии с значением их изоэлектрической точки в среде с градиентом pH.**
- Молекулы белков мигрируют в градиенте pH, пока не достигнут положения где заряд = 0.
- В результате молекулы, имеющие одинаковые ИЭТ, концентрируются в узкой зоне
- Используются амфолиты с определенным диапазоном pH. Ионы амфолита перемещаются до того места, где pH соответствует их ИЭТ
- Градиент pH можно получить:
 - При наложении буферных растворов с различными значениями pH
 - За счет создания градиента температуры

pH

- Метод разделения макромолекул, основанный на их миграции в градиенте значений pH под действием постоянного электрического поля.
- pI- изоэлектрическая точка, в которой белок имеет общий заряд равный нулю
- Белки могут распадаться имея разницу всего лишь в несколько сотых единицы-pH
- IEF не требователен к нанесению образца в ограниченный участок для оптимального разделения
- Возможность нанесения разведенных образцов многократно
- Концентрация образца предельно низкая в сравнении с другими электрофоретическими методами
- Нет денатурации белков, которая может препятствовать последующим действиям, таким как окрашивание или иммунопреципитации



Изоэлектрическое фокусирование

При использовании градиента плотности разделение проводят в стеклянной вертикальной колонке. Амфолиты наслаивают друг на друга.

Обеспечивается получение очень узких полос. После отключения тока зоны могут расширяться за счет диффузии

В основном проводится в ПААГ



Преимущества разделения белков с помощью изоэлектрического фокусирования в ПААГ

- высокая разрешающая способность за счет того, что в гелях фиксация белков происходит быстрее, чем в растворе с градиентом плотности, и зоны не успевают расшириться,
- меньшая, чем при изоэлектрофокусировании в градиенте плотности, продолжительность;
- простота выполнения,
- возможность использования любого прибора, предназначенного для электрофореза в полиакриламидном геле,
- на процесс разделения не влияет возможное осаждение белков в изоэлектрической точке,
- возможность сочетания с иммуноэлектрофорезом,
- для проведения процедуры достаточно небольшого количества белка.

Изотахорез

- Метод электрофореза, при котором *молекулы под действием электрического поля разделяются в соответствии с зарядами, образуя узкие зоны, которые затем движутся с одинаковой скоростью, располагаясь друг за другом в соответствии с величиной подвижности каждой зоны.*
- Наблюдается автоматическое повышение резкости границ между зонами (эффект Кольрауша)
- Можно проводить в свободном электролите, на полосках из ацетатцеллюлозы, в ПААГ
- Разрешающая способность сопоставима с диск-электрофорезом или изоэлектрофокусированием

Оценка электрофореграмм

- Окрашивание специфическими красителями с последующей фотометрией
- Регистрация поглощения УФ-лучей и флуоресценции
- Иммунохимические методы
- Регистрация радиоактивности предварительно меченных молекул

Окрашивание

- Окрашиваются бумага, ацетат целлюлозы, агар, агароза, ПААГ
- Красители образуют комплексы с молекулами, но вымываются из среды
- Одновременно с окрашиванием проводится фиксация
- Оценка – с помощью денситометрического сканирования. Измеряется интенсивность прошедшего или отраженного света, результат регистрируется в виде кривой

ДЕНСИТОМЕТР



Современный гелевый электрофорез



SAS 1plus Helena – автоматическое нанесение, концентрирование и разделение образцов на агарозном геле



SAS 2 Helena – автоматическая обработка гелей: регулируемая окраска, обесцвечивание и сушка

Выявление по поглощению УФ-света и флуоресценции

- Регистрация поглощенного УФ света, проходящего через электрофореграммы на твердых прозрачных носителях
- Оптимальная длина волны для белковых фракций 280 нм
- Экстинкция зависит от содержания в белках тир и три
- Чувствительность метода до 1 мкг белка
- Облучение белков УФ светом (280 нм) вызывает их флуоресценцию, измерение проводят при 340 нм
- Чувствительность 0,5 мкг белка

Иммунопроявление и иммунофиксация

- Взаимодействие белков (антигенов) с со специфическими к ним антителами вызывает образование преципитата
- Иммуноэлектрофорез – комбинация простого электрофореза в геле и последующей иммунодиффузии
- Позволяет обнаруживать индивидуальные белки

Регистрация радиоактивности

- Увеличивает чувствительность метода
- Предварительно молекулы метятся радиоактивной меткой
- Радиоактивность обнаруживается при сканировании высушенных гелей с помощью счетчика

Типичные ошибки

- ***Ошибка при расчете объема исследуемого образца*** – избыточное количество приводит к искажению электрофореграммы
- Сыворотка крови содержит белки, отличающиеся по содержанию в десятки раз
- Избыточная концентрация белка искажает результаты

Типичные ошибки

- **Ошибки при подготовке образцов для исследования**
 - если использована плазма, а не сыворотка крови – появление дополнительной фракции между β - и γ -глобулинами
 - при исследовании гемолизированной сыворотки – усиление β -фракции
 - учитывать применение некоторых лекарственных препаратов.
Электрофоретическая подвижность альбумина, связанного с лекарственным препаратом может отличаться от обычной

Типичные ошибки

- **Свойства буферных растворов**
 - при близости рН к ИЭТ миграция замедлена
 - повторное использование буфера может привести к изменению рН
 - при хранении – изменение рН из-за жизнедеятельности микроорганизмов
 - неправильно подобранная ионная сила (чрезмерно высокая ионная сила приводит к замедлению миграции)

Типичные ошибки

- **Ошибки, связанные с электрической цепью**
 - отсутствие напряжения – отсутствие миграции
 - неправильная полярность – миграция в противоположную сторону
 - перепады напряжения - искажение электрофоретической картины
 - недостаточно высокое напряжение – слишком медленная миграция
 - слишком высокое напряжение - искажение электрофореграммы

Типичные ошибки при электрофорезе белков

Ошибка при проведении	Возможная проблема
Отсутствие напряжения в электрической сети	Отсутствие миграции белков
Несоблюдение полярности на электродах	Отсутствие миграции белков
Перепады напряжения	Искажение вида белковых фракций
Низкое напряжение	Слишком медленная миграция
Несоответствие pH буфера	Отсутствие миграции белков
Малый заряд молекулы	Слишком медленная миграция
Величина pH низкая или высокая	Преципитация на матрице

Типичные ошибки при электрофорезе белков

Величина pH низкая или высокая	Преципитация на матрице
Высокая ионная сила буфера	Слишком медленная миграция
Очень высокая концентрация аналита	Наличие непрокрашенных участков
Высокая молекулярная масса аналита	Слишком медленная миграция
Размер молекул аналита превышает размеры пор матрицы	Слишком тонкие и интенсивные полосы на электрофореграмме
Перегревание или высушивание матрицы	Деформация электрофореграмм по краям матрицы
Наличие солей в образце	Размытость стартового края полос

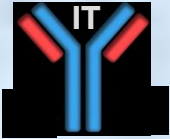
Роль электрофоретического анализа

- Определение типа электрофореграммы может подтвердить предполагаемый диагноз, выявить скрытую патологию, следить за ходом лечения
- **Абсолютным показанием** для исследования электрофореграммы является подозрение на миеломную болезнь, иммунодефицит.
- **Может быть полезным**
 - для диагностики заболеваний печени, нефротического синдрома, злокачественных новообразований, коллагенозов
 - при контроле течения заболеваний, при которых нарушается белковый состав сыворотки крови
 - при скрининге врожденного или приобретенного дефицита или аномалии белков
 - при снижении содержания общего белка < 60 г/л или повышении > 85 г/л, при снижении концентрации альбумина < 35 г/л и при увеличении СОЭ > 25 мм/час

СНАЧАЛА БОЛЬШОЕ
ЗАБЫЛИ НАС

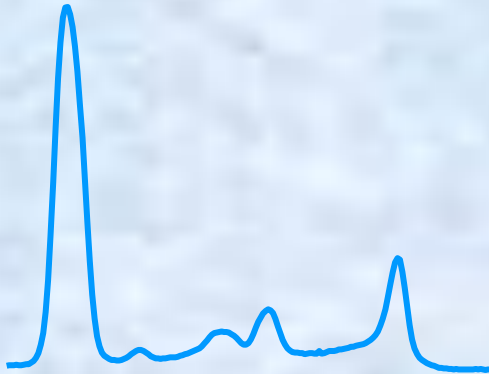
Иммунофиксация

- Иммунофиксация – качественный метод, позволяющий установить природу моноклонального компонента
- Методы определения – гелевый электрофорез на агарозе и капиллярный (иммунозамещение)
- Дополнительные полосы, которые обнаруживаются в гамма зонах, могут соответствовать моноклональным белкам, что указывает на наличие гаммапатий.
- В основе идентификации лежит реакция образования комплекса антиген-антитело, при добавлении к сыворотке пациента моноспецифических антител к IgG, IgM, IgA, к κ и λ -легким цепям.

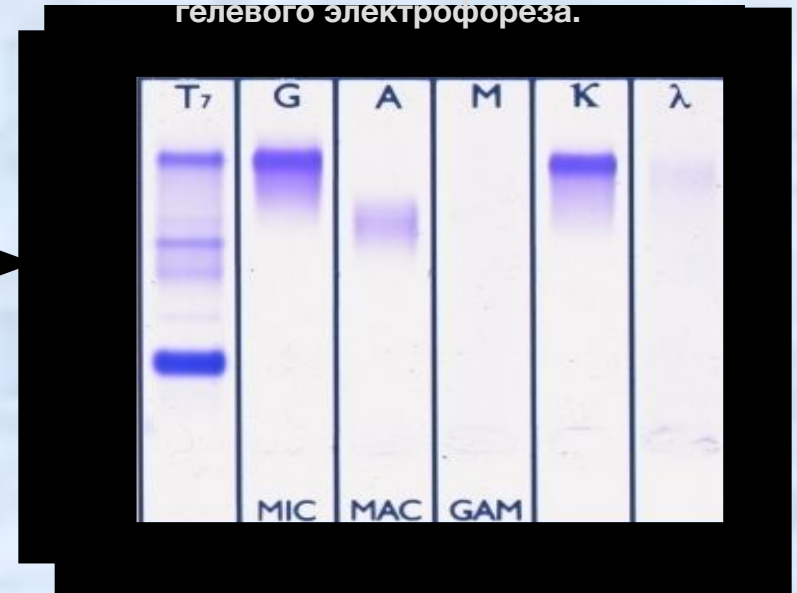


Иммунофиксация в гелевом электрофорезе

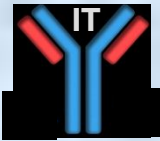
Выявление моноклональных гаммапатий



IgG κ



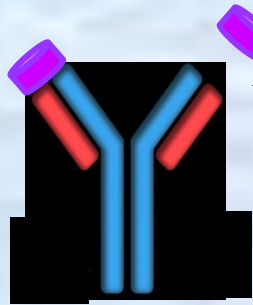
На агарозном геле разделение белков IFE в сыворотке происходит в соответствии с их зарядом. Затем белки инкубируют с моноклональными антисыворотками, промывают и окрашивают, проявившиеся иммунопреципитаты качественно интерпретируют.



Иммунотипирование в капиллярном электрофорезе

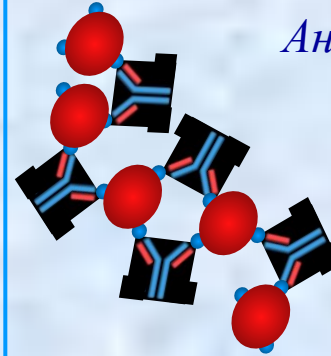
Выявление моноклональных гаммапатий

1.



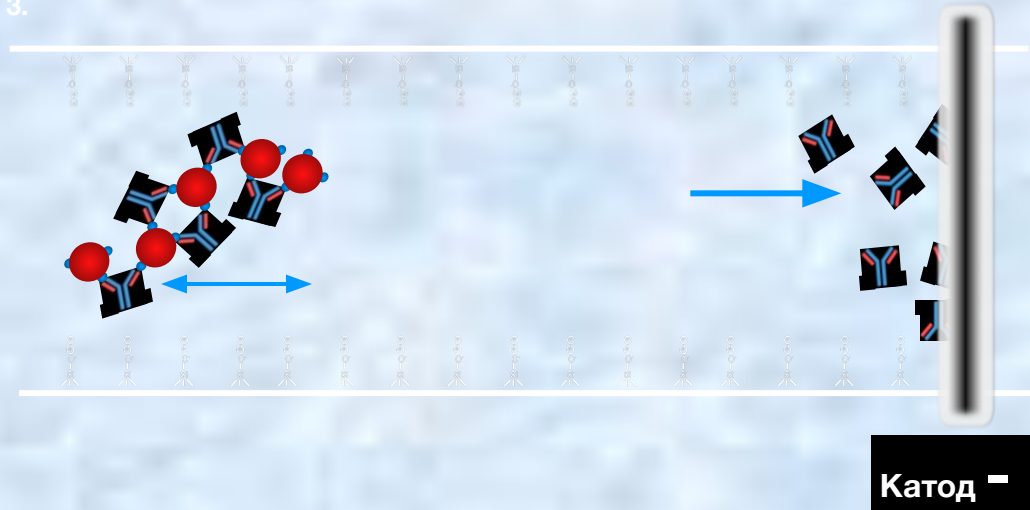
Антисыворотка добавляется непосредственно к пробе. Если есть антитела, то происходит образование комплекса Антиген-Антитело.

2.

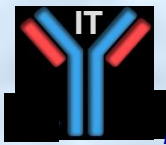


Антисыворотка передвигается по капилляру к катоду в соответствии с зарядом. Электрофоретическая подвижность комплекса Антиген-Антитело, значительно ниже.

3.



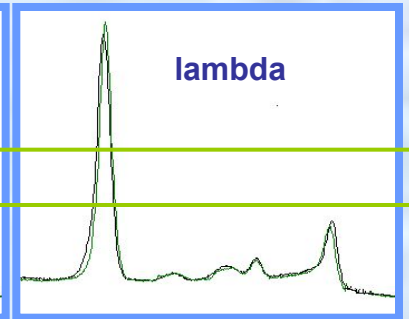
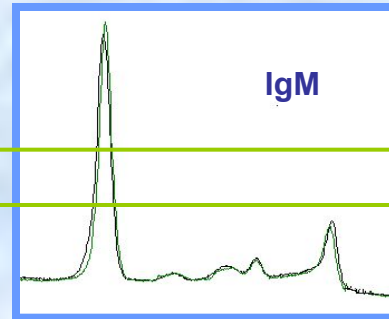
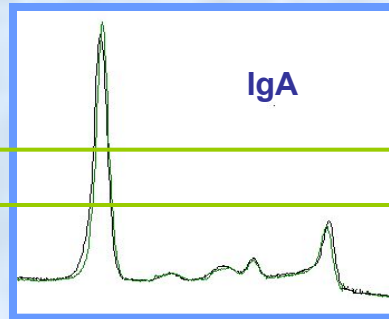
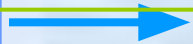
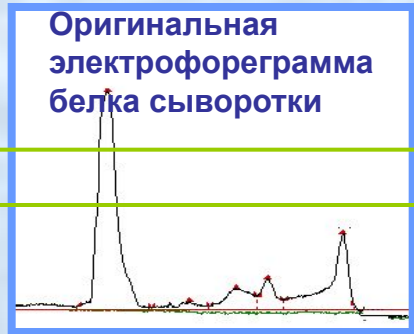
Комплекс антисыворотка-антитело детектируется при прохождении от анода к катоду. Моноклоны удаляются (замещаются) из электрофореграммы.



Иммунотипирование в капиллярном электрофорезе

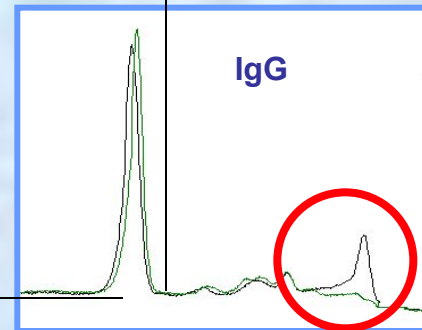
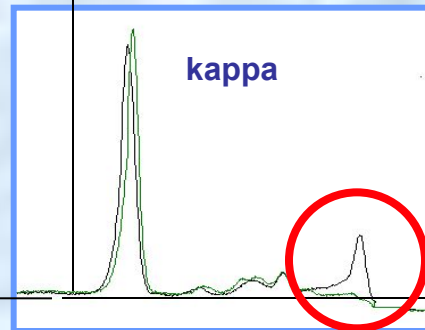
Выявление моноклональных гаммапатий

При иммунотипировании происходит наложение электрофореграммы с добавлением антисыворотки на электрофореграмму без добавления антисыворотки.



При наложении электрофореграмм, после добавления трех антисывороток, происходит почти полное совпадение контура без исчезновения пика в области гамма-зоны.

Из-за удаления (замещения) гамма глобулинов в течении проведения капиллярного электрофореза два наложения на оригинальную электрофореграмму будут показывать исчезновение пика из области гамма-зоны, те комплекс Ag-At будет перемещен в другую не видимую нами зону.



Можно сделать следующий вывод:
IgG kappa

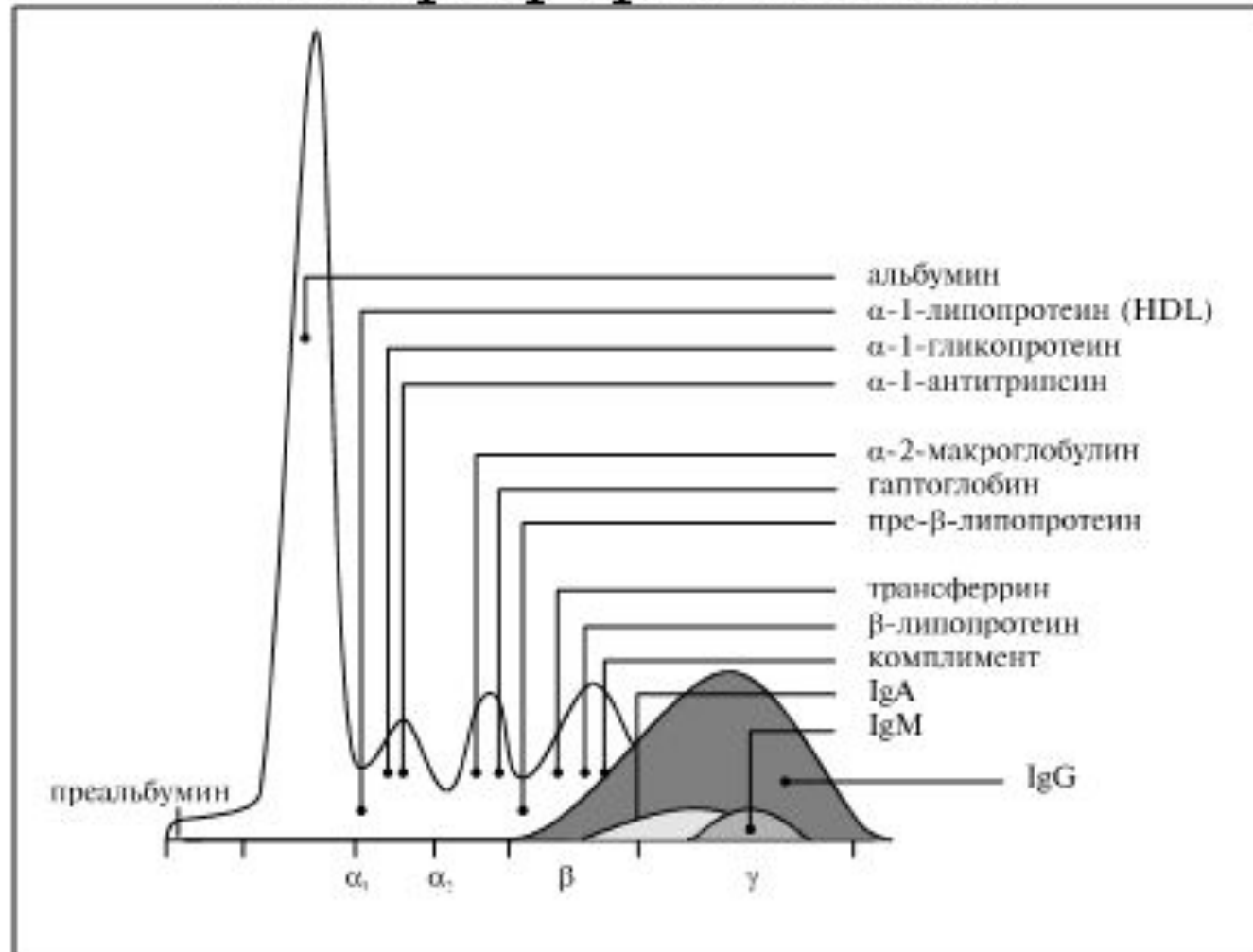
Методические подходы к определению белков

Группы белков	Что определяется	Методы
Общий белок	Общие свойства всех белков	Азотометрические Спектрофотометрические Фотометрические Рефрактометрические и т. д.
Белковые фракции	Группы белков, близких по физико-химическим свойствам	Электрофорез Хроматография Осаждение Гельфильтрация Седиментация
Индивидуальные белки	Индивидуальная иммунологическая специфичность белка	Иммунохимические (иммуноферментные, нефелометрия, иммунодиффузия и т.д.)

Электрофоретический метод является полуколичественным и не подлежит метрологическому контролю

Электрофоретические фракции и индивидуальные белки сыворотки крови здорового человека

Электрофорез белков



Электрофоретические фракции и составляющие их белки сыворотки крови

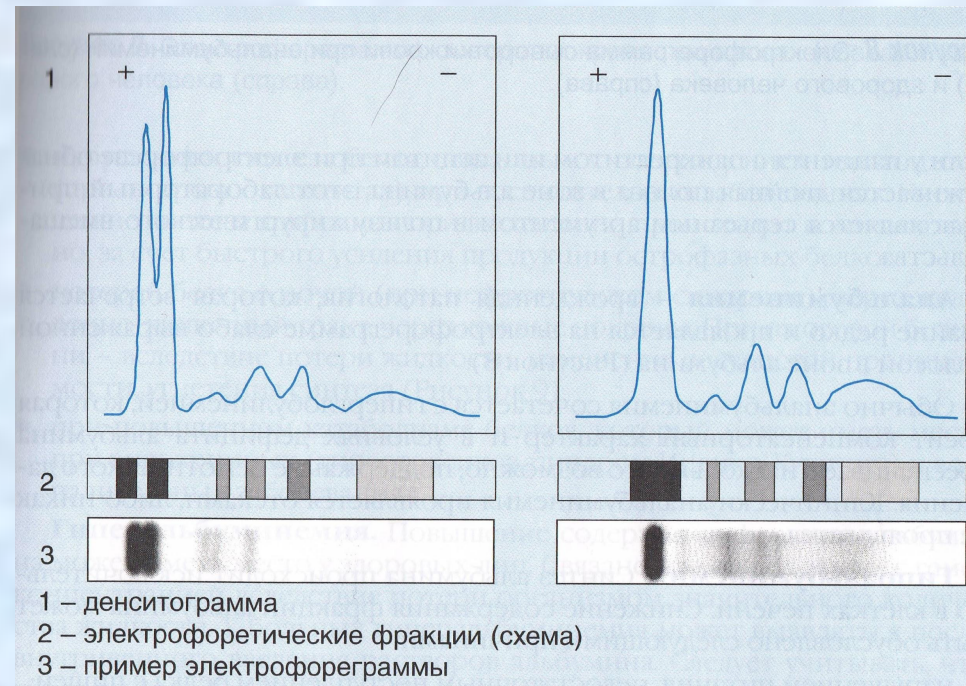
Зона (фракция)	Доминантные компоненты			Другие клинически значимые белки (минорные компоненты)
	Белки	Молекулярная масса, кДа	Средняя концентрация в сыворотке, г/л	
	Преальбумин	54	0,25	
Альбумин	Альбумин	66	44	
α_1 -глобулины	α -липопротеид			α_1 -антихимотрипсин
	α_1 -антитрипсин	55	2,9	
	кислый α_1 -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	

Фракции белков сыворотки крови

Фракции	Содержание в сыворотке	
	%	г/л
Альбумин	52-65	35-50
α_1 -глобулин	2-4,5	1-3
α_2 -глобулин	10-15	6-9
β -глобулин	6-13	4-9
γ -глобулин	10-19	6-13

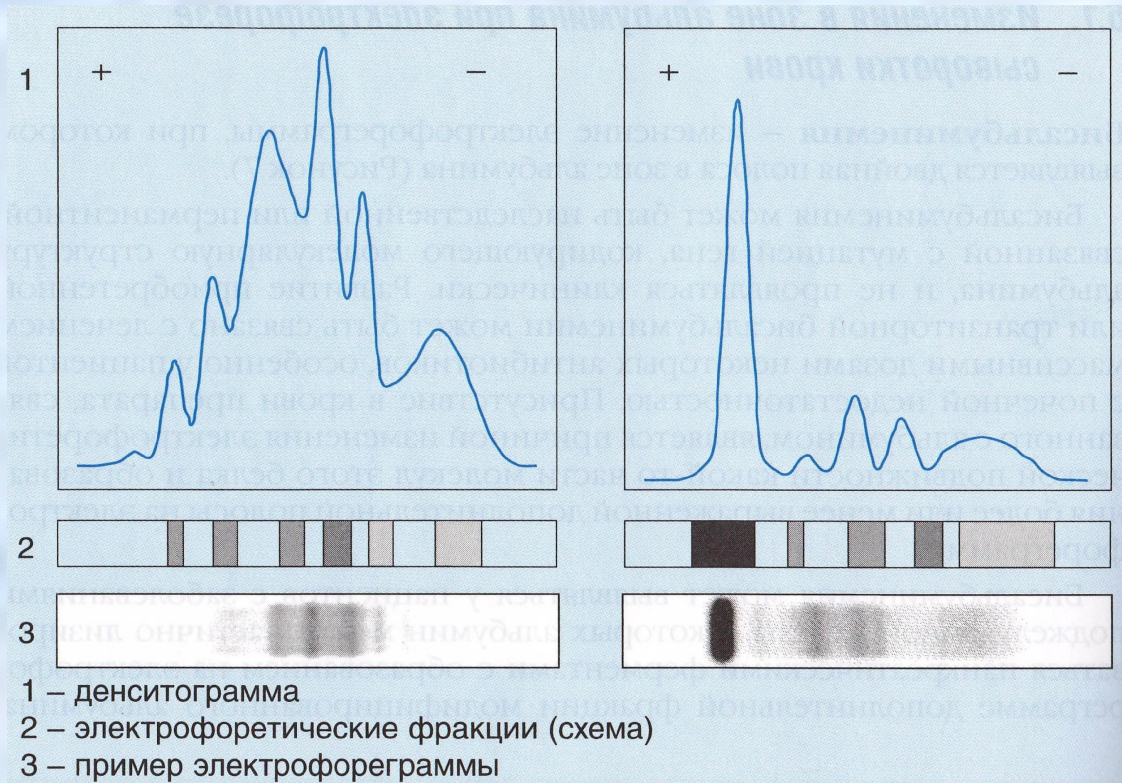
Электрофореграмма при бисальбуминемии

- Выявляется двойная полоса в зоне альбумина
- Может быть генетически обусловленной или транзиторной
- Причины: присутствие препарата, связанного с альбумином, заболевания поджелудочной железы (лизис ферментами)



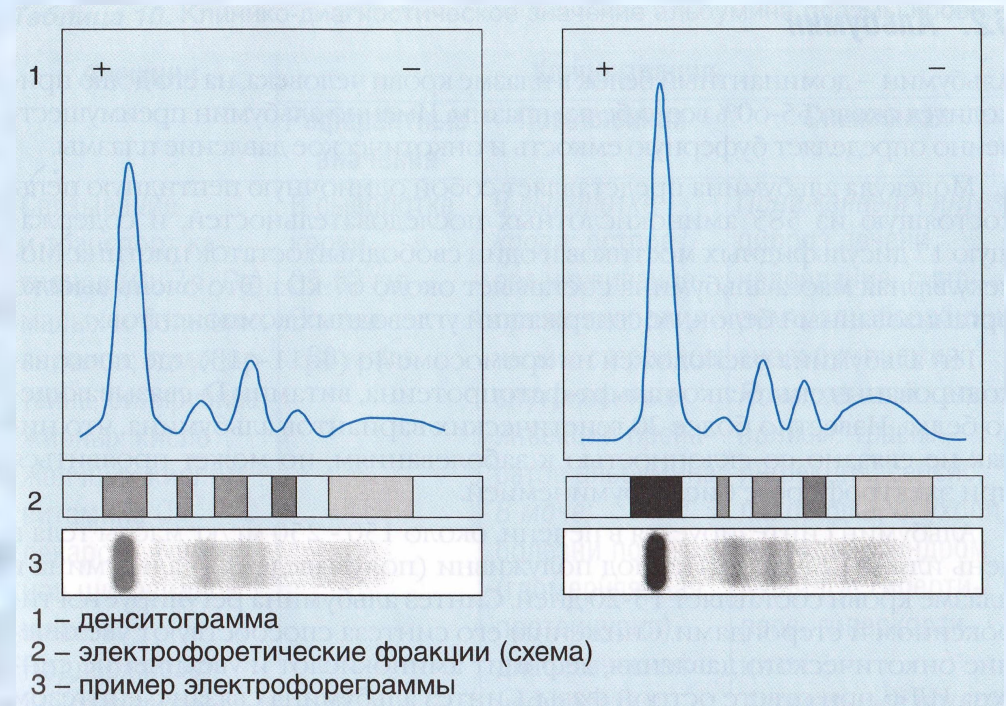
Электрофореграмма при анальбуминемии

Врожденная
патология
(встречается редко)
Сочетается с
гиперглобулинемией



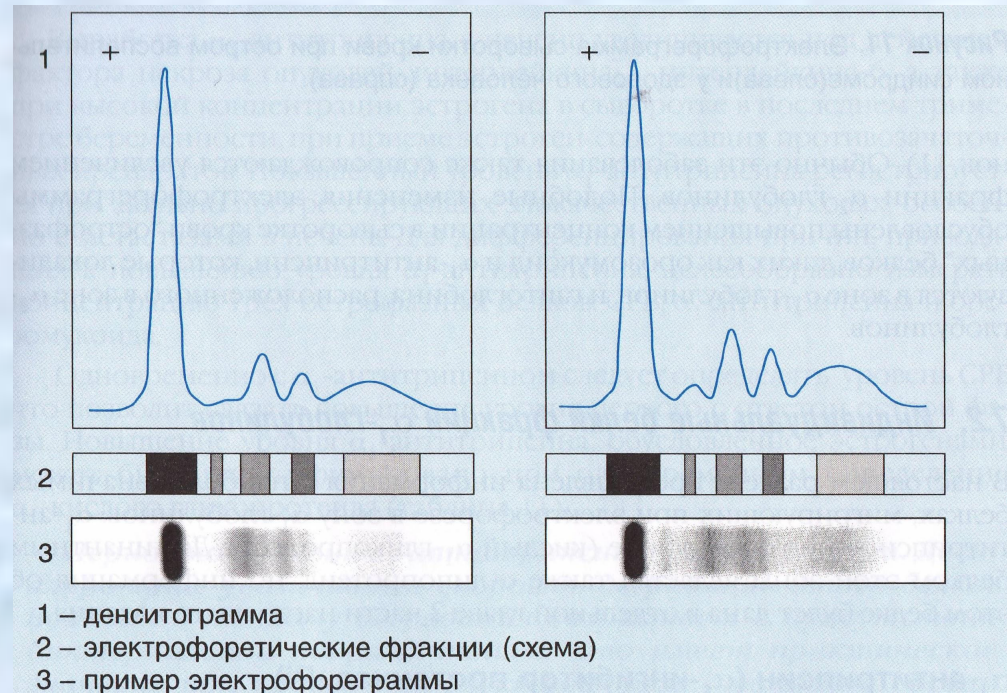
Электрофореграмма при ожогах

- Гипоальбуминемия
- Белковое голодание
- Нарушение всасывания в ЖКТ
- Нарушение синтеза белка
- Потери белка с мочой
- Повышение катаболизма белков



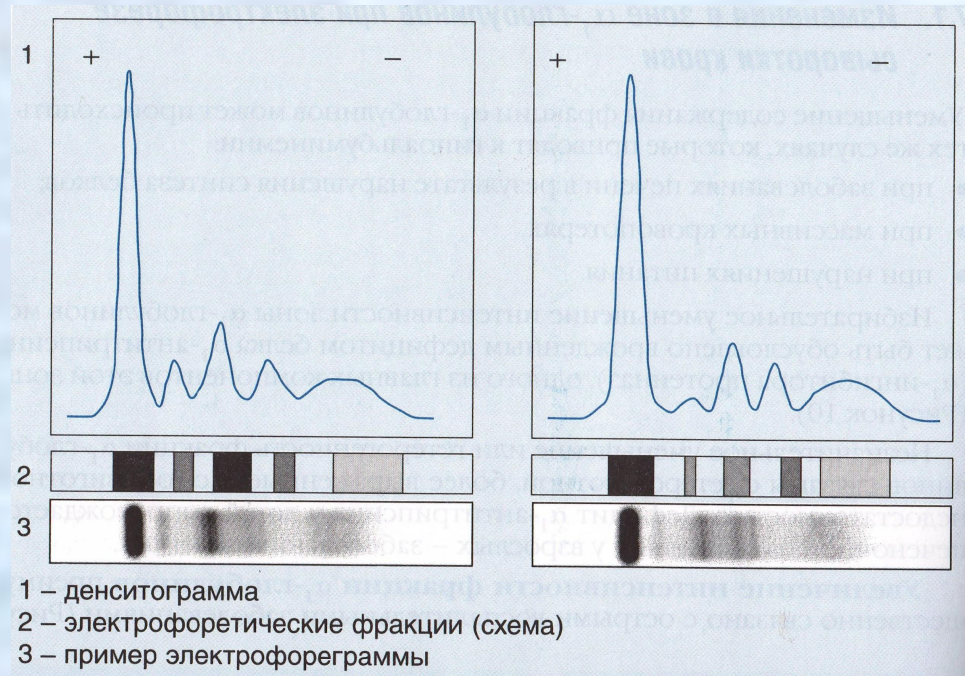
Электрофореграмма при дефиците α_1 -антитрипсина

- Снижение α_1 – глобулинов
- заболевания печени
- массивные кровопотери
- нарушение питания
- дефиците α_1 – антитрипсина



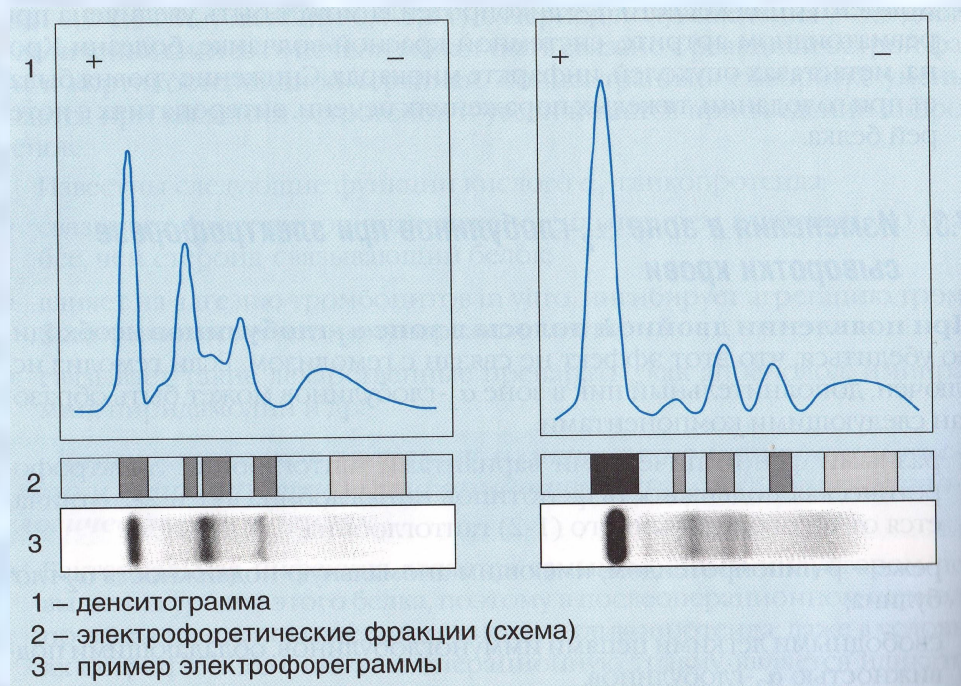
Электрофореграмма при остром воспалительном синдроме

Увеличение α_1 –
глобулинов
-острые
воспалительные
заболевания
(увеличение
концентрации α_1 –
антитрипсина,
орозомукоида)



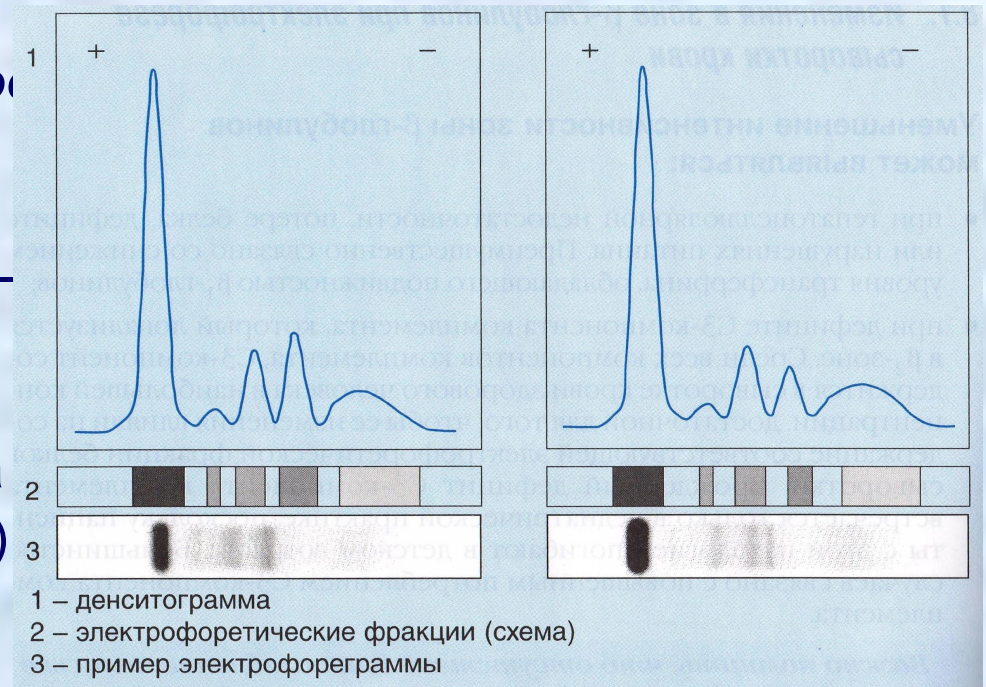
Электрофореграмма сыворотки крови при нефротическом синдроме

- **Снижение α_2 -глобулинов**
 - Нарушение питания
 - Патология печени
 - Внутрисосудистый гемолиз
- **Увеличение α_2 -глобулинов**
(преимущественно за счет гаптоглобина и α_2 -макроглобулина)
 - Воспаление (сочетается с увеличением α_1 -глобулинов)
 - Нефротический синдром



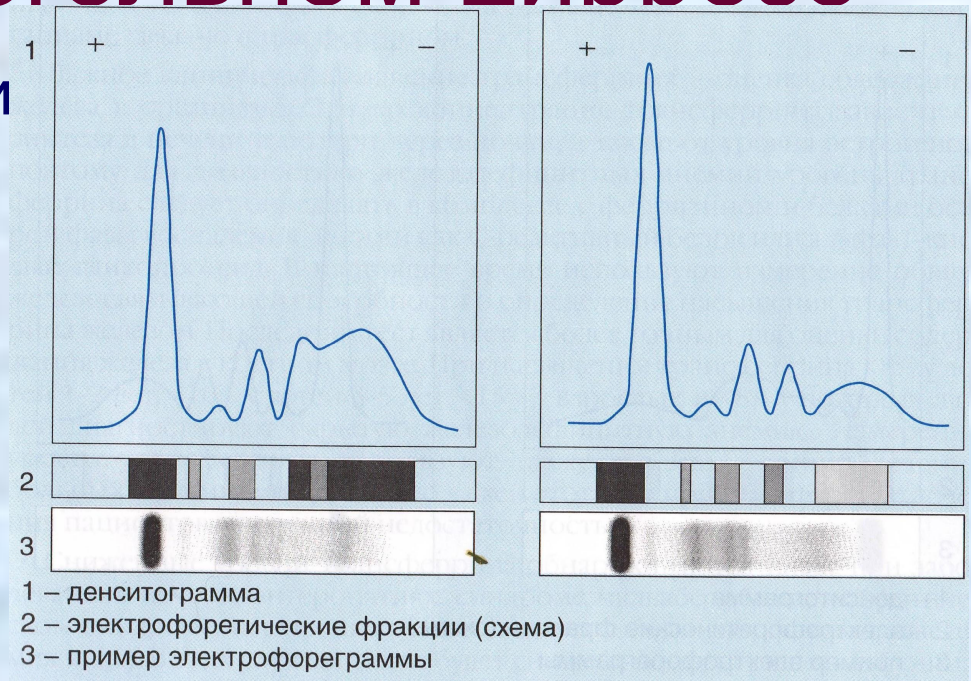
Электрофореграмма сыворотки крови и гипертрансферинемией при анемии

- **Уменьшение β -глобулинов**
 - патология печени
 - дефицит С3-компонента
- **Увеличение β -глобулинов**
 - Гемолизированная сыворотка
 - ЖДА (за счет трансферрина)
 - повышение С3-компонента



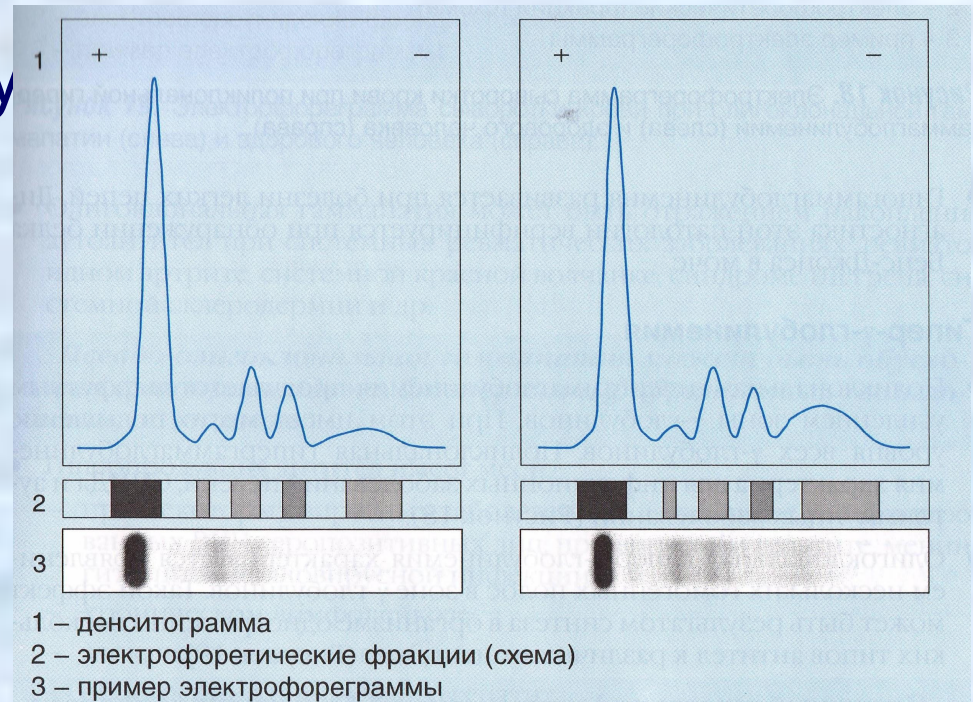
Электрофореграмма сыворотки крови при алкогольном циррозе

- Слияние β - и γ -фракции (за счет увеличения поликлонального Ig A)



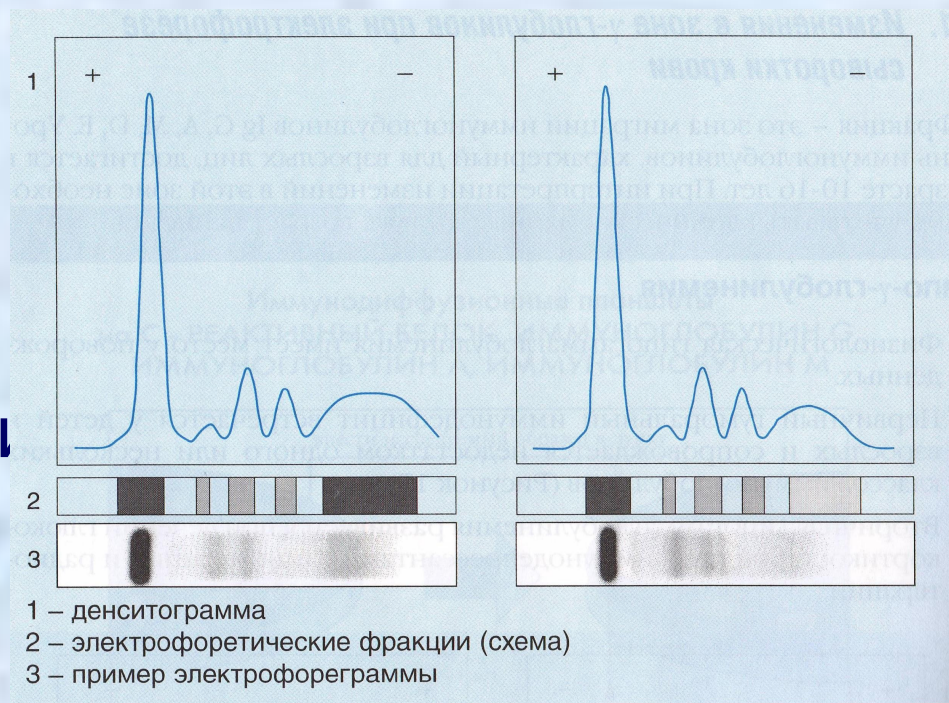
Электрофореграмма сыворотки крови при гипогаммаглобулинемии

- Физиологическая – у новорожденных
- Первичный гуморальный иммунодефицит
- Вторичный – при лечении глюкокортикоидами, иммунодепрессантами, химиотерапии, радиотерапии



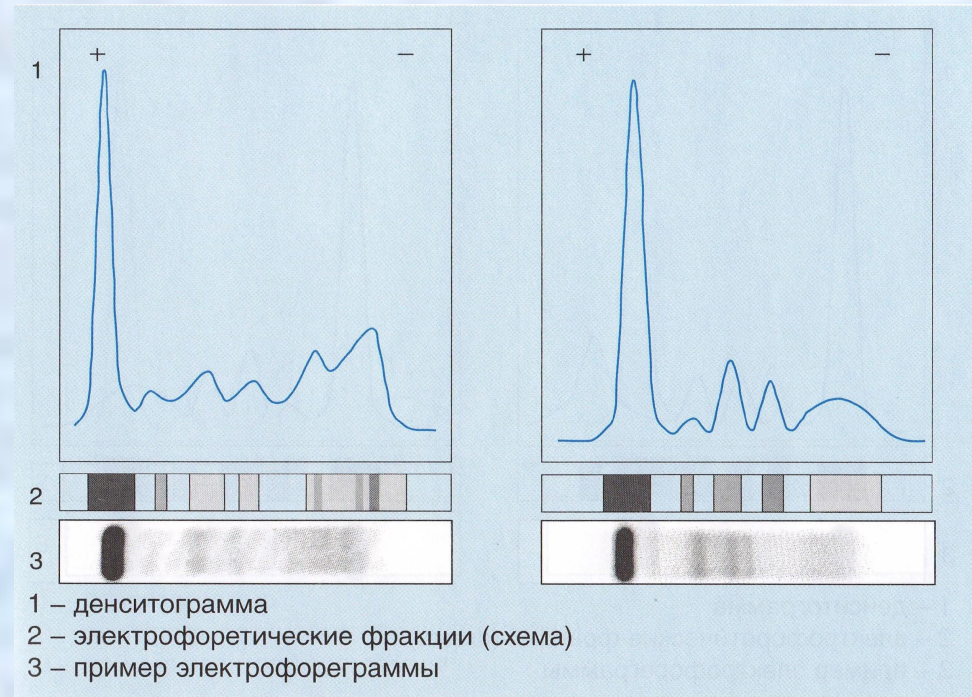
Электрофореграмма сыворотки крови при поликлональной гипергаммаглобулинемии

- Диффузное усиление зоны γ -глобулинов (инфекционные заболевания печени СПИД, аутоиммунные заболевания)



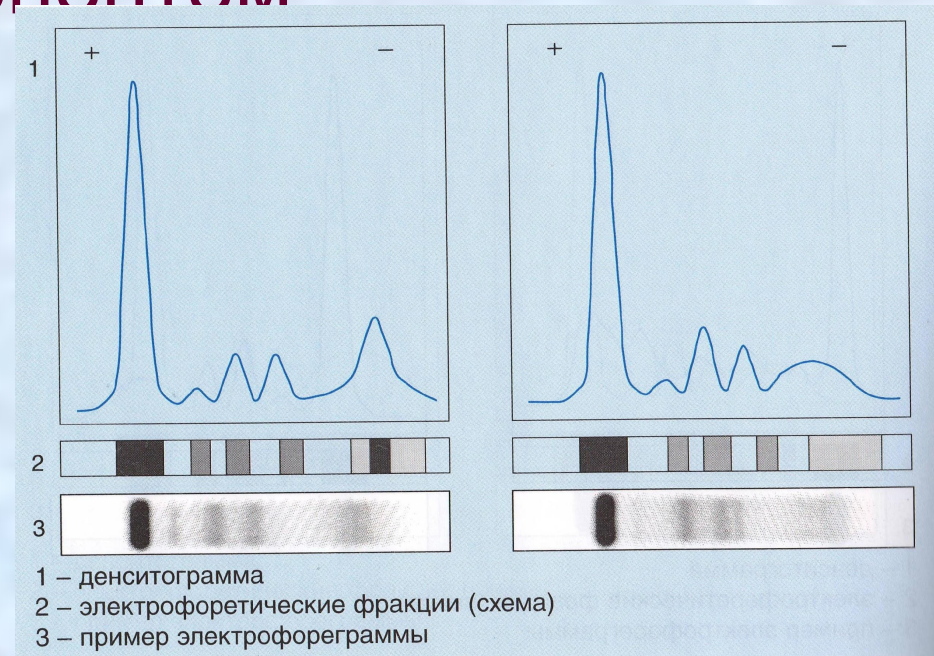
Электрофореграмма сыворотки крови при олигоклональной гипергаммаглобулинемии

- Появление нескольких полос (синтез в организме одновременно нескольких типов антител к различным антигенам)
- Накопление антител при системных ревматических заболеваниях



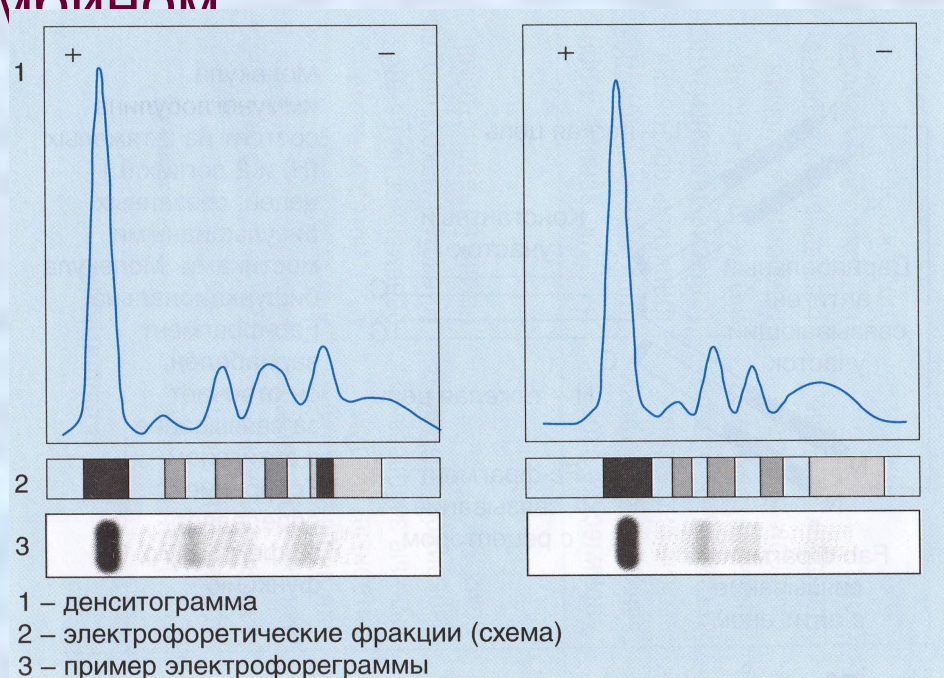
Электрофореграмма сыворотки крови пожилого пациента с моноклональным компонентом

- Появление узкой гомогенной полосы
- У пожилых лиц обнаруживается бессимптомная гаммапатия
- Встречается миеломе, лимфоме, хроническом лимфолейкозе, болезни Вальденстрема



Электрофореграмма сыворотки крови с дополнительной полосой, обусловленной присутствием фибриногена, и того же образца после обработки тромбином

- Появление дополнительной полосы может в присутствии фибриногена (необходимо повторное проведение электрофореза после обработки тромбином)



BIO-RAD

POWER PAC 1000

TIME 00:07

120V

VH 00014

73mA

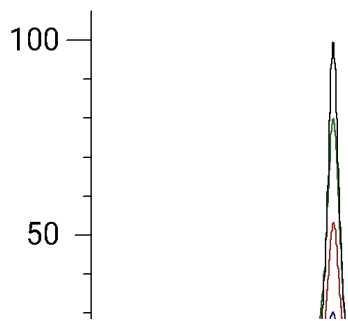
9W



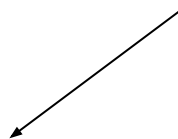


Определение фракций белков в моче (примеры)

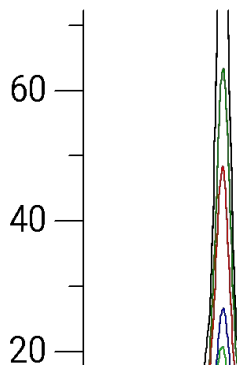
- Определение фракций белков в моче должно проводиться после концентрирования и обессоливания образца
- Метод валидирован проф. Mussap, Genoa ITALY.

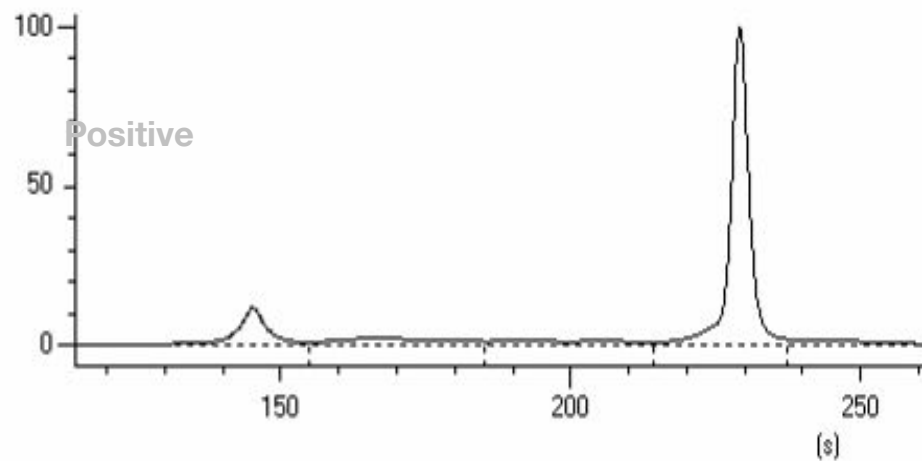
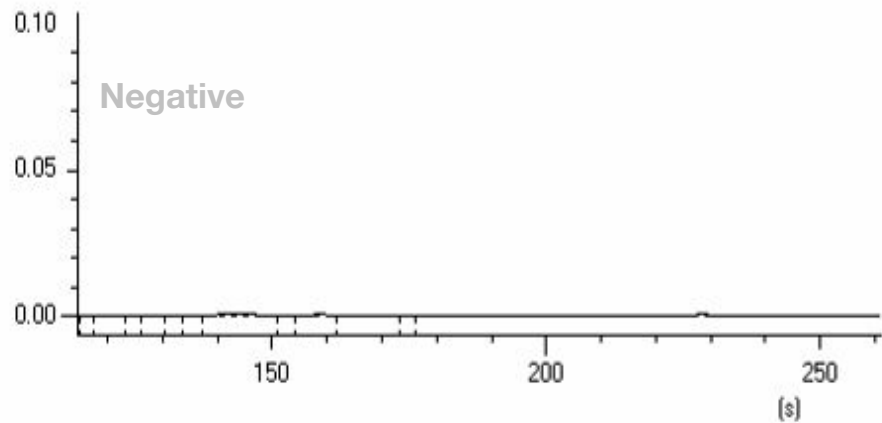


Чувствительность центрифужного метода 20mg/L

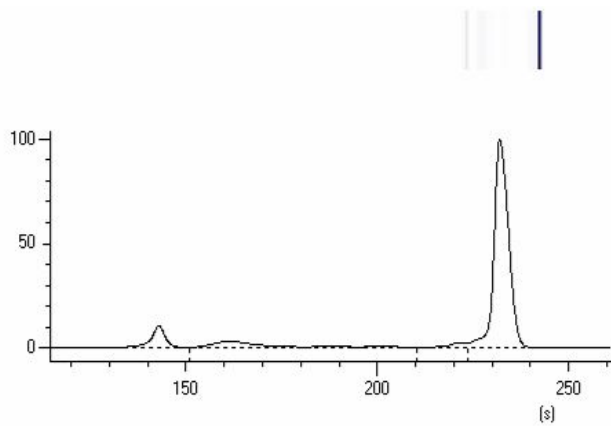


Чувствительность колоночного метода 20mg/L

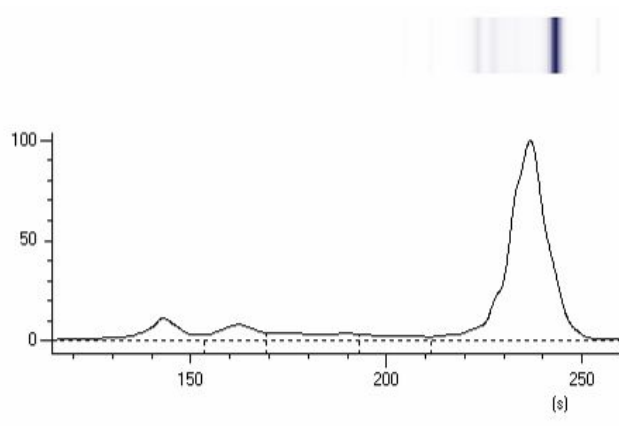




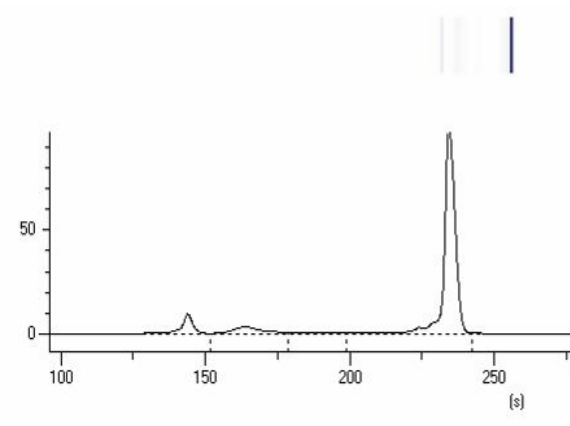
Определение фракций белков в моче (примеры)



1	Band 1	9.62%
2	Band 2	11.47%
3	Band 3	2.65%
4	Band 4	76.25%
Total		



1	Albumina	11.38%
2	Alfa 1	5.80%
3	Alfa 2	5.33%
4	Beta	2.98%
5	Gamma	74.51%
Total		



1	Albumina	9.07%
2	Alfa 1	7.81%
3	Beta	2.38%
4	Beta	79.71%
5	Gamma	1.04%
Total		