

KVANTITATÍVNA A KVALITATÍVNA PROTEINÚRIA U KLINICKY ZDRAVÝCH LUDÍ

Plk. MUDr. Ján LÁNGOŠ, CSc., MUDr. Ladislav SANGRET, Ing. Pavol BLAŽÍČEK,
pplk. MUDr. Ján LIETAVA, pplk. MUDr. Michal MARKO
Interné oddelenie VN Bratislava
(náčelník: plk. MUDr. Ján Langoš, CSc.)
Oddelenie klinických laboratórií VN Bratislava
(vedúci: MUDr. Ladislav Sangret)
Vojenské učilište Nitra
(náčelník: pplk. MUDr. Ján Lietava)

Proteinúria (PÚ) sa javí ako problém pri posúdení stavu obličiek. Keďže doposiaľ nie je jednotný názor na to, kedy je PÚ fyziologická alebo patologická, pokúsili sme sa v našej práci prispieť k riešeniu tejto problematiky sledovaním kvantity a kvality vylúčených bielkovín u mladých, klinicky zdravých osôb.

Materiál a metódy

Vyšetřili sme 49 mužov vo veku 14—18 a 24 mužov 19—35ročných. Všetci sa v čase vyšetřovania cítili zdraví, v anamnéze nemali obličkové ochorenie a pri fyzikálnom vyšetření sme nekonštatovali u nich chorobný nález. Krvný tlak sme u žiadneho nenašli vyšší ako 18,66/12,66 kPa, rtg snímka pľúc a EKG krivka boli u všetkých v norme.

Moč sme zbierali u vyšetřovaných od 19.00 do 7.00 a od 7.00 do 19.00 h. Vyšetřovaní počas dňa mali voľný pohybový režim, chodili alebo sedeli, diétu mali racionálnu a voľný príjem tekutín. Počas nočného zberu probandi ležali. Ráno pred siedmou hodinou nalačno sme odobrali žilnú krv na biochemické vyšetřenie a moč zo stredného prúdu na kultiváciu.

Laboratórne sme vyšetřili FW, kreatinín a celkovú bielkovinu v krvi, moč chemicky labstixom, močový sediment mikroskopicky pri 450násobnom zväčšení a kreatinín v moči. Množstvo vylúčenej bielkoviny v nočnom, resp. dennom, zbere sme merali biuretovou metódou. Vzorky moču sme do ďalšieho spracovania konzervovali 1 ml 1% azidu sodného a uskladnili pri -20°C . Bakteriologické vyšetřenie sme robili Uricultom.

Pred vyšetřením moču elektroforézou na polyakrylamidovom géli v prítomnosti laurylsíranu sodného (PAGE-SDS) sme vzorky rozmrazili, prefiltrovali, zahustili pomocou podtlakovej ultrafiltrácie podľa Miesa (1953) v koloidových vrecúškach (Sartorius Membranfilter SM 13 200) oproti 10krát zriedenému deliacemu pufru bez detergentu. Zahusťovali sme $1/100$ celkového objemu nočného, resp. denného, moču na konštantný objem 200 μl . Na elektroforézu sme použili 100 μl zahusteného moču. PAGE-SDS sme robili podľa Laemmliho (1970) a disogramy sme vyhodnocovali vizuálne i pomo-

cou denzitometra Beckman R 112. Triedili sme ich na 5 typov podľa Mulliho aj. (1974).

Fyziologickú proteinúriu predstavuje I. typ, charakterizovaný slabým až stredne silným pruhom albumínu a prítomnosťou ostatných bielkovín o nízkej a vysokomolekulovej hmotnosti (m. h.) v nepatrných množstvách. Pri II. type sú prítomné vo zvýšenom množstve bielkoviny o m. h. menšej ako 60 000. Strednomolekulová proteinúria — typ III. — sa prejavuje prítomnosťou zvýšeného množstva bielkovín o m. h. 60 000—100 000. Pri stredne a vysokomolekulovej proteinúrii, ktorá predstavuje IV. typ, sú prítomné vo zvýšenom množstve bielkoviny o m. h. 60 000—1 000 000. Ak na diskograme sú výrazne zmnožené bielkoviny o nízkej, strednej a vysokej m. h., ide o V. typ — zmiešanú proteinúriu (obr. 1).

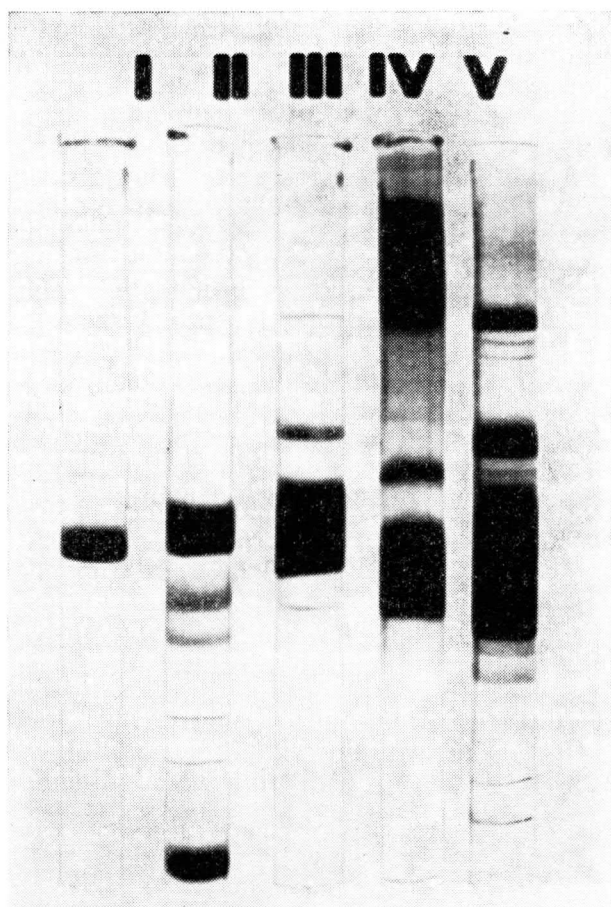
Výsledky uvádzame ako aritmetický priemer $\pm$ SEM a štatistické hodnotenie sme robili Studentovým t-testom.

Výsledky

Pri vyšetření moču labstixom sme našli v oboch skupinách vyšetřovaných bielkovinu v moči iba raz v dennej vzorke. Mikroskopickým vyšetřením močového sedimentu nenašli sme patologické množstvo erytrocytov, leukocytov a valcov. Kreatinín v sére bol vo fyziologických hodnotách. Pri kvantitatívnom stanovení bakteriúrie sme nenašli ani v jednej vzorke viac ako 10^5 baktérií v ml moču.

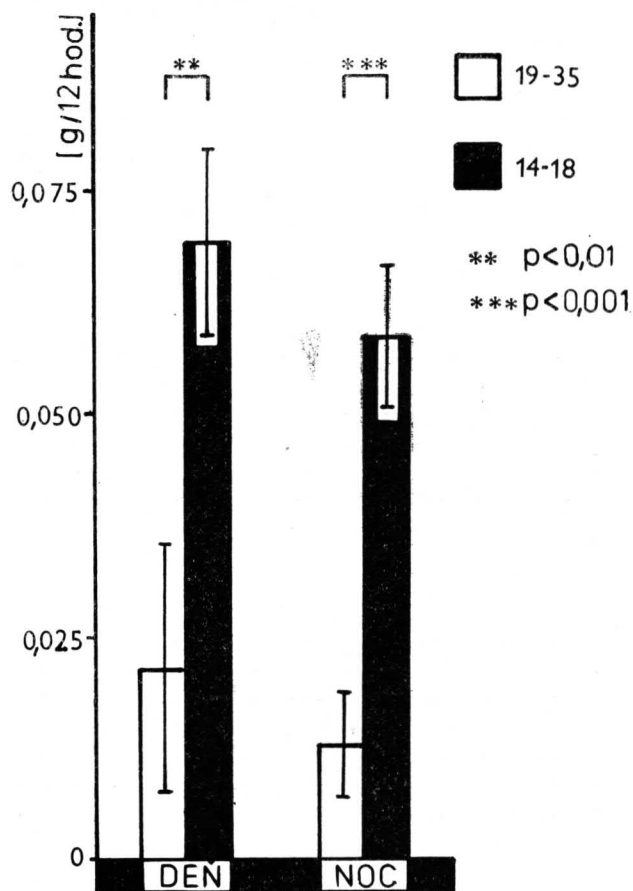
Kvantitatívnym stanovením bielkoviny v moču sme našli v skupine mladších počas dňa 0,0693 g $\pm$ 0,0101 g, v skupine starších 0,0214 g $\pm$ 0,0140 g, čo je štatisticky významný rozdiel na hladine $p < 0,01$. Cez noc vylúčili mladšie osoby 0,0585 g $\pm$ 0,0078 g, staršie 0,0128 g $\pm$ 0,0056 g, čo je významný rozdiel na hladine $p < 0,001$. V rámci skupín nenašli sme významný rozdiel medzi množstvom vylúčenej bielkoviny cez deň a v noci (graf 1).

Pri kvalitatívnom hodnotení proteinúrie sme v nočných vzorkách nenašli patologický typ ani v jednej skupine. V denných vzorkách v skupine mladších našli sme raz V. typ a v skupine starších raz III. typ (tab. 1).



Obr. 1. Typy proteinúrií podľa delenia bielkovín na PAGE — SDS

Graf 1. Kvantitatívna proteinúria v skupine mladších a starších počas ležania a ortostázy



Tab. 1

Kvalitatívna proteinúria počas ležania a ortostázy

Vek vyšetovaných (roky)	Počet	Telesná poloha počas zberu	Typ proteinúrie				
			I	II	III	IV	V
14—18	49	ležanie	49	—	—	—	—
		ortostáza	48	—	—	—	1
19—35	24	ležanie	24	—	—	—	—
		ortostáza	23	—	1	—	—

Diskusia

Prítomnosť bielkoviny v moču môže byť príznakom primárneho ochorenia obličiek, ich sekundárneho poškodenia pri chorobách iných orgánov, alebo systémového ochorenia. Veľkosť PÚ nie vždy odráža závažnosť patologicko-anatomických zmien v obličkách. Donedávna akceptovaná predstava, že PÚ je jednoznačne patologickým nálezom, bola na základe citlivejších analytických metód modifikovaná. Existuje teda fyziologická PÚ. Nie je zatiaľ jednotný názor, aké množstvo bielkovín vylúčených močom za

24 hodín treba pokladať za fyziologické. Harrison a. i. (1966) uvádzajú hornú hranicu normy 50 mg/24 h. Sinniah a. i. (1977) našiel u brancov a mladých vojakov 100—3800 mg/24 h, Ellis a Buffone (1971) zistili u 2—17 ročných detí 0—187 mg/24 h. Heinemann (1974) a Held (1976) zastávajú názor, že fyziologická PÚ je taká, keď množstvo vylúčených bielkovín za 24 hodín nepresahuje 150 mg. Rennie (1971) je toho názoru, že ak PÚ je menšia ako 150 mg/24 h a ostatné klinické a laboratórne nálezy sú normálne, treba PÚ pokladať za fyziologickú, bez ohľadu na vek vyšetrovaného.

Rozdielnosť v názoroch na hranicu medzi fyziologickou a patologickou PÚ súvisí zrejme aj s rozdielnou citlivosťou metód použitých na stanovenie množstva bielkovín v moči.

Bielkoviny v moči sa vo zvýšenom množstve vyskytujú aj pri poruchách v hemodynamickej časti bariéry glomerulu. Klasickým predstaviteľom tejto poruchy je ortostatická PÚ. Naše výsledky nenasvedčujú tomu, že ortostáza výrazne zvyšuje prenikanie bielkovín do definitívneho moču.

Množstvo vylúčených bielkovín močom za 24 hodín nie je dostačujúce pre posúdenie závažnosti poškodenia obličiek. Žiaduce sú ďalšie vyšetrovacie metódy. Jedným z triediacich kritérií kvality PÚ je molekulová hmotnosť bielkovín nachádzajúcich sa v definitívnom moču (Mulli a i., 1974; Virella a i., 1977). Pri poškodení glomerulov stúpa výrazne množstvo bielkovín so strednou a vysokou molekulovou hmotnosťou (60 000—1 000 000), pri poruche tubulárnych buniek dostávajú sa do definitívneho moču vo zvýšenej miere bielkoviny s nízkou molekulovou hmotnosťou (12 500—60 000).

PÚ býva často jediným príznakom, ktorý vedie k podrobnejšiemu vyšetreniu pacienta. Jaroš a i. (1976) našli u intermitentnej a ortostatickej PÚ histologicky dokázaný patologický nález v obličkách v 37,2 %. Podobné sú naše skúsenosti (Lángoš a i., 1982), keď u 31 pacientov s biopsicky overenou glomerulonefritídou len u 3 sme našli klinicky zreteľné ochorenie obličiek.

Kvalitatívne stanovenie PÚ zatiaľ nepreniklo v širšom merítke do klinickej praxe buď pre nízku citlivosť, alebo technickú náročnosť použitých metód. V súčasnosti sa preferuje PAGE-SDS. Umožňuje delenie bielkovín na základe ich molekulovej hmotnosti. Je jednoduchá, časovo nenáročná, umožňuje vyšetrovať veľké množstvo vzoriek v krátkom čase a pacienta vôbec nezaťažuje. Jej výhodou je, že dáva cenné informácie aj pri kvantitatívne malej PÚ a umožňuje usudzovať na poškodenie určitej časti nefrónu (Pesce a i., 1972; Mulli a i., 1974; Pires a i., 1975; Virella a i., 1977).

Nemožno tvrdiť, že kvalitatívna analýza PÚ je rozhodujúcim vyšetrením. Ak je však PÚ jediným príznakom, potom kvalitatívne vyšetrenie bielkovín v moči môže byť cenným indikátorom pre ďalšie vyšetrovanie pacienta, včítane punkcie obličky.

Súhrn

Autori vyšetrili 49 mužov 14—18 a 24 mužov 19—35-ročných, klinicky zdravých, a stanovili u nich množstvo a kvalitu vylúčenej bielkoviny močom počas dňa a noci.

Našli signifikantný rozdiel v množstve vylúčenej bielkoviny počas dňa aj noci medzi skupinou starších a mladších mužov. Nenašli signifikantný rozdiel ani v jednej skupine v množstve vylúčených bielkovín počas dňa a noci.

Pri kvalitatívnej analýze močových bielkovín na polyakrylamidovom géli v prítomnosti laurylsíranu sodného zistili v denných vzorkách moču v skupine starších i mladších iba raz patologický typ proteinúrie, v nočných vzorkách našli vždy iba fyziologický typ proteinúrie.

Zastávajú názor, že stanovenie len množstva vylúčených bielkovín močom za 24 hodín nie je dostatočným ukazovateľom na posúdenie, či ide o fyziologickú alebo patologickú proteinúriu, a považujú kvalitatívne vyšetrenie bielkoviny v moču za cenný diagnostický doplnok.

Literatúra

1. Ellis D. - Buffone, G. J.: New Approach to Evaluation of Proteinuric States. Clin. Chem. 23, 1977, 666—670.
2. Harrison, T. R. - Adams, R. D. - Bennett, I. L. Jr. - Resnik, Ph. B. - Thorn, G. W. - Wintrobe, M. M.: Principles of Internal Medicine. 5. ed. McGraw-Hill Book Co., N. York 1966.
3. Heinemann, H. O.: Proteinuria. Amer. J. Med., 56, 1974, 71—82.
4. Held, E.: Urinstatus, Proteinurie, Nierenfunktionsprüfungen: Diagnostik und Bewertung. Internist 17, 1976, 67—76.
5. Jaroš, M. - Monhart, V. - Vyroubal, F.: Nejčastější nefropatie u vojáků základní služby. Prakt. Lék., 56, 1976, 702—705.
6. Lángoš, J. a i.: Voj. zdrav. Listy, 51, 1982, s. 122.
7. Laemmli, U. K.: Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. Nature 227, 1970, 680—685.
8. Mies, H. J.: Einengung vom Liquor cerebrospinalis als Vorbereitung zur Papierelektrophorese. Klin. Wochenschr. 31, 7—8, 1953, 159—165.
9. Mulli, J. C. - Balant, L. - Giromini, M. - Fabre, J.: Analysis of Proteinuria in Health and Disease Using Sodium Dodecyl Sulphate Acrylamide Gel Electrophoresis. Eur. J. Clin. Invest. 4, 1974, 253—259.
10. Pires, M. T. - Santinho Da Cunha, A. - Virella, G. - Simoes, J.: Analytical Characterisation of Urinary Proteins by Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis in Renal Disease. Nephron 14, 1975, 361—372.
11. Pesce, A. J. - Boreisha, I. - Pollak, V. E.: Rapid Differentiation of Glomerular and Tubular Proteinuria by Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis. Clin. Chim. Acta. 40, 1972, s. 27—34.
12. Rennie, I. D.: Proteinuria. Med. Clin. North. Amer. 55, 1971, s. 213—230.
13. Sinniah, R. - Law, C. H. - Pwee, H. S.: Glomerular Lesions in Patients with Asymptomatic Persistent and Orthostatic Proteinuria Discovered on Routine Medical Examination. Clin. Nephrol. 7, 1977, s. 1—14.
14. Virella, G. A. - Lopes-Virella, M. F. L.: New Approaches to the Study of Proteinuria. Clin. Chem. 23, 1977, s. 1973—1974.