

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

## Ποσοτικός προσδιορισμός και ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών ορού και ούρων

Μ. Δημητρίου<sup>1</sup>, Δ. Περιμένη<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Τμήμα Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας, ΓΝ Νίκαιας «Άγιος Παντελεήμων», <sup>2</sup>Τμήμα Ανοσολογίας-Ιστοσυμβατότητας, ΓΝ Πειραιά «Τζάνειο»

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι πρωτεΐνες είναι πεπτίδια υψηλού μοριακού βάρους και η κύρια λειτουργία τους είναι η συμμετοχή στη διατήρηση της κολοειδωσμητικής πίεσης μέσα στα τριχοειδή αγγεία προκειμένου να παραμένει σταθερό το ισοζύγιο μεταξύ πλάσματος του αίματος και υγρού των ιστών. Επιπλέον επικουρούν στη μεταφορά ουσιών, στην άμυνα του οργανισμού, ενώ κάποιες πρωτεΐνες είναι ρυθμιστικά διαλύματα. Η αλβουμίνη αποτελεί την αφθονότερη πρωτεΐνη, ενώ έπονται οι σφαιρίνες και το ινωδογόνο. Όλες αυτές οι πρωτεΐνες παράγονται στο ήπαρ, πλην των ανοσοσφαιρινών, οι οποίες παράγονται από τα ενεργοποιημένα Β-λεμφοκύτταρα δηλαδή τα πλασματοκύτταρα. Ο ποσοτικός προσδιορισμός καθώς και η ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών, αντικατοπτρίζουν ένα φάσμα περιπτώσεων δίνοντας πληροφορίες για ποικίλες παθολογικές καταστάσεις. Η πιο κοινή εφαρμογή στις μέρες μας είναι η ανίχνευση μονοκλωνικών κλασμάτων, τα οποία εμφανίζονται ως ένα στενό έπαρμα και αναφέρονται ως μονοκλωνική πρωτεΐνη ή παραπρωτεΐνη. Η συγκέντρωσή των πρωτεϊνών επηρεάζεται επιπλέον από τις φυσιολογικές συνθήκες αλλά και από τις συνθήκες υπό τις οποίες λειτουργεί ο οργανισμός. Για τον προσδιορισμό των πρωτεϊνών υπάρχουν διάφορες μέθοδοι. Συνήθως χρησιμοποιούνται φωτομετρικές, ανοσοχημικές (θολωσιμετρία, νεφελομετρία, RIA, ELISA), ηλεκτροφόρηση και ανοσοηλεκτροφόρηση. Οι ενδείξεις που θα οδηγήσουν τον ιατρό να προβεί σε ηλεκτροφόρηση και ποσοτικό προσδιορισμό πρωτεϊνών είναι: η σταθερά αυξημένη τιμή ολικών λευκωμάτων του αίματος, η διαταραχή των επιπέδων των σφαιρινών στο αίμα, μια ανεξήγητη αναιμία, η εύρεση rouleaux στο επίχρισμα περιφερικού αίματος, η πρωτεϊνουρία, η ύπαρξη οστεολυτικών βλαβών ή καταγμάτων χωρίς να έχει προηγηθεί άσκηση πίεσης ή πτώση, οι υποτροπιάζουσες λοιμώξεις και τέλος η κλινική υποψία πρωτοπαθούς αμυλοείδωσης.

*Λέξεις κλειδιά:* ηλεκτροφόρηση, πρωτεΐνες, αλβουμίνη, ανοσοσφαιρίνες, μονοκλωνική γαμμαπάθεια, υπερπρωτεΐναιμία, υποπρωτεΐναιμία

---

Μ. Δημητρίου, Δ. Περιμένη. Ποσοτικός προσδιορισμός και ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών ορού και ούρων. Επιστημονικά Χρονικά 2025; 30(1): 74-80

---

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι πρωτεΐνες είναι πεπτιδία υψηλού μοριακού βάρους. Απαρτίζονται από μία ή περισσότερες πολυπεπτιδικές αλυσίδες, ενώ η κύρια λειτουργία τους είναι η συμμετοχή στη διατήρηση της κολλοειδωσμοτικής πίεσης μέσα στα τριχοειδή αγγεία προκειμένου να παραμένει σταθερό το ισοζύγιο μεταξύ πλάσματος του αίματος και υγρού των ιστών. Επιπλέον επικουρούν στη μεταφορά ουσιών, στην άμυνα του οργανισμού, ενώ κάποιες πρωτεΐνες είναι ρυθμιστικά διαλύματα [1]. Το συνολικό ποσοστό τους στο αίμα κυμαίνεται μεταξύ του 6-8 gr%, με την αλβουμίνη να αποτελεί την αφθονότερη εξ' αυτών: 3,5-5,5 gr% (ή 50-50%). Έπονται οι σφαιρίνες με ποσοστό που φτάνει τα 1,5-3,4 gr% και το ινωδογόνο με ποσοστό 200-400 mg%. Όλες αυτές οι πρωτεΐνες παράγονται στο ήπαρ, πλην των ανοσοσφαιρινών, οι οποίες παράγονται από τα ενεργοποιημένα Β-λεμφοκύτταρα δηλαδή τα πλασματοκύτταρα. Η συγκέντρωσή τους επηρεάζεται σαφώς από τις φυσιολογικές συνθήκες αλλά και από τις συνθήκες υπό τις οποίες λειτουργεί ο οργανισμός [2]. Για τον προσδιορισμό των πρωτεϊνών υπάρχουν διάφορες μέθοδοι. Συνήθως χρησιμοποιούνται φωτομετρικές, ανοσοχημικές (θολωσιμετρία, νεφελομετρία, RIA, ELISA), ηλεκτροφόρηση και ανοσοηλεκτροφόρηση. Οι ενδείξεις που θα οδηγήσουν τον ιατρό να διενεργήσει ηλεκτροφόρηση και ποσοτικό προσδιορισμό τους είναι: η σταθερά αυξημένη τιμή ολικών λευκωμάτων του αίματος, η διαταραχή των επιπέδων των σφαιρινών στο αίμα, μια ανεξήγητη αναιμία, η εύρεση rouleaux στο επίχρισμα περιφερικού αίματος, η πρωτεϊνουρία, η ύπαρξη οστεολυτικών βλαβών

ή καταγμάτων χωρίς να έχει προηγηθεί άσκηση πίεσης ή πτώση, οι υποτροπιάζουσες λοιμώξεις και τέλος η κλινική υποψία πρωτοπαθούς αμυλοείδωσης [2].

## ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ

Πρόκειται για μέθοδο διαχωρισμού μορίων, κατά την οποία τα φορτισμένα σωματίδια κινούνται υπό την επίδραση ηλεκτρικού πεδίου εντός διαλύματος ή gel (αγαρόζης). Τα κατιόντα, δηλαδή τα θετικά φορτισμένα σωματίδια, κινούνται προς την κάθοδο, ενώ τα ανιόντα κινούνται προς την άνοδο. Η ταχύτητα κίνησης εξαρτάται από το μέγεθος και σχήμα των μορίων, τη θερμοκρασία, την ένταση και το χρόνο εφαρμογής του ηλεκτρικού πεδίου [3]. Οι τύποι της ηλεκτροφόρησης είναι η **κλασική** ηλεκτροφόρηση πηκτής (gel από αγαρόζη ή πολυακρυλαμίδιο), η **τριχοειδική** (Capillary Zone Electrophoresis, CZE), η **ανοσοηλεκτροφόρηση** και η **ισοηλεκτρική εστίαση**. Η τριχοειδική ηλεκτροφόρηση ζώνης (CZE), αποτελεί την πλέον εξελιγμένη ηλεκτροφορητική τεχνική για διαχωρισμό των πρωτεϊνών. Χαρακτηρίζεται από πολύ μεγάλες δυνατότητες αναλυτικών διαχωρισμών, οι οποίες υπερτερούν ακόμη και έναντι καθιερωμένων χρωματογραφικών μεθόδων όπως η HPLC. Χρησιμοποιείται ευρέως τόσο ερευνητικά όσο και στην κλινική διάγνωση. Τα κυριότερα πλεονεκτήματά της είναι ότι οι διαχωρισμοί των μορίων γίνονται γρήγορα, ποσοτικά, αυτοματοποιημένα, σε πολλαπλά δείγματα, με καλή επαναληψιμότητα και με μεγάλη ευαισθησία [4]. Η βασική αρχή της μεθόδου είναι η χρήση ενός τριχοειδικού

σωλήνα από τηγμένο οξείδιο του πυριτίου ως μέσο μεταφοράς. Το μήκος του σωλήνα είναι <100cm και η διάμετρος 50μm. Ο σωλήνας μπορεί να είναι κενός ή να περιέχει κατάλληλο ηλεκτροφορητικό υλικό. Τα άκρα του τοποθετούνται σε δοχεία ηλεκτρολυτών που περιέχουν ηλεκτρόδια και ένα τροφοδοτικό μηχάνημα παρέχει διαφορά δυναμικού στην περιοχή 20.000-30.000 volts, προκαλώντας μετακίνηση μορίων. Μετά το διαχωρισμό τα κλάσματα ανιχνεύονται με οπτικό ανιχνευτή και οι πληροφορίες συλλέγονται από ηλεκτρονικό υπολογιστή υπό μορφή κορυφών σε ηλεκτροφόρημα [4].

## ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΟΡΟΥ

Κατά τον ποσοτικό προσδιορισμό μπορεί να παρατηρηθούν 2 καταστάσεις, υπερπρωτεΐναιμία ή υποπρωτεΐναιμία [5]

Η υπερπρωτεΐναιμία εμφανίζεται σε δύο περιπτώσεις.

1. Σε καταστάσεις κατά τις οποίες υπάρχει αύξηση του ολικού ποσού των πρωτεϊνών χωρίς διαταραχή της σχέσης λευκωματίνης-σφαιρίνης. Τέτοιες είναι παθήσεις με απώλεια υγρών όπως διάρροιες, εμέτους από ειλεό, αποστέρηση ύδατος και εγκαύματα [5].
2. Υπερπρωτεΐναιμία από αύξηση σφαιρινών. Τέτοιες περιπτώσεις είναι βακτηριακές λοιμώξεις, κολλαγονώσεις, παρασιτικές λοιμώξεις, πολλαπλούν μυέλωμα, λευχαιμίες, λεμφώματα [5].

Η υποπρωτεΐναιμία στον αντίποδα, εμφανίζεται σε ελάττωση που οφείλεται σε μείωση της λευκωματίνης. Εκεί οι σφαιρίνες συνήθως δεν ελαττώνονται, μάλιστα αυξάνονται λίγο. Ελάττωση της λευκωματίνης κάτω από 5 gr% οδηγεί σε οίδημα. Καταστάσεις που σχετίζονται με υποπρωτεΐναιμία είναι παθήσεις των νεφρών, του ήπατος, του ΓΕΣ, διαταραχές της θρέψης από καρκινωμάτωση, χρόνιες λοιμώξεις, βαριές αναιμίες και ασκίτη [5].

## Αλβουμίνη (λευκωματίνη)

Η αφθονότερη πρωτεΐνη του ορού. Συντίθεται στο ήπαρ και διατηρεί την κολλοειδωσμοτική πίεση. Μεταφέρει διάφορα μόρια και ουσίες όπως χολερυθρίνη, κορτιζόνη, οιστρογόνα, φάρμακα, ιόντα, βιταμίνες. Η υπεραλβουμιναιμία είναι άνευ κλινικής σημασίας. Η υποαλβουμιναιμία οφείλεται σε μειωμένη παραγωγή (ηπατική ανεπάρκεια, αιτία, δυσασπορόφηση), σε αυξημένη απώλεια (νεφρωσικό, εγκαύματα, αιμορραγία) και σε αυξημένο καταβολισμό (σήψη, πυρετό, τραύμα, κακοήθεια) [5]. Ιδιαίτερη περίπτωση αποτελεί η δισαλβουμιναιμία. Πρόκειται για σπάνια καλοήγη συνήθως κατάσταση, κληρονομική ή επίκτητη που αποδίδεται ως διπλό έπαρμα στην περιοχή της αλβουμίνης στο ηλεκτροφόρημα. Εμφανίζεται σε ποσοστό 1:100 σε διάφορες φυλές των Ινδιάνων της Βόρειας Αμερικής. Αντανακλά τη συνόπαρξη 2 τύπων αλβουμίνης και σπάνια σχετίζεται με νόσους όπως σακχαρώδης διαβήτης, Waldenstrom, πολλαπλούν μυέλωμα, σαρκοείδωση κ.α. [6]

## Πρωτεΐνες α<sub>1</sub> κλάσματος

Η κύρια πρωτεΐνη είναι η α<sub>1</sub>-αντιθρυψίνη. Είναι πρωτεΐνη οξείας φάσης, αναστολέας πρωτεασών και η παρουσία της είναι απαραίτητη για τη διατήρηση του κολλαγόνου και της ελαστάσης του πνεύμονα. Ανεπάρκειά της προκαλεί πνευμονικό εμφύσημα και σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας των νεογνών. Αυξάνεται σε οξείες φλεγμονές, ιστικές καταστροφές, καρκίνο [7]. Άλλες σφαιρίνες της α<sub>1</sub> περιοχής είναι η α<sub>1</sub>-όξινη γλυκοπρωτεΐνη, η α<sub>1</sub>-αντιχυμοθρυψίνη και η α-εμβρυική πρωτεΐνη [2]. Αυξάνονται ομοίως σε οξείες φλεγμονές, ιστικές καταστροφές και νεοπλασίες. Μειώνονται σε ηπατική βλάβη [7].

## Πρωτεΐνες α<sub>2</sub> κλάσματος

Εδώ υπάγονται η α<sub>2</sub> μακροσφαιρίνη, η αιποσφαιρίνη και η σερουλοπλασμίνη. Η α<sub>2</sub> μακροσφαιρίνη αυξάνεται σε νεφρωσικό σύνδρομο, σε ηπατοπάθειες, σε φλεγμονές, σε κήση και σε λήψη αντισυλληπτικών ενώ μειώνεται σε οξεία παγκρεατίτιδα, ηπατική ανεπάρκεια και σήψη [7]. Η αιποσφαιρίνη αυξάνεται σε οξείες φλεγμονές, σε ιστικές καταστροφές, σε εγκαύματα και σε καρκίνο ενώ μειώνεται σε αιμόλυση (δεσμεύει την Hb), σε ηπατική νόσο και σε μεγαλοβλαστική αναιμία. Η σερουλοπλασμίνη αυξάνεται σε λήψη οιστρογόνων, κήση και καρκίνο ενώ μειώνεται στη νόσο Wilson, σε νεφρωσικό, εντεροπάθεια και υποσιτισμό [8].

## Πρωτεΐνες κλάσματος β-σφαιρινών

Εδώ κινείται ηλεκτροφορητικά η τρανοφερίνη, η β-λιποπρωτεΐνη, και τα κλάσματα του συμπληρώματος C3, C4. Η τρανοφερίνη αυξάνεται σε σιδηροπενική αναιμία, κήση, αιμοχρωμάτωση, λήψη οιστρογόνων και μειώνεται σε νεοπλασίες, ρευματοειδή αρθρίτιδα και ουραιμία. Η β-λιποπρωτεΐνη αυξάνεται σε υπερχοληστερολαιμία και νέκρωση. Τα κλάσματα του συμπληρώματος C3, C4 αυξάνονται σε φλεγμονές και μειώνονται σε αυτοάνοσα νοσήματα λόγω δημιουργίας ανοσοσυμπλεγμάτων [9].

## Πρωτεΐνες κλάσματος γ-σφαιρινών

Σε αυτές ανήκει το ινωδογόνο, το οποίο αυξάνεται σε οξείες φλεγμονές και στην κήση ενώ μειώνεται σε ηπατοπάθειες και στη διάχυτη ενδαγγειακή πήξη, η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη που αυξάνεται σε βακτηριακές λοιμώξεις, έμφραγμα, τραύματα, εγκαύματα, ρευματοειδή αρθρίτιδα, αγγειίτιδες και οι ανοσοσφαιρίνες. Ομοιογενής ελάττωση της έντασης των ζωνών στο ηλεκτροφόρημα στη γ' περιοχή εμφανίζεται σε συγγενή ανοσοανεπάρκεια ή σε επίκτητη λόγω λεμφώματος, λευχαιμίας, νεφρωσικού, αμυλοείδωσης, θεραπείας με κορτικοειδή, έγκαυμα ή τρυπανοσωμίαση [7]. Στον αντίποδα έχουμε την αύξηση. Αυτή χωρίζεται σε πολυκλωνική που οφείλεται σε χρόνια νοσήματα ήπατος (π.χ. κίρρωση), νοσήματα συνδετικού ιστού, χρόνιες λοιμώξεις, αιματολογικές παθήσεις και σε μονοκλωνική αύξηση λόγω παραγωγής παθολογικής μονοκλωνικής ανοσοσφαιρίνης [7], η οποία

**ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ ΟΥΡΩΝ**

εμφανίζεται στην ηλεκτροφόρηση σαν ευδιάκριτη ζώνη στη γ' περιοχή λόγω πλασματοκυτταρικής δυσκρασίας [9]. Επίσης στη δευτεροπαθή μονοκλωνική γαμμαπάθεια η οποία οφείλεται σε αυτοάνοσα νοσήματα, νεοπλάσματα, ανοσοανεπάρκεια ή λιποδυστροφία και τέλος στην ολιγοκλωνική αύξηση με παρουσία τουλάχιστον 2 μικρών κορυφών στη γ' περιοχή που εμφανίζονται σε αυτοάνοσα, λοιμώξεις, λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα ή μετά από μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων [10]. Γενικώς η ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών ορού αποδίδει τα μέγιστα ως διαγνωστική μέθοδος της παραπρωτεϊναιμίας λόγω του ότι η ηλεκτροφορητική ικανότητα των πρωτεϊνών επηρεάζεται εύκολα από διάφορες καταστάσεις (πχ φάρμακα ή ύπαρξη λοιπών ουσιών στις οποίες προσδένονται).

Με την ηλεκτροφόρηση ούρων εκτιμάται η νεφρική βλάβη. Το δείγμα προς εξέταση είναι ούρα 24/ώρου [10]. Η εύρεση μικρού ΜΒ πρωτεϊνών υποδηλώνει σωληναριακή βλάβη λόγω μειωμένης επαναρρόφησης, Αποβάλλονται αλβουμίνη, α<sub>1</sub>-μακροσφαιρίνη, β<sub>2</sub>-μικροσφαιρίνη. Η απώλεια στα ούρα μεγάλου ΜΒ πρωτεϊνών υποδηλώνει σπειραματική βλάβη λόγω απώλειας της εκλεκτικής διήθησης, Αποβάλλεται αλβουμίνη, α<sub>1</sub>-όξινη γλυκοπρωτεΐνη, α<sub>1</sub>-αντιθρυψίνη. Στην ηλεκτροφόρηση ούρων όμως αυτό που έχει τη μεγαλύτερη διαγνωστική αξία είναι η αναζήτηση παρουσίας μονοκλωνικής ζώνης κ, λ ή ολόκληρου μορίου [10]. Το λεύκωμα Bence-Jones που ανευρίσκεται σε πολλαπλούν μυέλωμα, στη μακροσφαιριναιμία και στα λεμφώματα, διηθείται στο σπείραμα διότι έχει μικρό μοριακό βάρος. Η ηλεκτροφόρηση ούρων προτείνεται να γίνεται πάντα σε συνδυασμό με την ηλεκτροφόρηση ορού [10,11].

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

1. Burgi D, Smith AJ. Capillary electrophoresis of proteins and peptides. *Curr Protoc Sci* 2001; doi: 10.1002/0471140864.ps1009s02.
2. Regeniter A, Siede WH. Peaks and tails: Evaluation of irregularities in capillary serum protein electrophoresis. *Clin Biochem* 2018; 51:48-55.
3. Righetti PG, Fasoli E, Righetti SC. Conventional isoelectric focusing. In gel slabs and capillaries and immobilized pH gradients. *Methods Biochem Anal* 2011; 54:370-409.
4. Jenkins MA, Guerin MD. Quantification of serum proteins using capillary electrophoresis. *Ann Clin Biochem* 1995; 32 (Pt 5):493-7.
5. Feldman M, Soni N, Dickson B. Influence of hypoalbuminemia or hyperalbuminemia on the serum anion gap. *J Lab Clin Med* 2005; 146:317-20.

6. Kapatia G, Wadhwa M, Malhotra P, Prakash G, Aggarwal R. Bisalbuminemia: A Pathologist's Insight of an uncommon phenomenon. *J Lab Physicians* 2021; 13:219-223.
7. Jollif CR, Blessum CR. Comparison of serum protein electrophoresis by agarose gel and capillary zone electrophoresis in a clinical setting. *Electrophoresis* 1997; 18:1781-4.
8. Sechi S. A method to identify and simultaneously determine the relative quantities of proteins isolated by gel electrophoresis. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2002;16: 1416-24.
9. Bossuyt X. Advances in serum protein electrophoresis. *Adv Clin Chem* 2006;42: 43-80.
10. Singh G. Serum and urine protein electrophoresis and serum-free light chain assays in the diagnosis and monitoring Gammopathies. *J Appl Lab Med* 2020; 1:1358-1371.
11. Roden AC, Lockington KS, Tostrud LJ, Katzmann JA. Urine protein electrophoresis and immunoelectrophoresis using unconcentrated or minimally concentrated urine samples. *Am J Clin Pathol* 2008; 130: 141-5.

REVIEW

## *Quantification and electrophoresis of serum and urine proteins*

M. Demetriou<sup>1</sup>, D. Perimeni<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Immunology-Histocompatibility, General Hospital of Nikaia-Piraeus "Agios Panteleimon",

<sup>2</sup>Department of Immunology-Histocompatibility, General Hospital of Piraeus "Tzaneio"

### ABSTRACT

Proteins are high molecular weight peptides whose main function is to participate in maintaining the colloid-osmotic pressure within the capillaries in order to maintain a stable balance between blood plasma and tissue fluid. In addition, they assist in the transport of substances, in the body's defense, while some proteins are buffer solutions. Albumin is the most abundant protein, followed by globulins and fibrinogen. All of these proteins are produced in the liver, except for immunoglobulins, which are produced by activated B-lymphocytes, i.e. plasma cells. The quantitative determination as well as the electrophoresis of proteins, reflect a spectrum of cases, providing information about various pathological conditions. The most common application today is the detection of monoclonal fractions, which appear as a narrow band and are referred to as monoclonal protein or paraprotein. The concentration of proteins is also influenced by physiological habits and the conditions under which the body functions. There are various methods for determining proteins. Photometric, immunochemical (turbidimetry, nephelometry, RIA, ELISA), electrophoresis and immunoelectrophoresis are usually used. The indications that will lead the doctor to proceed with electrophoresis and quantitative determination of proteins are: a consistently increased value of total blood proteins, a disorder of globulin levels in the blood, an unexplained anemia, the finding of rouleaux in the peripheral blood smear, proteinuria, the existence of osteolytic lesions or fractures without prior pressure or fall, recurrent infections and finally the clinical suspicion of primary amyloidosis.

*Keywords:* electrophoresis, proteins, albumin, immunoglobulins, monoclonal gammopathy, hyperproteinemia, hypoproteinemia

---

M. Demetriou, D. Perimeni. Quantification and electrophoresis of serum and urine proteins. *Scientific Chronicles* 2025; 30(1): 74-80

---

---

Συγγραφέας αλληλογραφίας: **Μαρία Δημητρίου**, E-mail: [maria\\_thdemetriou@yahoo.gr](mailto:maria_thdemetriou@yahoo.gr)