

บทความปริทัศน์

ทัศนปัจจุบันเกี่ยวกับโปรตีนในปัสสาวะ

นันทยา ชนะรัตน์*

เป็นที่ยอมรับกันว่า การมีโปรตีนรั่วออกมาทางปัสสาวะ (Proteinuria) จะแสดงถึงการเริ่มมีอาการของโรคไต ซึ่งพบได้บ่อยทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ การมีโปรตีนออกมาทางปัสสาวะ อาจเป็นแบบชั่วคราว (transient) หรือเป็นแบบถาวร (Persistent) หากมีโปรตีนออกมาทางปัสสาวะเป็นเวลานานๆ จะต้องพยายามหาสาเหตุให้ได้ ซึ่งอาจใช้วิธีการดูลักษณะ (pattern), ส่วนประกอบ (composition) และปริมาณโปรตีน ร่วมกับลักษณะที่ตรวจพบทางคลินิก ถ้าสามารถแยกชนิดของโปรตีนได้ ก็จะช่วยในการแยกสาเหตุของความผิดปกติของไตว่าเกิดจากส่วนใดกลเมอรูลัส และท่อไตได้ บทความนี้ ได้รวบรวมเรื่องราวของโปรตีนในปัสสาวะที่เกี่ยวข้องกับโรคต่างๆ รวมทั้งรายละเอียดของวิธีการ ที่ใช้ในการตรวจสอบชนิดของโปรตีนในปัสสาวะด้วย

Framingham Study ทำการศึกษาแบบย้อนหลัง (retrospective) ถึงความสำคัญของการมีโปรตีนออกมาในปัสสาวะ ที่ทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิต หรือการตายเนื่องจากเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ และไตวาย (cardiovascular disease และ renal failure) เป็นเวลานาน 16 ปี ในผู้ป่วยผู้ใหญ่ 5209 ราย อายุระหว่าง 50 ถึง 62 ปี ซึ่งส่วนใหญ่ไม่พบภาวะนี้ในคนที่มาที่เดินไปมาได้ แต่คนที่มีการมีโปรตีนรั่วออกมาทางปัสสาวะแบบเป็นครั้งคราว (intermittent proteinuria) มักจะมีภาวะอื่นๆ ร่วมด้วย เช่น การมีความดันโลหิตสูง ในผู้ชายจะมีโปรตีนออกทางปัสสาวะมากกว่าคนปกติ 2.3 ถึง 4.4 เท่า การมีโปรตีนออกทางปัสสาวะนี้ จะทำ

ให้มีโอกาสเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจ (Cardiovascular disease, CVD) และตายง่ายกว่าคนที่ เป็น CVD แต่ไม่มีโปรตีนออกมาทางปัสสาวะ เมื่อทำการผ่าศพ พบว่ามี CVD ในผู้ป่วยบางราย ที่มีโปรตีนในปัสสาวะ ทั้งแบบชั่วคราวและแบบถาวร โดยที่ไม่เคยพบอาการ CVD มาก่อน ผู้ป่วยโรคไตหรือเบาหวาน ถ้ามีโปรตีนออกมาในปัสสาวะร่วมด้วย จะเสียชีวิตได้เร็วขึ้น แม้ว่าจะไม่มี CVD (1)

* รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเคมีคลินิก
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

การพบอัลบูมินเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยในปัสสาวะ เพียงประมาณ 15-30 มก./วัน ก็นับว่าเป็นดัชนีสำคัญของการบอกการเกิดโรคไต เพราะฉะนั้นการตรวจวัดปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ จึงเป็นตัวบอกความผิดปกติของไต ในระยะเริ่มแรกได้ วิธีการทางอิมมูโนเคมี (Immunochemistry) มีความไวสูง ทำให้สามารถวัดปริมาณอัลบูมิน ได้ถึง 10-30 มก./ลิตร หรือต่ำกว่า ซึ่งวิธีการใช้แถบนำยาทดสอบ (dipstick) หรือวิธีการตกตะกอนไม่สามารถวัดได้

การพบโปรตีนในปัสสาวะ แสดงถึงการทำงานของไตมีความผิดปกติ แม้ว่า อัลบูมิน จะผ่านกลเมอรูลัส ได้ประมาณ 26,000 มก./นาที่ แต่จะมีเพียงประมาณ 10 ไมโครกรัม ออกมาในปัสสาวะเท่านั้น เพราะฉะนั้นถ้าคำนวณต่อ 24 ชม. ก็จะมีอัลบูมินที่ถูกขับออกมาทางปัสสาวะประมาณ 15 มก. ต่อวันจากคนน้ำหนักตัว 37 กิโลกรัม

การขับโปรตีนทางปัสสาวะโดยปกติ

ปัสสาวะ เกิดจากการกรองพลาสมาผ่านเยื่อของผนังหลอดเลือดฝอย บริเวณกลเมอรูลัส (glomerulus capillary wall, GCW) ในผู้ใหญ่ทั่วไปจะมีการกรองผ่านในอัตรา 125 มล./นาที่ จากเลือดที่ผ่านไตทั้งหมด 1200 มล. น้ำและสารอนุภาคเล็กๆ เช่น กลูโคส, ยูเรีย จะผ่านออกมาเหลือสารโมเลกุลใหญ่กลับคืนสู่พลาสมา GCW ประกอบด้วย 3 ส่วน ภายนอกเป็น fenestrated epithelium ถัดมาเป็น glomerular basement membrane (GBM) และชั้นนอกสุดเป็น epithelial cell ซึ่งมี interdigitating foot processes แยกตาม filtration slit แต่ละส่วนจะช่วยกันกับ GBM ในการเลือกคัดให้สารผ่าน (permeability selectivity) ซึ่ง GBM จะมี semisolid matrix ประกอบด้วย fibrils ทำหน้าที่สำคัญ

เกี่ยวกับ barrier function ดังกล่าว(2)

นอกจากขนาดโมเลกุลแล้วยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องอีก เมื่อศึกษาโดยใช้ dextran particle พบว่าอนุภาคที่มีประจุเป็นกลาง (neutral particle) จะผ่าน barrier ได้ดีกว่าอนุภาคที่มีประจุลบ (negative charged particle) ที่มีขนาดเท่ากัน GBM จะมีส่วนที่เป็นประจุลบ ซึ่งจะทำการกีดขวางที่มีประจุบวกผ่านได้น้อยลง และโปรตีนในซีรัม ส่วนใหญ่เช่น อัลบูมิน ก็มีประจุลบที่ pH ในร่างกาย ทำให้ผ่านได้ยากขึ้น ส่วน สาร Polycation ในซีรัม เช่น lysozyme จะผ่าน GCW ได้ดี

โปรตีนส่วนใหญ่ ในน้ำกรองที่ผ่านจากกรวยไต จะถูกดูดกลับโดยเซลล์ที่ proximal tubule โดยกระบวนการ endocytosis เมื่อโปรตีนผ่านเข้าไปใน vacuole แล้วจะถูกย่อยโดยเอนไซม์ ได้กรดอะมิโนกลับเข้าสู่กระแสเลือดต่อไป

มีโปรตีนอยู่ 3 ชนิดที่สร้างขึ้นที่ไต ได้แก่

1. Tam-Horsfall protein เป็น mucoprotein สร้างโดยเซลล์อีพิทีเลียล ใน distal tubule พบว่ามีคุณสมบัติในการต่อต้านเชื้อไวรัส (antiviral activity) และมีส่วนในการสร้าง cast
2. Urokinase (EC 3.4.21.31 หรือ plasminogen activator) เป็น antifibrinolytic enzyme สร้างโดย tubular cell เข้าไปสู่ luminal fluid
3. Secretory IgA สร้างโดยเซลล์อีพิทีเลียลที่ท่อไต มีคุณสมบัติเหมือน IgA ที่สร้างที่อื่นๆ ในร่างกาย

จากที่มีการศึกษามาพบว่า ผู้ใหญ่ปกติจะขับโปรตีนทั้งหมด ออกมาไม่เกิน 150 มก./24 ชั่วโมง ประมาณ 1/3 เป็นอัลบูมิน และที่เหลือเป็น

โกลบูลิน ในปัสสาวะ 24 ชม. จะมีค่าโคโรตินประมาณ 70 มก., อัลบูมิน 16 มก., อิมมูโนโกลบูลิน 6 มก., มีวาคิลีแซคคาไรด์ 16 มก., โปรตีนที่เป็นสารหมู่เลือด 35 มก. นอกนั้นเป็นโปรตีนอื่นๆจำนวนน้อยๆ เช่นเอนไซม์และฮอร์โมน

ไต เป็นอวัยวะ ที่มีผลต่อระดับโปรตีนในพลาสมา โดยมีหลายปัจจัยมารวมด้วย เช่น แรงดันของกรองพลาสมา (Filtrate pressure), ขนาดของรูกรวยไต (pore size) และประจุบน GBM และมีการดูดกลับเกือบจะสมบูรณ์ที่ proximal tubule ขนาดของรูในการกรองที่กรวยไต มีประมาณ 55 Å และความดันในการกรองประมาณ 10 มม.ปรอท โปรตีนขนาด ovalbumin (m.w. 44000) ประมาณ 22% จะผ่านการกรองและ 3% ของโปรตีนที่มีขนาดเท่ากับฮีโมโกลบิน (m.w 68000) และเพียง 0.004% ของอัลบูมินเท่านั้นที่ผ่านออกมา

เหตุผลที่อัลบูมินผ่านการกรองที่กรวยไตไม่ได้ มี 2 ประการคือ

1. อัลบูมินมีรูปร่างเป็น elongate ประมาณ 140 x 40 Å ดังนั้น เวลาผ่านรูเล็กๆจึงยาก
2. บริเวณ GBM ที่ทำหน้าที่ในการกรอง จะมีหมู่ SO₄ ของ glycosaminoglycan ซึ่งเป็นประจุลบ ส่วนอัลบูมินซึ่งมี pI ประมาณ 5 และมีประจุสุทธิ -18 ที่ pH 7.4 ดังนั้นจึงต้านกับประจุของ GBM

ที่ proximal tubule เป็นบริเวณที่มีการรั่วออกมาของโปรตีนในพลาสมาที่ผ่านมาได้เพียงเล็กน้อย เซลล์ของท่อไต จะจับของเหลวเข้าไปและโปรตีนจะถูกย่อยโดย protease ในไลโซไซม์ กลายเป็นกรดอะมิโน ซึ่งกระบวนการนี้ 99% จะเกิดกับอัลบูมิน เป็นส่วนใหญ่มากประมาณ 1 กรัม/วัน จากอัลบูมินที่ถูกสลายตัวทั้งหมด 14

กรัม/วัน ส่วน ของเหลวที่ถูกจับเข้าไว้จะกลับออกสู่ท่อไต เนื่องจากการดูดกลับของน้ำในบริเวณนี้ประมาณ 50% ไม่ซ้ำ 99%

การเปลี่ยนแปลงของระดับอัลบูมินในปัสสาวะของผู้ป่วยเบาหวาน

การกรองของอัลบูมินจะเพิ่มขึ้นในเบาหวานระยะแรก เนื่องมาจาก GBM ยอมให้อัลบูมินผ่านได้เพิ่มขึ้น และ GFR เพิ่มขึ้นจาก 125 ไปเป็น 150 มล./นาที

การที่ GBM ยอมให้สารผ่านได้มากขึ้น เป็นเพราะมีประจุลบลดลง เพราะว่า มีการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการเมตาโบลิซึมไปรบกวน ทำให้การเกิด glycosaminoglycan ได้น้อยลง ทำให้มีประจุลบลดลงด้วย และจะไปลดความสามารถในการเลือกคัดสรรโปรตีน หรืออัลบูมิน นอกจากนี้ ยังมีการบสลายของท่อไตเล็กน้อย พบว่ามีการขับเอนไซม์ N-acetyl-β-D-glucosaminidase ของท่อไตออกมาในปัสสาวะเพิ่มขึ้น แต่สารบ่งชี้ของการเกิดโรคที่ท่อไตอื่นๆ เช่น B-macroglobulin และ lysozyme ยังไม่เพิ่มขึ้นในปัสสาวะ

การควบคุมระดับอัลบูมินในพลาสมาโดยไต

ในคนปกติประมาณ 1% ของอัลบูมิน จะจับกับกลูโคส แบบ covalent กับ lysine เป็นกลัยเคทอัลบูมิน (Glycated albumin, g-Alb) การจับกับกลูโคส จะทำให้ประจุสุทธิของอัลบูมิน เปลี่ยนจาก -18 ไปเป็น -19 ทำให้ผ่าน GBM ยากขึ้น รวมทั้งถูกจับโดยเซลล์ของ proximal tubule ได้ยากกว่าปกติ เพราะว่าประมาณ 10% ของอัลบูมิน ที่พบในปัสสาวะปกติ จะเป็น g-Alb หรือเป็น 10 เท่าของอัตราส่วนที่พบในพลาสมา การที่เซลล์ของ proximal tubule มีความสามารถในการดูดกลับจำกัด และมีโปรตีนที่ผ่านมายังท่อไตเพิ่มขึ้นในผู้ป่วยโรคไต ทำให้การดูดกลับของอัลบูมินอิสระ (ungly-

cated) ลดลงด้วย เพราะฉะนั้นอัตราส่วนของ g-Alb ในปัสสาวะจะเท่ากับในพลาสมา

จากรายงานการประชุม International Symposium on "Preventing the Kidney disease of Diabetes Mellitus" ในปี ค.ศ. 1987 พบว่าผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ต้องการอินซูลิน (Insulin-dependent diabetes mellitus, IDDM, Type I) จะมี 30-40% ที่เกิดโรคไต ที่พบมากที่สุดคือประมาณ 15 ปีหลังเป็นเบาหวาน พบว่าอาการของโรคไต จะเกิดใน 80% ของผู้ป่วยเบาหวาน type I โดยพบว่า มีอัลบูมินขับออกทางปัสสาวะเพิ่มขึ้นเป็นเวลานาน ส่วนในเบาหวานชนิดที่ไม่ต้องการอินซูลิน (Non-insulin dependent diabetes mellitus, NIDM, Type II) พบเพียงประมาณ 25% แต่เนื่องจาก Type II มีมากกว่า Type I ประมาณ 10 เท่า เพราะฉะนั้นจึงมักจะมีรายงานการศึกษา Type II เป็นส่วนใหญ่ เกณฑ์ในการรักษา

ใน DM ระยะแรก การรักษาจะพยายามทำให้สาเหตุที่จะไปรบกวนการทำงานของไต หายไป หรือยืดเวลาการเกิดโรคไต ในเบาหวาน type I ต้องมีการควบคุมน้ำตาล และความดันเลือด อย่างเคร่งครัด อาจต้องให้ยาลดความดันช่วย จากการศึกษาพบว่า แม้ผู้ป่วยเบาหวานจะมีความดันเลือดปกติ การทำให้อัลบูมินในปัสสาวะลดลงทำได้โดยยับยั้งการเปลี่ยน angiotensin I ไปเป็น angiotensin II โดยใช้สารยับยั้งคือ enalapril Angiotensin II ซึ่งทำหน้าที่บีบ efferent arterioles ของโกลเมอรูลัส ถ้าขาดไป ก็จะทำให้ arteriole ขยายตัวทำให้ลด แรงดันเลือดขณะกรองผ่านกรวยไตลงได้ แต่ไม่ได้เปลี่ยนความสามารถในการเลือกคัดสารของกรวยไต

การควบคุมน้ำหนัก และจำกัดอาหารโปรตีน

ในผู้ป่วยเบาหวาน type II ระยะแรกๆ จากโปรตีน 70 กรัม/น้ำเป็น 42 กรัม/กิโลกรัม/วัน จะช่วยป้องกันการเกิดโรคไตระยะรุนแรง เนื่องจากจะทำให้ GFR กลับสู่สภาพปกติ

คำจำกัดความ

ในปี ค.ศ. 1987 มีผู้ให้คำจำกัดความของการขับอัลบูมินทางปัสสาวะปกติ ว่าไม่เกิน 20 ไมโครกรัม/นาที หรือ 30 มก./วัน ถ้ามีการขับอัลบูมิน 20-200 ไมโครกรัม/นาที แสดงถึงมีการขับถ่ายเพิ่มขึ้นหรือเรียกว่า "Microalbuminuria" และถ้าเกิน 200 ไมโครกรัม/นาที จะเรียก Clinical proteinuria หรือ "macroproteinuria" การจะบอกว่ามีการขับอัลบูมิน เพิ่มขึ้นจะต้องตรวจปริมาณในปัสสาวะซ้ำอย่างน้อย 2-3 ครั้ง

การเรียกว่า Micro- หรือ Macroalbuminuria นั้นไม่เหมาะสม เพราะว่าจะไปสัมพันธ์กับขนาดของโปรตีน เช่น micro-macroglobulin สำหรับ IgG และตัวที่ใหญ่กว่า หรือ macroamylase จะหมายถึง amylase ที่เกาะอยู่กับโมเลกุลอื่น กลายเป็นสารเชิงซ้อนขนาดใหญ่ ดังนั้นอัลบูมินปกติ จะไม่มีขนาดแตกต่างกันไป เพราะฉะนั้นจึงไม่มีทั้ง micro หรือ macro- ทั้งในพลาสมาและปัสสาวะ

Proteinuria อาจเกิดขึ้นโดยมีอาการ หรือไม่มีอาการ เช่น เกิดร่วมกับการมีอาการของโรคไต อาจจะเป็นหรือไม่มีร่วมกับการมีเลือดออกในปัสสาวะ (hematuria) ถ้ามีเลือดออกร่วมด้วย แสดงว่าสาเหตุของการเกิดโรคไตจะเกี่ยวกับการทำงานของโกลเมอรูลัส

Intermittent proteinuria - มักจะเป็น benign โดยมีการรั่วของโปรตีนออกมาเป็นครั้งคราว บางทีเรียก benign transient proteinuria, functional proteinuria หรือ postu-

ral proteinuria

- ก. Benign transient proteinuria - จะใช้กับการมี ที่มีปริมาณโปรตีนในปัสสาวะผิดปกติเพียงไม่กี่วัน มักพบในเด็ก, วัยรุ่น
- ข. Functional proteinuria จะมีการขับโปรตีนทางปัสสาวะออกมากกว่าปกติโดยไม่มีโรคใด อาจเกิดร่วมกับการมีไข้ ออกกำลังอย่างหนัก ภาวะความเย็น หรือ มีความเครียด มีภาวะโรค congestive heart failure, seizuers, การผ่าตัดในช่องท้อง และหลังการรักษาด้วย sympathomimetic drugs

จากการรายงานการศึกษาผู้ป่วยที่มารักษาตัวในโรงพยาบาล General Hospital 313 ราย พบว่า 10% มีโปรตีนออกมาทางปัสสาวะแบบเป็นครั้งคราว โดยมีสาเหตุจากความผิดปกติในการทำงานของโกลเมอรูลัสในระดับต่างๆ กัน และภาวะนี้จะหายไปในประมาณ 10 วัน และพบว่าการมีภาวะหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงไตบีบตัว (Renal vasocentstriction) เป็นกลไกเริ่มแรกของการเกิดภาวะโปรตีนรั่วออกทางปัสสาวะชนิดนี้

- ค. Postural หรือ orthostatic proteinuria พบในคนที่อยู่ท่ายืนตรง หรือ lordotic position ปัสสาวะที่ถ่ายออกตอนเช้าจะมีโปรตีนอยู่ในเกณฑ์ปกติ ซึ่งไม่ทราบกลไกแน่ชัด แต่ postural proteinuria จะเกิดจากสาเหตุที่โกลเมอรูลัสเป็นสำคัญ และอาจสัมพันธ์กับการเพิ่มจำนวนของหลอดเลือดดำ หรือทางเดินลิมฟ์ของไต หรือทั้งสองอย่าง เมื่ออยู่ท่ายืนตรง ภาวะนี้จะเกิดเพียงเล็กน้อย แต่ถ้าพบว่ามีโปรตีนรั่วออกมาในลักษณะนี้ ก็ควรตรวจปัสสาวะบ่อยๆ เพราะว่ามันจะมีโรคใดเกิดร่วมด้วย

Persistent proteinuria - หมายถึงมีการพบโปรตีน ทุกครั้งที่เก็บปัสสาวะ แบ่งได้เป็น 3 แบบ

- ก. Prerenal or overflow proteinuria - ไม่ได้เกิดจากความผิดปกติของไต แต่พบโปรตีนขนาดเล็กๆ ผ่านกรวยไตออกมา เนื่องจากมีปริมาณมากเกินไปกว่าจะดูดกลับได้ เช่น ใน hemoglobinuria, myoglobinuria, lysozymuria ร่วมกับ myelomonocytic leukemia และ light chain proteinuria ร่วมกับ Multiple myeloma

- ข. Renal proteinuria อาจเกิดจากความผิดปกติของโกลเมอรูลัส ท่อไต หรือทั้ง 2 สาเหตุ เกิดได้จากมีภาวะโรคของระบบต่างๆ เช่น amyloidosis, carcinoma, Leukemia, multiple myeloma, เป็นต้น เกิดจากโรคติดเชื้อ เช่น โรคตับอักเสบบี, มาลาเรีย, ซิฟิลิส หรือเกิดจากยาหรือสารพิษ เช่น ได้รับสารเกลือทองคำ, เฮโรอีน, ลิเทียม, สารปรอท, penicillamine, trimethadone หรือจากสาเหตุอื่น เช่น congenital Nephrotic Syndrome, Preeclampsia, transplant rejection เป็นต้น

ถ้าโปรตีน ที่หลุดออกมาในปัสสาวะ มีขนาดปานกลาง (40000-90000 da) เช่น อัลบูมิน แสดงว่าความผิดปกติของโกลเมอรูลัส เป็นแบบที่ยังสามารถทำการเลือกคัดชนิดสาร ให้กรองผ่านได้ (Selective proteinuria) แต่ถ้ามีโปรตีนขนาดใหญ่ขึ้น แสดงว่าความสามารถในการเลือกคัดสารเสียไป จะเรียกว่า Non-selective proteinuria การที่ย่อยของโกลเมอรูลัส มีความสามารถในการเลือกคัดสารเปลี่ยนไป

เกิดจากการมี ขนาดของรูพรุนใหญ่ขึ้น หรือมีจำนวนรูพรุนมากหรือประจุของ GBM เปลี่ยนไปก็ได้ สารเชิงซ้อนของปฏิกิริยาภูมิคุ้มกัน (Immune complex) สามารถเกาะที่ GBM ทำให้มีจำนวนรูเกิดมากขึ้น หรือเปลี่ยนจำนวนประจุโดยไปจับกับ proteoglycans ที่ไกลเมอรูลัส พบได้บ่อยใน nephritis ที่เกิดร่วมกับการติดเชื้อ streptococci หรือ SLE และเกิดแอนติบอดีต่อตัวเอง (auto-antibody) ต่อ GBM ได้ เช่นใน Goodpasture's disease จนผู้ป่วยเบาหวานจะมี GBM หนาขึ้น และมีจำนวนประจุบวกลดลงทำให้ความสามารถในการเลือกคัดสารเปลี่ยนไป

Glomerular proteinuria อาจมีโปรตีนในปัสสาวะมากกว่าใน primary tubular proteinuria และจะมีโปรตีนขนาดค่อนข้างใหญ่ซึ่งจะไม่พบใน primary tubular proteinuria อาจแยกภาวะการมีโปรตีนออกมาในปัสสาวะได้เป็นแบบอ่อน (mild) หรือแบบที่เป็นรุนแรง (heavy, Nephrotic Syndrome) ซึ่งแบบที่เป็นรุนแรงจะมีโปรตีนในปัสสาวะเกินกว่า 3 กรัม/1.73 ลบ.ม./วัน หรือมากกว่า 50 มก./น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/วัน และแสดงว่า มีการเปลี่ยนแปลงของความสามารถ ในการเลือกคัดสาร ของไกลเมอรูลัส และ Nephrotic syndrome จะมีโปรตีนรั่วออกทางปัสสาวะเป็นจำนวนมาก (massive proteinuria), มีอัลบูมินต่ำจนเลือด (hypoalbuminemia), บวม (edema), ไขมันในเลือดสูง (hyperlipidemia) และมีไขมันออกทางปัสสาวะ (lipiduria)

การดูดกลับของโปรตีนที่ท่อไตต้องอาศัยพลังงาน และเป็นกระบวนการที่เน้นมีการเลือกคัด (non-selective) หรือแย่งกับสารอื่น (competitive process) ถ้า proximal

tubule เสีย โปรตีนที่กรองผ่าน จะออกมาในปัสสาวะเพิ่มขึ้น primary tubular proteinuria เกิดจากการดูดกลับ ของโปรตีนขนาดเล็กๆ ได้ไม่หมด การตรวจสอบโปรตีนในปัสสาวะ จะเป็นการตรวจสอบระยะ เริ่มต้นของภาวะผิดปกติของไต (renal parenchymal disorders) และเป็นประโยชน์ในการรักษา

การเกิดภาวะโปรตีนรั่วทางปัสสาวะ เนื่องจากความผิดปกติของท่อไต (tubular proteinuria) อาจเกิดอย่างเดียวหรือร่วมกับความผิดปกติของไกลเมอรูลัสก็ได้ โปรตีนที่พบเพิ่มขึ้นในปัสสาวะ เนื่องจากความผิดปกติของท่อไต รวมถึง β_2 macroglobulin, retinol-binding protein, lysozyme, α_1 -acid glycoprotein และฮิรริมัน และเอนไซม์หลายชนิด ถ้าเป็น tubular proteinuria อย่างเดียวมักจะพบโปรตีนในปัสสาวะ ไม่เกิน 1 กรัมต่อวัน และมีอัลบูมินต่ำด้วย ส่วนใหญ่จะเป็นโปรตีน ที่มีขนาดไม่เกิน 50000 Da มีโรคหลายชนิดที่ทำให้เกิด tubular proteinuria ได้ (ตาราง 1) และชนิดและปริมาณของโปรตีนจะมีต่างๆ กันระหว่าง glomerulus และ tubular proteinuria (ตาราง 2)

ค. Post-renal proteinuria เกิดได้จากการติดเชื้อ หรือมีการสลายตัว degenerative lesion ของ renal pelvis, ท่อน้ำปัสสาวะ, กระเพาะปัสสาวะ, ต่อมลูกหมาก, ท่อปัสสาวะ หรืออวัยวะเพศภายนอก ซึ่งสามารถทำการการแยกวิเคราะห์ได้โดยไม่มีปัญหา สาเหตุอื่นได้แก่ การมีเลือดออกและการติดเชื้อ ใน genitourinary tract เช่น cystitis

ในการตรวจวัดโปรตีนในปัสสาวะ 24 ชั่วโมง ควรทำการตรวจวัดปริมาณครีเอตินีนร่วมด้วย เพื่อเป็นตัวบอกถึงว่าการเก็บปัสสาวะได้

ตารางที่ 1 โรคต่างๆ ที่ทำให้เกิด tubular proteinuria

Congenital anomalies

Bartter's syndrome
 Fanconi syndrome
 Occulocerebrorenal dystrophy
 Renal dysplasia

Familial asymptomatic tubular
 proteinuria
 Renal tubular acidosis
 Renal cystic disorder

Systemic disease

Hereditary : Cystinosis
 Galactosemia
 Oxalosis
 Acquired : Balkan nephropathy
 Sarcoidosis

Heritable fructose intolerance
 Glycogen storage disease
 Wilson's disease
 Multiple myeloma
 Systemic lupus erythematosus

Acute renal disease

Acute renal failure
 Renal infarction

Acute tubular necrosis
 Transplant rejection

Infectious disease

Pyelonephritis
 Viral- or bacterial-associated interstitial nephritis

Drugs and toxins

Acute hypersensitivity
 interstitial nephritis
 (penicillin, cephalosporins,
 sulfonamides, phenytoin)
 Cd, Pb, As, Hg, ethylene
 glycol, CCl₄

Aminoglycoside toxicity
 Analgesic nephropathy
 Cyclosporin toxicity
 Laxative abuse
 Vitamin D toxicity

Miscellaneous

Exercise
 Hypercalcemia
 Hypokalemia
 Idiopathic muscle trauma
 (myoglobin)
 Pancreatitis
 Renal tuberculosis

Hemolytic disorders
 Hyperparathyroidism
 Interstitial nephritis
 Nephrocalcinosis
 Obstructive uropathy
 Renal ischemia
 Vesicoureteral reflux

ตารางที่ 2 ชนิดและปริมาณโปรตีนใน Glomerular และ Tubular proteinuria

Protein	Normal	Primarily Glomerular disease	Primarily Tubular disease
Plasma			
Albumin (g/L)	40	10-40	40
Low protein (mg/L)	4	1-4	4
Urine			
Total protein (g/24 hr.)	<0.15	>2.5	<2.5
Albumin (mg/24 hr.)	50	>500	<500
β_2 -macroglobulin (mg/24 hr.)	0.150	0.150	20.0
Low-M _r proteins (mg/24 hr.)	15	400	440
High-M _r proteins (mg/24 hr.)	17	4400	400
Ratio low M _r /High M _r	0.86	0.17	1.48
Tubular reabsorption of filtered protein (%)	95	3	50

ครบ ค่าปกติของครีเอตินีนในปัสสาวะของผู้ชาย
= 15-25 มก./ก.ก./วัน และ ผู้หญิง = 10-
22 มก./ก.ก./วัน

Ginsberg และคณะ ได้รายงานการศึกษา
ในผู้ใหญ่ และ Houser ได้รายงานการศึกษาใน
เด็ก เกี่ยวกับการตรวจวัดปริมาณโปรตีนในปัสสาวะ
ที่แน่นอน โดยใช้น้ำปัสสาวะที่เก็บโดยไม่กำหนด
เวลา (untimed หรือ spot urine) พบว่า
มีค่าอัตราส่วนของ protein/creatinine
(UP/Cr) สัมพันธ์กับค่าโปรตีนทั้งหมด ที่ถูกขับ
ออกมาทั้งในคนปกติและผู้ป่วย โดย Houser พบ
ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r) = 0.987
(โปรตีนที่ถูกขับออกมาทั้งหมด เป็น กรัม/ตร.ม.
/วัน = $1(1.02 \times \text{UP/Cr}) - 0.12$) หรือ

โปรตีนที่ถูกขับออกทั้งหมดเป็นกรัม/วัน = UP/Cr)
การเก็บปัสสาวะโดยไม่ต้องกำหนดเวลานี้ มีข้อดี
หลายประการ คือการเก็บทำได้ง่าย และมีความ
น่าเชื่อถือ (reliability) ดีเท่าๆ กับ
การใช้น้ำปัสสาวะที่เก็บโดยกำหนดเวลา (timed
urine) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเด็ก
สาเหตุของการมีโปรตีนรั่วออกทางปัสสาวะ

ประมาณปี ค.ศ. 1979 ส่วนใหญ่การรายงานผล
จะเป็นแค่การตรวจวัดปริมาณโปรตีนรวม
ต่อมาได้มีการดัดแปลงวิธีการต่างๆ จนถึงปัจจุบัน
สามารถบอกชนิดโปรตีนในปัสสาวะ ว่าเป็นโปรตีน
ที่เกิดจากความผิดปกติของโกลเมอรูลัส ท่อไต
หรือทั้งสองสาเหตุ โดยโปรตีนที่เกิดจากความผิดปกติ
ของโกลเมอรูลัสจะมีขนาดใหญ่มากว่า

กลไกของการเกิด คือ GBM เสียสภาพ โดยไม่สามารถแยกชนิดโปรตีนตามขนาด ประจุ หรือรูปร่างได้ สาเหตุสำคัญของ glomerular proteinuria คือเบาหวาน การมีโปรตีนออกมาทางปัสสาวะอย่างมาก (Heavy proteinuria) แสดงถึงการเป็นเบาหวานที่มีอาการของไตร่วมด้วย (Diabetic nephropathy) ผู้ป่วยเบาหวานประมาณ 10-30% จะโปรตีนออกทางปัสสาวะ เนื่องจากโครงสร้างของโกลเมอรูลัสมีบาดแผล และเสียความสามารถในการเลือกคัดสาร พบผู้ป่วยเบาหวานที่มีอาการทางไตร่วมด้วยได้น้อยที่สุดในสหรัฐอเมริกา ที่เป็นโรคไตขั้นสุดท้ายของผู้ใหญ่ แม้ว่าอาจพบได้ในทุกอายุ แต่ส่วนใหญ่ การเป็นโรคไตระยะสุดท้าย จะเกิดในอายุ 45-65 ปี

การมีโปรตีนรั่วออกทางปัสสาวะ ในระยะแรกของเบาหวานที่มีอาการทางไตร่วมด้วย พบว่าเกิดจากความผิดปกติของโกลเมอรูลัส Vibrietti ศึกษาเมื่อปี ค.ศ. 1983 ถึงการขับอัลบูมินออกทางปัสสาวะ และ plasma clearance ของอัลบูมิน (Stoke radius 3.6 นาโนเมตร) และ IgG (5.0 นาโนเมตร) ใน IDDM ที่มีโปรตีนออกทางปัสสาวะระยะต่างๆ กัน เทียบกับคนปกติหรือผู้ป่วยที่ไม่มีอาการของไต พบว่าค่าเฉลี่ยของอัลบูมิน และ IgG clearance สูงขึ้นชัดเจน ($p < 0.001$ และ $p < 0.005$) อัตราการขับออกทางปัสสาวะจะเพิ่มขึ้นทั้งอัลบูมิน และ IgG ซึ่งมีประจุลบมากกว่าอัลบูมิน (pI ของ IgG = 6.4-7.2, อัลบูมิน = 4.7) แสดงถึงการมี hemodynamic factor นอกเหนือจากการเปลี่ยนแปลง electrostatic negative barrier ของผนังหลอดเลือดฝอยของโกลเมอรูลัส ที่ทำให้ความสามารถในการเลือกคัดกรองสาร เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยเบาหวานที่มีโรคไตร่วมด้วย แต่กลไกยังไม่ชัดเจน และโดย

ทั่วไปจะยอมรับกันว่า การมีน้ำตาลสูงในเลือด เป็นปัจจัยสำคัญ ที่ทำให้เกิดโรคไตในผู้ป่วยเบาหวาน เพราะว่ากลูโคสที่สูงขึ้นจะรวมกับโปรตีนต่างๆ เช่น อินซูลิน, คอลลาเจน โดยน้ำซีเอนาม์ และพบว่ากลูโคสสามารถเกาะกับโปรตีนของ GBM ทำให้เกิด reactive group ซึ่งจะไปรวมกับโปรตีนของซีรั่ม เช่น อัลบูมิน และ IgG เป็นสารประกอบเชิงซ้อน หรืออาจเป็นตัวทำให้เกิดการสลายตัวของผนังหลอดเลือดฝอยของโกลเมอรูลัส และสนับสนุนการเกิด mesangial matrix expansion

ผู้ป่วยเบาหวานที่พบโรคไตระยะแรกๆ การตรวจสอบสมรรถภาพการทำงานของไต จะพบว่าปกติ ยกเว้นมีอัตราการกรองผ่านกรวยไต (Glomerular Filtration Rate, GFR) เพิ่มขึ้น บางราย และอาการที่ยังไม่แสดงออก (sub-clinical state) อาจเกิดขึ้นในผู้ป่วยเบาหวานเป็นเวลานานหลายปี อาการแรกที่พบคือมีโปรตีนออกทางปัสสาวะเป็นจำนวนมากถึง 50-200 มก./24 ชั่วโมง และปัสสาวะแปรได้มาก เมื่อเป็นโรคมากขึ้น ค่าก็จะคงที่ขึ้น GFR จะลดลง การขับอัลบูมินออกทางปัสสาวะจะมากกว่า 400 มก./24 ชั่วโมง และมีความดันโลหิตสูง เป็นลักษณะร่วม 3 ประการ (Triad) ของโรคไตที่เกิดขึ้นเบาหวาน ถ้าตรวจโดยตัดชิ้นเนื้อมาศึกษา (histology) ในระยะที่มีอาการแสดงของโรคหรือระยะที่โรคดำเนินความรุนแรงขึ้น จะพบ GBM มีการหนาตัวขึ้น, mesangial matrix มีปริมาณเพิ่มขึ้น และโกลเมอรูลัสเสียไปเป็นบางส่วน (Focal glomerulosclerosis)

เคยมีรายงานการพบ glomerular proteinuria ในผู้ป่วย pheochromocytoma, Charcot-Marie-tooth syndrome, renal cell cancer ร่วมกับ progressive immune complex glomerulonephritis,

nephropathy ร่วมกับ urinary diversion, giant lymph node hyperplasia, Hypertensive nephrosclerosis, IgA nephropathy, cirrhosis ที่มีโรคไตร่วมด้วย และ nonparasitic chyuria การมีโปรตีนออกทางปัสสาวะเนื่องจากความผิดปกติของท่อไต (Tubular Proteinuria)

ในผู้ป่วยชนิดนี้ พบโปรตีนในปัสสาวะได้มากกว่า 50 ชนิด (ตาราง 3) แสดงโปรตีนที่สำคัญ, β_2 -macroglobulin ซึ่งพบครั้งแรกเมื่อ ค.ศ. 1964 และสามารถทำให้บริสุทธิ์ได้โดย Berggard และ Bearn ในปี ค.ศ. 1968 พบครั้งแรกในปัสสาวะของผู้ป่วย Wilson's disease และภาวะพิษจากแคดเมียม เป็น globular protein มีกรดอะมิโน 100 ตัว เป็นส่วนหนึ่งของ mixed histocompati-

ble complex (MHC) antigen บนผิวเซลล์ทั่วร่างกายเมื่อเกิดเลือดแดงและ trophoblast β_2 -macroglobulin จะถูกขับออกทางปัสสาวะเพิ่มขึ้นในผู้ป่วยหลายโรคซึ่งมีท่อไตผิดปกติรวมทั้งผู้ป่วยไตวายชนิดเฉียบพลันและเรื้อรัง, การปฏิเสธการปลูกถ่ายไต, tubular interstitial disease, Balkan nephropathy, polycystic kidneys, pyelonephritis, chronic glomerulonephritis, เบาหวาน และมะเร็งต่อมน้ำเหลือง เนื่องจาก β_2 -macroglobulin จะสลายตัวอย่างรวดเร็วในปัสสาวะที่เป็นกรด เพราะฉะนั้นจึงใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงภาวะความผิดปกติของท่อไตได้ไม่ผิด นอกจากนี้ การเปลี่ยนแปลงระดับปริมาณในซีรัมก็ขึ้นกับระดับการกรองของกรวยไต เพราะฉะนั้นจึงนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้การทำงานของไต

ตารางที่ 3 โปรตีนสำคัญที่พบใน tubular proteinuria

Enzymes : amylase, lysozyme, ribonuclease, N-acetyl-glucosaminidase, and alanine aminopeptidase

Polypeptide hormones : calcitonin, follitropin, lutropin, glycagon, somatotropin, insulin, parathyrin, and prolactin

Polyclonal immunoglobulin fragments : kappa and lambda light chains

Fibrin and split products of fibrin

Retinol binding protein, α_2 -microglobulin, β_2 -microglobulin, and α_1 -microglobulin

Retinol-binding protein (RBP) เป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (21,000) อยู่ในพลาสมาโดยรวมกับทรานส์เรติน หรือ transthyretin มีหน้าที่ขนส่งวิตามินเอ ปกติในพลาสมาปริมาณ 46 มก./ลิตร และในปัสสาวะ

มีประมาณ 100 นาโนกรัม/24 ชั่วโมง จะขับออกทางปัสสาวะเท่าๆ กับ β_2 -macroglobulin ข้อดีของ RBP คือคงตัวในปัสสาวะที่เป็นกรด Bernard ศึกษาในปี ค.ศ. 1982 ทั้ง β_2 -microglobulin และ RBP ในผู้ป่วยโรค

ไต 68 รายที่มีความผิดปกติของโกลเมอรูลัส, ท่อไต และทั้งสองอย่างร่วมกัน พบว่าการขับ RBP ออกทางปัสสาวะสูงขึ้น 48 ราย แต่ β_2 -macroglobulin สูงขึ้น 42 ราย และได้สรุปว่าปรีตีนทั้ง 2 จะเพิ่มขึ้นในปัสสาวะของผู้ป่วยโรคไต และ RBP เป็นดัชนีที่ดีกว่าสำหรับบอกความผิดปกติในการทำงานของท่อไต เนื่องจากมีความคงตัวในสภาพเป็นกรด

Yu และคณะ ศึกษาในปี ค.ศ. 1983 เสนอแนะว่า α_1 -microglobulin สามารถใช้เป็นดัชนีของความผิดปกติในการทำงานของท่อไตได้ รายงานอื่นๆ ได้แก่ การศึกษาเอนไซม์ N-acetyl-D-glucosaminidase และ amino aminopeptidase ซึ่ง คัดแปลงมาจากเซลล์ของท่อไต และถูกขับออกจากระหว่างที่มีการทำลายท่อไต

Scarpioni และคณะ ศึกษาในปี ค.ศ. 1981 ถึงประโยชน์ของการตรวจวัดปริมาณ lysosome, RBP, β_2 -macroglobulin และ อัลบูมินในปัสสาวะของผู้ป่วย multiple myeloma ที่มีและไม่มีโรคไตร่วมด้วย ผู้ป่วยที่พบ Bence-Jones protein ในปัสสาวะ และไม่มีพบความผิดปกติในการทำงานของไต จะพบปรีตีนที่มีขนาดเล็กๆ เท่ากับคนปกติ แต่ถ้ามี Bence-Jones protein ออกมาด้วย จะพบปรีตีนอื่น เพิ่มขึ้นชัดเจน และจะมากยิ่งขึ้นถ้ามีความผิดปกติในการทำงานของไต เขาได้สรุปว่า Bence-Jones protein อาจเป็นสาเหตุของการขับปรีตีนขนาดเล็กอื่นมากขึ้น และจะมากยิ่งขึ้นถ้าไตทำงานผิดปกติ การขับ β_2 -macroglobulin จะมากขึ้นใน multiple myeloma ชนิดที่ขับปรีตีนชนิด lambda light chain แสดงว่าเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นที่ท่อไตสำหรับการดูดกลับปรีตีนทั้งสองชนิด

การติดเชื้อรุนแรง (Sepsis) เป็นสาเหตุ

สำคัญอีกอย่างหนึ่งของการเกิดภาวะไตวายเฉียบพลัน แต่ยังไม่มีทราบกลไกที่แน่ชัด การมี immune complex ไปเกาะที่เซลล์ของโกลเมอรูลัสหรือท่อไต อาจทำให้เกิดการทำลายบริเวณนั้นและยับยั้งซึ่งเป็นอันตรายต่อไต เช่น Aminoglycosides ก็อาจทำให้เกิดการทำลายท่อไตได้ Linton และคณะ ศึกษาในปี ค.ศ. 1984 ในผู้ป่วยติดเชื้อรุนแรงที่มีและไม่มีไตวายพบว่าทั้งสองกลุ่มมีปรีตีนออกทางปัสสาวะเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะมี β_2 -macroglobulin แม้ว่าจะไม่ได้รับ aminoglycosides ในการรักษาภาวะติดเชื้อรุนแรงก็ตาม ดังนั้น เขาจึงสรุปว่าการมีปรีตีนรั่วออกมา ในปัสสาวะของผู้ป่วยติดเชื้อรุนแรง เกิดจากความผิดปกติของท่อไต และการมีปรีตีนออกมาทางปัสสาวะนี้ ไม่ได้ทำให้ความรุนแรงของไตวายชนิดเฉียบพลันเพิ่มขึ้น ซึ่ง Richmond และคณะ ได้ยืนยันข้อสรุปนี้ครั้งหนึ่งในปี ค.ศ. 1982

Mixed proteinuria

ยาทุกชนิด ทำให้เกิดการรั่วของปรีตีนออกทางปัสสาวะ ได้ เช่น

Antitransplantation drug, ยาละลายก้อนโพลีเมอ, d-penicillamine จะทำให้เกิด prerenal proteinuria

ยากดระบบภูมิคุ้มกัน, สาร lithogenic ทำให้เกิด post-renal proteinuria

Glomerular proteinuria เกิดได้จาก ก. ยาที่กระตุ้นการเกิดสารเชิงซ้อนอิมมูน เช่น trimethadione, ลิเทียม และ d-penicillamine

ข. ยาที่กระตุ้นให้เกิดการสร้างแอนติบอดีต่อ Non-denatured DNA เช่น hydralazine, griseoulvin, α -methyldopa

ค. ยาที่กระตุ้นการสร้างแอนติบอดีต่อ CBM ได้แก่ d-penicillamine

Tubular proteinuria เกิดจาก

ก. ยาที่ทำให้เกิด anaphylaxis เช่น
โปรตีนจากภายนอก, แอนติบอดี, ยาระงับปวด

ข. ยาที่เป็นพิษโดยตรงต่อท่อไต เช่น
aminoglycoside, cyclosporin

ค. ยาที่ทำให้เกิด interstitial ne-
phritis เช่น phenindione, phenacetin
และ ยาปฏิชีวนะบางชนิด

พิษจากแคดเมียม (Cadmium) ทำให้มีโปร-
ตีนออกทางปัสสาวะ โดยแคดเมียม จะสะสมใน
renal cortex ทำให้เกิด glomerular หรือ
tubular หรือ mixed proteinuria ได้มี
รายงาน การพบโปรตีนในปัสสาวะแบบปอด้าน
ภาวะตะกั่วเป็นพิษ แสดงว่าการเป็นพิษต่อท่อไต
ต่างจากแคดเมียม และสารปรอท และการมี
nontubular proteinuria ในผู้ป่วยที่ได้รับ
พิษจากตะกั่ว แสดงว่าน่าจะมีพิษจากสารอื่นเข้า
มาร่วมด้วย

การมีการติดเชื้อของทางเดินปัสสาวะ แบบ
ซ้ำซาก อาจทำให้เกิด chronic pyeloneph-
ritis และการทำลายไตได้ ยาปฏิชีวนะ เช่น
cephalosporin และ aminoglycoside ที่
ใช้รักษาการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ อาจทำให้
ไตเสียหายได้ Schena และคณะศึกษาในปี
ค.ศ. 1981 พบ β_2 -macroglobulin ในปัส-
สาวะเพิ่มขึ้นในผู้ป่วยที่ได้รับ aminoglycoside
เพื่อรักษาการติดเชื้อทางเดินปัสสาวะทุกรายและ
การเพิ่มจะคงระดับ อยู่ตลอดเวลาที่มีการทำงาน
ของท่อไตผิดปกติ และ β_2 -macroglobulin
จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และตามด้วยเพิ่มการของครีอะ-
ตินีน แสดงถึงการทำงานของไตผิดปกติ

ผู้ป่วยที่มีอาการไข้ (Febrile) มักพบ
โปรตีนในปัสสาวะชนิดผสม อาจจะมีหรือไม่มีโรค
ไตเลย ก็ได้

หญิงมีครรภ์ มักพบโปรตีนออกทางปัสสาวะ

แบบชั่วคราวชั่วคราว และเป็นเนื่องจากไกลเมอรู-
ลัส ซึ่งการพบโปรตีนขนาดเล็กๆ ออกมา มักพบ
ภายหลังจากคลอด รายที่มี pre-eclampsia
ในระยะ 3 เดือนสุดท้ายก่อนคลอด 47% จะมี
โปรตีนออกทางปัสสาวะ เนื่องจากทั้งไกลเมอรู-
ลัสและท่อไตทำงานผิดปกติ โดยไม่ขึ้นกับความดัน
โลหิต

การออกกำลังกาย ทำให้เกิดโปรตีนออก
ทางปัสสาวะทั้งสาเหตุจากไกลเมอรูลัส และท่อ
ไต มีรายงานศึกษาอัลบูมิน และ β_2 -macro-
globulin ในผู้ป่วย 60 คน และเด็ก ก่อนและ
หลังการออกกำลังกาย พบว่าอัลบูมินเท่านั้นที่เพิ่ม
ขึ้นอย่างชัดเจน แสดงถึงการมี glomerular
permeability เพิ่มขึ้น บางรายพบเป็นแบบ
tubular หรือแบบผสม ในนักกีฬาฟุตบอล,
บาสเกตบอล และแฮนด์บอล อีกรายหนึ่ง ทำ
การศึกษานักวิ่งระยะยาว พบทั้งแบบ glome-
rular และ tubular โดยพบว่ามีเอนไซม์
ของท่อไตขับออกมาทางปัสสาวะเพิ่มขึ้นด้วย และ
ถ้าเป็นเบาหวานชนิด IDDM ร่วมด้วย จะมีอัล-
บูมินสูงขึ้นกว่าคนปกติ พบว่าการมีอัลบูมินออกในปัส-
สาวะเนื่องจากการออกกำลังกายใน IDDM จะ
กลับสู่ปกติใน 6-15 วัน หลังรักษาด้วยอินซูลิน
แสดงว่าความผิดปกตินี้เกิดจากไกลเมอรูลัส ร่วม
กับ ภาวะเมตาบอลิซึม และคิดว่า GBM อาจจะ
มี permeable เพิ่มขึ้นระหว่างการออกกำลังกาย
รายงานอื่นๆ ก็สนับสนุนว่า ความสามารถ
ในการเลือกคัดสารของ GBM อาจเปลี่ยนแปลง
ก่อนการเปลี่ยนแปลงด้านโครงสร้าง เช่นการ
หนาตัวขึ้น พบว่าการขับโปรตีนออกจะสูงสุดประ-
มาณ 20-30 นาที หลังจากหยุดการออกกำลังกาย
และพบใน ช่วง 24 ชั่วโมง

ในผู้ป่วย Trauma non-burn ชนิดของ
โปรตีนขึ้นกับความรุนแรงของแผล ระยะแรกจะมี
โปรตีนรวม, อัลบูมิน และ γ -glutamyl-

transferase (γ -GT) เพิ่มขึ้นทุกราย แสดงถึงมีทั้งความผิดปกติของไกลเมอรูลัส และท่อไต ความรุนแรงของอาการ จะสัมพันธ์กับระดับโปรตีนรวม และ อัลบูมิน แต่มิขึ้นกับ γ -GT ส่วน C-Reactive protein เป็น โปรตีนที่ท่อไต จะพบใน trauma ที่เป็นรุนแรง และพบสูงสุดในวันที่ 3 หลังเกิด trauma

ในปี ค.ศ. 1986 Bungard และคณะ ศึกษาในเด็ก 41 คนหลังทำการผ่าตัดเปลี่ยนไต พบระดับโปรตีนรวมในปัสสาวะต่ำลง ในกลุ่มที่รับไตได้ และไม่พบความผิดปกติในระยะก่อนการปฏิเสธไต เมื่อเกิดการปฏิเสธไต จะมีโปรตีนรวมออกทางปัสสาวะเพิ่มขึ้น ตามด้วยโปรตีนขนาดเล็กๆ ภายหลังจากนั้น 3-7 วัน และมีอัลบูมินในปัสสาวะลดลง

ผู้ป่วยไตวายเรื้อรัง และไตอักเสบเรื้อรัง จะพบโปรตีนออกทางปัสสาวะจากสาเหตุความผิดปกติทั้งไกลเมอรูลัสและท่อไต ใน Uroepithelial bladder tumor grade III และ IV จะพบโปรตีนจากไกลเมอรูลัส ออกมาอย่างมาก มากกว่าใน tumor grade I-II และพบโปรตีนจากท่อไต เฉพาะใน grade III-IV

การประเมินภาวะผู้ป่วยที่มีโปรตีนรั่วทางปัสสาวะ สิ่งสำคัญอันดับแรก ของการประเมินภาวะโปรตีนรั่วออกทางปัสสาวะ ในผู้ป่วยเด็กและผู้ใหญ่ มีดังนี้

1. การตรวจโปรตีนชนิดสำคัญ
2. การตรวจชนิดของโปรตีน
3. การตรวจแยกชนิดของสาเหตุ และการมีโปรตีนออกทางปัสสาวะโดยไม่มีอาการหรือร่วมกับอาการของโรคไตอื่น

ถ้าพบโปรตีนปริมาณน้อยๆ (น้อยกว่า 100 มก./ลิตร) ในปัสสาวะ โดยเฉพาะในปัสสาวะที่เข้มข้น โดยมีความหนาแน่นเกิน 1.015 มักจะแสดงถึงภาวะปกติ

การมีโปรตีน 1+ โดย albutix = 300 มก./ลิตร แสดงว่ามีโปรตีนออกมาในปัสสาวะผิดปกติควรศึกษาต่อไป

การมีโปรตีน 2+ มีความผิดปกติ ควรหาปริมาณจากปัสสาวะที่เกิดขึ้นในกำหนดเวลา, ร่วมกับอัตราส่วนของ โปรตีน/ครีเอตินีน ดูภาวะ nephrosis

ถ้าผู้ป่วยมีประวัติ หรืออาการแสดงที่ไม่ได้เป็นโรคไต ถ้าไม่มีเลือดออกร่วมด้วย แสดงถึงระยะปลอดภัย ควรตรวจทุก 1 หรือ 2 สัปดาห์ ต่อว่ามีโปรตีนยังขับออกนานหรือไม่ ถ้ามีภาวะโปรตีนออกทางปัสสาวะแบบชั่วคราว ควรทำซ้ำเพื่อความเป็น fixed หรือ orthostatic ซึ่งควรทำอย่างน้อย 3 ครั้ง เมื่อตื่นนอนตอนเช้า ใหม่ๆ ควรได้ trace หรือ negative และได้ 1+ ในตอนบ่ายถึงเย็น แสดงว่าเป็น orthostatic ถ้าไม่มีเลือดออก หรือมีอาการของโรคไตอื่นร่วมด้วย ควรทำการเพาะเลี้ยงเชื้อในปัสสาวะ และตรวจระดับครีเอตินีนในซีรัมเทียบกันครั้งแรก ถ้าได้ค่าอยู่ในช่วงปกติ ให้ทำซ้ำอีกในระยะ 3-5 ปีต่อไป เพื่อติดตาม

ผู้ป่วยที่เป็น persistent fixed proteinuria ควรทำการตรวจปัสสาวะครบทุกการทดสอบ (complete urinalysis), การเพาะเลี้ยงเชื้อ และตรวจครีเอตินีนในซีรัม ถ้ามีโปรตีนออกทางปัสสาวะ ร่วมกับอาการแสดงอื่นของโรคไต หรือโรคของระบบอื่นๆ ที่ทำให้เกิดโรคไต หรือมีประวัติครอบครัวควรทำการตรวจโดยละเอียดเช่นทำ Renal Ultrasound หรือ IV pyelogram ร่วมกับตรวจหาระดับครีเอตินีน, อัลบูมิน, โคลเลสเตอรอลรวม ในซีรัม และทำการเพาะเชื้อในปัสสาวะ ถ้าพบ renal lesion ด้วยจะช่วยการประเมินโรคไตได้ชัดขึ้น

ผู้ป่วยที่มีโปรตีนออกทางปัสสาวะเป็นเวลานานโดยไม่มีอาการ ควรทำ complete

urinalysis รวมทั้งการตรวจปัสสาวะด้วย กล้องจุลทรรศน์, การเพาะเลี้ยงเชื้อ และตรวจ วัดปริมาณโปรตีน/ครีเอตินีน ในปัสสาวะที่เก็บ ช่วงใดช่วงหนึ่ง หรือ 24-ชั่วโมง ปริมาณครีเอตินีน, อัลบูมิน, โคลเลสเตอรอลรวม, คอมพลีเมนต์ C₃, C₄ และถ้าทำได้ควรทำ anti-streptolysin O, anti-DNAse B, หรือ Streptozyme ด้วย

การถ่ายภาพไต ควรทำงานผู้ป่วยที่มีโปรตีนออกทางปัสสาวะเป็นเวลานานๆ การทำ voiding cystourethrogram ถ้าพบว่า มีอาการของทางเดินปัสสาวะส่วนล่าง หรือมีประวัติของ

การติดเชื้อทางเดินปัสสาวะมาก่อน หรือเมื่อต้องทำการผ่าตัด ผู้ป่วยที่มีโปรตีนในปัสสาวะปกติหรือมีปานกลาง (ไม่ขึ้น orthostatic) ควรตรวจสัปดาห์ 2 ปี

ผู้ป่วยที่มีโปรตีนในปัสสาวะมาก หรือมีเลือดออกร่วมด้วย หรือมีสารคอมพลีเมนต์ในเลือดต่ำเป็นเวลานานๆ สมรรถภาพการทำงานของไตลดลง หรือมีความดันโลหิตสูง อาจจะมีการผิดปกติของโกลเมอรูลัสอย่างชัดเจน เช่น glomerulonephritis และอาจต้องทำการตัดชิ้นเนื้อไตมาทดสอบ ดูตาราง 4

ตารางที่ 4 การทดสอบต่างๆ ที่ใช้ตรวจวัดภาวะโปรตีนในปัสสาวะ

Urinalysis, urine culture

Urine protein quantification, untimed urine protein/creatinine

Urinary proteins while subject is supine and upright

Serum creatinine, albumin, cholesterol

Serum C₃ and C₄ complement studies

Streptococcal studies (antistreptolysin O, anti DNAse B or streptozyme) if indicated

Renal imaging studies (renal ultrasound or intravenous pyelogram)

Voiding cystourethrogram (if indicated)

Urinary Bence Jones protein

วิธีการตรวจวิเคราะห์

โปรตีนในปัสสาวะ ปริมาณที่เกินกว่า 200 มก./ลิตร สามารถตรวจวัดได้โดยวิธีการตกตะกอน (precipitation method) โดยการดัดใช้ฟอสฟอริก หรือ ไตรคลอโรอะซิติก หรือใช้วิธีการรวมตัวกับสี เช่น Bromphenol blue ที่ pH ของ ปัสสาวะ (Albustix, Ames) หรือ

Ames "Micro-Bumintest" ซึ่งมีความไวสูงกว่า วัดได้ตั้งแต่ 40-300 มก./ลิตร

วิธีที่น่าเชื่อถือกว่า วัดได้ 5-30 มก./ลิตร (20 ไมโครกรัม/นาที) จะต้องใช้วิธีทางภูมิคุ้มกัน อาจใช้วิธี radioimmunoassay, latex fixation, Radioimmunodiffusion ปัจจุบันมีวิธี Nephelometric และ turbidime-

tric immuassay รวมทั้ง ELISA และมีการผลิตชุดน้ำยาสำเร็จรูปจำหน่ายมากมาย วิธี RIA จะวัดได้ประมาณ 1 มก./ลิตร หรือต่ำกว่า ส่วนวิธีอื่น ๆ จะวัดได้ในช่วง 1-10 มก./ลิตร

ความไว ของการทดสอบปรีตีนในปัสสาวะ สำหรับผู้ป่วย เกิดความผิดปกติของไตหรือไม่ นั้นมีประมาณ 50-100% ส่วนความจำเพาะ มีประมาณ 94-100% ค่าการทำนายโรค (predictive value) ถ้าทดสอบให้ผลบวก มีประมาณ 75% ซึ่งมีความแปรปรวนในแต่ละบุคคลประมาณ 40-50% การออกกำลังกาย ทำทาง อัตราการไหลของปัสสาวะ ภาวะตั้งครรภ์ การติดเชื้อของทางเดินปัสสาวะ มีผลต่อการขับอัลบูมินออกทางปัสสาวะ การควบคุมปัจจัยต่างๆ เหล่านี้ จะช่วยให้การตรวจวัดได้ผลถูกต้องดีขึ้น

ตัวอย่างตรวจที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบการขับปัสสาวะช่วงเวลาใดก็ได้ (random urine) จะง่ายและสะดวก แต่จะมีความแปรปรวนมาก 1 ข้อที่ไม่น่าเชื่อถือ การเก็บปัสสาวะ 24-ชั่วโมงจะดีกว่า และมีรายงานว่า การเก็บปัสสาวะเป็นช่วงเวลาตลอดคืน (timed overnight collection) จะดีกว่า เพราะว่ามีปัญหาจากทำทางและการทำงานระหว่างวัน การหาอัตราส่วนของอัลบูมิน/ครีเอตินีน (albumin/creatinine ratio) ในปัสสาวะครั้งแรกในตอนเช้า จะดีกว่าการทำปัสสาวะที่เก็บเวลาใดก็ได้ แม้ว่าจะให้ผลที่ไม่เท่าการเก็บโดยกำหนดเวลา

อัลบูมินส่วนหนึ่ง จะหายไปโดยการดูดซับกับผิวของภาชนะหรือสายยาง ดังนั้นจึงควรพิจารณาด้วย โดยเฉพาะกรณีที่มีปริมาณต่ำ (< 5 ไมโครกรัม/มล.) เช่นปัสสาวะที่เจือจางแล้ว การดูดซับนี้ จะทำให้อัลบูมินหายไป ประมาณ 0.2 ไมโครกรัม/ตร.ซม ของพื้นที่ผิว อาจป้องกันโดยเติม Triton X-100 ปริมาณ 1 มล./

ลิตร การแช่แข็ง จะทำให้ค่าลดลง การเก็บที่ 4 °ซ ซึ่งจะเก็บได้หลายวันหรือถึงสัปดาห์โดยค่าไม่ลดลง

วิธีอ้างอิง และวิธีที่นิยมใช้สำหรับการตรวจวัดปริมาณโปรตีนรวม มีดังนี้

ก. การตรวจเชิงคุณภาพ - โดย dipstick ซึ่งใช้ buffered indicator ที่เปลี่ยนสีเมื่อมีโปรตีน เรียก protein error of indicators มักจะไวต่ออัลบูมิน และเหมาะสำหรับการตรวจกรอง เพื่อดูภาวะ glomerular proteinuria

ข. การตรวจเชิงปริมาณ - เนื่องจากโปรตีนในปัสสาวะนั้นน้อย และซับซ้อนเนื่องจากประกอบด้วยโปรตีนหลายชนิด รวมทั้งมีสารประกอบมากมาย และมีโปรตีนหลายชนิดที่เกิดขึ้นที่ไต สารบ่งชี้ในการตรวจโปรตีน ได้แก่ กลีโกลินทรีย์ต่างๆ สารที่มีสี เช่น สารที่เกิดจากการสลายตัวของฮีโมโกลบิน, สารที่เกิดจากเมตาบอลิซึมของไนโตรเจน, และโพสเฟอไรด์ ที่มาจากการสลายตัวของฮิเปอร์โฟสเฟอไรด์และเนื้อเยื่อ

วิธีที่นิยมเรียกว่า เป็นวิธีมาตรฐานยังไม่มีเนื่องจากแต่ละวิธีมีผลที่ได้ไม่สอดคล้องกันอยู่ สาเหตุเพราะแต่ละวิธีจะตรวจวัดโปรตีนได้ไม่เหมือนกัน บางวิธีวัดโปรตีนที่มีขนาดเล็กๆ และโพสเฟอไรด์ด้วยนอกเหนือจากอัลบูมินหรือโกลบูลิน แต่บางวิธีอาจไม่วัดโปรตีนขนาดเล็ก และโกลบูลิน เป็นต้น

วิธีการวัดโปรตีนในปัสสาวะ ขึ้นกับคุณสมบัติของโปรตีนในสารละลาย จากการสำรวจของวิทยาลัยแพทย์แพทยอเมริกัน เมื่อปี ค.ศ. 1985 พบว่าวิธีใช้ Benzethonium chloride และการวัดความขุ่น เป็นวิธีที่ใช้หาโปรตีนรวมในปัสสาวะ มากที่สุดคือ 41% และ 31% ตามลำดับตามด้วยการใช้ Coomassie blue 26% และ Biuret เพียง 2% ซึ่งมีความไวแตกต่างกันตามตารางที่ 5

ตารางที่ 5 วิธีการวัดโปรตีนรวมในปัสสาวะ

Method	Analytical sensitivity (mg/L)	Linearity (mg/L)
Sulfosalicylic acid	10-25	0-3000
Trichloroacetic acid	20	0-2400
Coomassie brilliant blue	5	5-1500
Ponceau S	20	100-1600
Gel-filtration/biuret	5-17	0-5000
Folin-Lowry	10	10-700
Benzethonium chloride	10	0-1600

หลักการของวิธีที่ข้างต้นทั่วไป จะเป็นการวัดความขุ่น (turbidimetry), การรวมตัวกับสี (dye binding) วิธีการวัดความขุ่น จะใช้กรดไตรคลอโรอะซิติก หรือซัลโฟซาลิซิลิก ทำให้เกิดตะกอนละเอียดแขวนลอย แล้ววัดความขุ่นที่เกิดขึ้น ซึ่งจะแปรตามคุณสมบัติของกรดที่ใช้ตกตะกอน ชนิดของโปรตีน ความเข้มข้นของกรด อุณหภูมิ ความเร็วของการเติมกรด และระยะเวลาหลังจากเติมกรด นอกจากนั้นยาบางชนิดอาจตกตะกอนร่วมด้วย และโปรตีนขนาดเล็กอาจไม่ตกตะกอนด้วย กรดไตรคลอโรอะซิติก จะมีความไวน้อยกว่ากรดซัลโฟซาลิซิลิก เนื่องจาก ทำให้เกิดความขุ่นเพียงประมาณครึ่งเดียว อัลบูมินจะเกิดความขุ่นกับกรดซัลโฟซาลิซิลิก มากกว่าแกมมา-โกลบูลิน ที่อุณหภูมิเท่ากัน กรดซัลโฟซาลิซิลิกจะตกตะกอนโปรตีนเกือบทั้งปัสสาวะด้วยวิธีการใช้กรดไตรคลอโรอะซิติก จะเกิดปฏิกิริยากับอัลบูมินและโกลบูลินได้เท่าๆ กัน เมื่ออุณหภูมิอยู่ระหว่าง 20-25 °C แต่ถ้าอุณหภูมิเพิ่ม อัลบูมิน

จะเกิดตะกอนมากกว่า

Benzethonium chloride ทำให้เกิดตะกอน ในสารละลายต่าง โดยโปรตีนจะเกิดปฏิกิริยากับ quaternary NH_4^+ salt ของ Benzethonium chloride เกิดความขุ่นที่คงตัวและไม่ขึ้นกับอุณหภูมิ เหมือนกรดซัลโฟซาลิซิลิก หรือไตรคลอโรอะซิติก ถ้าทำด้วยวิธีธรรมดา จะวัดได้ภายใน 40-60 นาที ถ้าใช้เครื่องอัตโนมัติ เช่น Dupont ACA จะทำได้ภายใน 8 นาที Benzethonium chloride เกิดความขุ่นกับอัลบูมินได้มากกว่าโกลบูลินต่อกรัมเล็กน้อย ซึ่งความไวต่ออัลบูมินและโกลบูลิน จะขึ้นกับปริมาณโปรตีนรวม ถ้ามีปริมาณเพิ่มมากอาจจะทำให้ตะกอนที่เกิดขึ้นไม่กระจายตัว วิธีแก้ไข คือต้องเจือจางปัสสาวะก่อน ถ้าพบว่าตะกอนโปรตีนมีการจับตัวเป็นก้อน

วิธีการรวมตัวกับสี โดยทั่วไป อาศัยการเปลี่ยนแปลงช่วงคลื่นแสง เมื่อสีที่เกินพอ) รวมตัวกับโปรตีน คือทำให้สีเปลี่ยน เริ่มมีการใช้

Coomassie blue G 250 Brilliant ตั้งแต่ ปี ค.ศ. 1976 ทำได้ว่า ราคาถูก ทำให้ช่วง คลื่นการดูดกลืนแสงเปลี่ยนจาก 465 ไปเป็น 595 นาโนเมตร เกิดการรวมตัวสมบูรณ์ที่ 2 นาที และคงตัว Coomassie Brilliant Blue ทำให้เกิดสีต่อกรัมกับอัลบูมิน ได้มากกว่า โกลบูลิน โดยทั่วไป ตัวฟอก (detergent) จะ ทำให้สีที่เกิดลดลง เช่น Sodium dodecyl sulfate จะลดสีที่เกิดจาก Coomassie Brilliant blue กับอัลบูมินได้มากกว่าโกลบูลิน และโปรตีนขนาดเล็กอื่นๆ สารกันเสียได้แก่ salicylate และ thymol อาจรบกวนปฏิกิริยา แต่บางรายงานไม่พบการรบกวน tolbutamide และยูเรีย รบกวนโดยทำให้ค่าที่ได้สูงกว่าที่ควรจะเป็น เมื่อมีความเข้มข้น 2-4 กรัมต่อลิตร และ 90-180 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ในปี ค.ศ. 1973 มีการดัดแปลงหาโปรตีน ในปัสสาวะและน้ำไขสันหลัง โดยอาศัยการตกตะกอนร่วมของโปรตีน กับ Ponceau S และกรด ไตรคลอโรอะซิติก เมื่อละลายตะกอนในต่างเจือจางแล้วสามารถวัดสีที่เกิดได้ Ponceau S จะ มีความไวต่ออัลบูมินและโกลบูลินเท่าๆ กัน เป็น วิธีที่ซับซ้อนน้อยกว่าเล็กน้อย มีความเที่ยงดี และมี โอกาสผิดพลาดเนื่องจากความลำเอียง (bias) น้อย สามารถใช้ซีรัมรวม (pooled serum) จากคนหรือสัตว์พวกใด กระบือเป็นสารมาตรฐาน ได้ ข้อเสียคือใช้เวลานาน ทำให้ไม่สามารถทำ โดยวิธีเครื่องอัตโนมัติ และอาจได้ค่าต่ำเนื่อง จาก การสูญเสียตะกอนไประหว่างการเทส่วนที่ส ออก หรือได้ค่าสูง เพราะว่ามีตะกอนจากสารอื่น ที่ไม่เข้าปฏิกิริยากับสี เช่นจาก aminoglycoside โดยเฉพาะ gentamicin

ปฏิกิริยา Biuret ใช้ปฏิกิริยาระหว่าง Cupric ion ในสารละลายต่างกับ peptide bond ในโปรตีน เป็นวิธีที่มีความไวต่ำกว่าวิธีที่

กล่าวข้างต้น อาจต้องทำให้โปรตีนเข้มข้นขึ้น ก่อนการทำ เช่น โดยการตกตะกอนกับกรด ไตรคลอโรอะซิติก หรือ ethanolic HCl-phosphotungstic acid ปั่นเอาตะกอนมาละลาย และทำปฏิกิริยากับ biuret มีการรบกวนได้ จากเมตาโบไลต์ของสี เช่น NH_4^+ , บิลิรูบิน เป็นต้น

วิธีของ Folin-Lowry มีความไวมากกว่าวิธี Biuret ประมาณ 100 เท่า เป็นวิธีที่ ไม่จำเพาะ และมีสารรบกวนมาก ซึ่งควรกำจัด ออกก่อนทำได้แก่ กรดยูริค, K^+ , Mg^{2+} , EDTA, Tris, Thiol reagent, คาร์บาไมด์ และอื่นๆ น้ำยา Folin ประกอบด้วย กรดฟอสฟอรัสและดีค และ ฟอสโฟโมลลิบัค ใน สารละลายต่างของเกลือทองแดง จะทำปฏิกิริยากับพันธะเปปไทด์ ของไทโรซีน และ ทริปโตเฟน เกิดสีน้ำเงินวัดได้ที่ 650 นาโนเมตร สามารถ วัดได้ค่าถึง 5-10 มา.ต่อลิตร แต่การปรับ มาตรฐานยุ่งยากต้องอาศัยสารที่มีหมู่ของไทโรซีน และทริปโตเฟนอยู่ด้วย

วิธีอ้างอิง ที่ยอมรับสำหรับการวัดปริมาณ โปรตีนรวม ได้แก่วิธี Biuret เพราะวิธีนี้ เกิดด่อน้ำหนักของเปปไทด์ ของโปรตีนแต่ละตัว จะคงที่ วิธีที่ปรับปรุงโดย Doetsch และ Gadsden จะมีความจำเพาะต่อเปปไทด์ และมีความไวใกล้เคียงกับวิธีของ Folin โดยได้มีการกำจัดสารรบกวนออก โดยการกรองผ่านเจล ก่อน แล้วมีการกรองผ่านเจลครั้งที่สอง ด้วย base-treated column เพื่อกำจัดทองแดงที่ รวมกับคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2 Copper) ซึ่ง ไม่รวมกับ อัลบูมิน วัดทองแดงที่เกาะกับเปปไทด์ โดยการวัดสีที่ 440 นาโนเมตร โดยมีสารทำให้เกิดสี คือ sodium diethyldithiocarbamate เพราะฉะนั้น สารอื่นที่ไม่เข้าปฏิกิริยาจะไม่ รบกวน ยกเว้นจะไปเกาะกับโปรตีน และ

chelate กับ ทองแดง สารทึบแสงรังสี เช่น meglumine diatrizoate ก็รับภาพปฏิกิริยาได้ วิธีนี้มีความไวสูง สามารถวัดได้ต่ำถึง 10 มก. ต่อลิตร และได้รับเลือก ให้เป็นวิธีอ้างอิงสำหรับการวัดโปรตีนในปัสสาวะ โดยสมาคมเคมีคลินิกของสหรัฐอเมริกา แม้ว่าวิธีจะค่อนข้างยุ่งยาก แต่จะใช้เป็นวิธี ปริมาณมาตรฐาน และวิธีอ้างอิง เท่านั้น

วิธีการแยกสาเหตุของการมีโปรตีนรั่วทางปัสสาวะจากโรคเมอรัลส์และท่อไต

สาเหตุของการมีโปรตีนรั่วออกทางปัสสาวะเนื่องจากโรคเมอรัลส์และท่อไต อาจแยกได้โดยการทำอิเล็กโตรโฟรีซิสของโปรตีนที่ทำให้เข้มข้นแล้วบนเจล agarose หรือเซลลูลอสอะซีเตท Bence Jones protein ก็หาได้โดยวิธีนี้ แล้วนำไปแยก Lambda และ Kappa chain โดย immunoelectrophoresis

วิธีการแยกที่พัฒนาให้ขึ้นทำโดยใช้ Sodium dodesyl sulfate/Polyacrylamide gel electrophoresis (SDS/PAGE) เมื่อโปรตีนทำปฏิกิริยากับ SDS โดยมีความร้อนจะเกิดประจุลบ ซึ่งจะเคลื่อนตัวใน PAGE (100 กรัมต่อลิตร) ตามขนาดของโมเลกุล โปรตีนขนาด 17×10^3 และ 70×10^3 da จะตรวจพบได้ง่ายที่สุด เป็นการบอกสาเหตุว่าเกิดจากโรคเมอรัลส์หรือท่อไต

วิธี "Iso-Dalt" เป็น 2-dimensional gel electrophoresis เพื่อหาชนิดของโปรตีน ในการทำขั้นแรกโดย isoelectric focusing โดยมียูเรียอยู่ด้วย จะแยกโปรตีนตาม pI จากนั้นใช้ SDS/AAGE จะแยกตามจำนวนประจุ และขนาด ทำให้ได้ส่วนต่างๆ มากมาย ซึ่งจำแนกชนิดของโปรตีน ที่เกิดจากโรคเมอรัลส์หรือท่อไต หรืออาจดูโปรตีนที่เป็นตัวบ่งบอกภาวะโรค เช่น อิน มะเร็งต่อมลูกหมาก และ ข้ออักเสบ

เสปรมาตอยด์

วิธี High performance, ion-exchange chromatography เป็นวิธี ที่มีความน่าเชื่อถือในการหาปริมาณโปรตีน ใช้หลักของ anion-exchange chromatography แยกโปรตีนตาม isoelectric strength และ pH เก็บแต่ละส่วน มาจำแนกชนิด โดย SDS/PAGE, radial immunodiffusion, Electroimmunoassay หรือ nephelometry วิธีการตรวจวัดปริมาณอัลบูมินน้อยๆ ในปัสสาวะ

1. วิธีการวัดความขุ่น (Turbidimetric method)⁽³⁾ เป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว ใช้ปริมาณสารตัวอย่างน้อย มีหลักการคือ ใช้แอนติบอดีต่ออัลบูมินของคนที่ได้รับมาจากสัตว์ทดลองพวกหนู มาทำปฏิกิริยากับอัลบูมินในปัสสาวะ วัดความขุ่นที่เกิดขึ้นที่ 340 นาโนเมตร เทียบกับสารมาตรฐาน ที่เตรียมจากการเจือจาง ซีรัมคน สามารถวัดได้ในช่วง 0-180 มก.ต่อลิตร

ข้อเสียของวิธีนี้ คือ urine blank มักจะมีค่าสูงมากที่ความยาวคลื่นแสงนั้น ดังนั้น จึงใช้วิธีเปลี่ยนความยาวคลื่นแสงทำซ้ำจาก 340 ไปเป็น 450 นาโนเมตร ซึ่งแม้ว่าจะไม่ใช้ความยาวคลื่นที่สารมีการดูดกลืนแสงสูงสุด แต่ก็ทำให้สามารถวัดปริมาณความขุ่นที่เกิดขึ้นได้

ก่อนจะทำการตรวจวัด แนะนำให้ปั่นปัสสาวะ 10 นาที ที่ 1000 g แล้วตรวจด้วย Albustix เพื่อประมาณค่า และเจือจางให้อยู่ในช่วงไม่เกิน 180 มก.ต่อลิตรก่อน

ความเที่ยงของวิธี เมื่อทำไปพร้อมๆ กัน มีค่าเท่ากับ 1.78 - 8.68% และเมื่อทำต่างวันกัน มีค่า 2.89-12.96% ค่าอัลบูมินต่ำๆ จะทำให้ค่าความไม่เที่ยงมีช่วงกว้างขึ้น

2. การวิเคราะห์ด้วยวิธีทางภูมิคุ้มกัน (Immunoassay)⁽⁴⁾ สามารถวัดได้ตั้งแต่ 0.75

ถึง 90 มก./ลิตร มีหลักการหาแบบเดียว กับวิธีการวัดความขุ่น แต่วัดด้วยเครื่อง nephelometer ความยาวคลื่น 610 นาโนเมตร ค่าความเที่ยงเมื่อทำไปพร้อมกัน เท่ากับ 1.30-1.83% และเมื่อทำต่างวันกัน เท่ากับ 2.07-4.12%

ความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่ตรวจวัดได้โดยวิธีนี้กับวิธี Radial immunodiffusion และ Radioimmunoassay เท่ากับ 0.995 และ 0.991 ตามลำดับ

ค่าปกติของอัลบูมินในปัสสาวะ เท่ากับ 2.82 มก./ต่อ 12 ชั่วโมง เมื่อเก็บช่วงกลางคืน ซึ่งต่ำกว่าเมื่อเก็บตอนกลางวัน (3.47 มก./ต่อ 12 ชั่วโมง) เล็กน้อย ค่ารวมของอัลบูมินตลอด 24 ชั่วโมง เท่ากับ 6.60 มก. ค่าอ้างอิง เท่ากับ 2.60-16.60 มก./ต่อ 24 ชั่วโมง

การตรวจวัดปริมาณอัลบูมินในปัสสาวะ อาจใช้ค่าอัตราส่วนของอัลบูมิน/ครีเอตินิน ซึ่งเท่ากับ 0.45 มก./มิลลิกรัม สำหรับช่วงกลางคืน และ 0.53 มก./มิลลิกรัม สำหรับช่วงกลางวัน ซึ่งอาจจะช่วยช่วยในการแปลผล กรณีที่เก็บปัสสาวะเวลาใดก็ได้ ไม่จำเป็นต้องครบ 24 ชั่วโมง หรือช่วยตรวจสอบว่า การเก็บปัสสาวะทำได้ ครบเวลาหรือไม่

มีข้อสังเกตว่า ผู้ป่วยเบาหวาน ที่มีการขับอัลบูมินออกทางปัสสาวะ ในระดับปกติ ขณะพักอยู่เฉยๆ แต่หลังจากมีการออกกำลังกายแล้วจะมีการขับออกมากขึ้น และแนะนำว่า การตรวจวัดระดับอัลบูมินในปัสสาวะ ภายหลังการออกกำลังกายจะเป็นดัชนีที่ไวกว่า ในการบอกภาวะโรคไต และเนื่องจาก การออกกำลังกาย มีผลต่อการขับอัลบูมินดังกล่าว จึงสมควรจะหลีกเลี่ยงการเก็บปัสสาวะในช่วง 12 ชั่วโมงตอนกลางคืน ซึ่งเป็นขณะพักของผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมระดับน้ำตาลได้ดีหรือในการตรวจประจำวันทั่วไป

3. วิธี Radioimmunoassay (RIA)⁽⁵⁾ ใช้ปัสสาวะที่เจือจางแล้ว ทำปฏิกิริยากับอัลบูมินที่ติดฉลากด้วย ^{125}I และ rabbit antiserum monospecific ต่ออัลบูมินของคนเป็นเวลา 1 ชั่วโมงด้วย double antibody technic วิธีนี้ มีความไววัดได้ถึง 16 นาโนกรัมของอัลบูมิน

4. Latex agglutination test⁽⁶⁾ เนื่องจากการทำ Radioimmunoassay มีความแปรปรวนแต่ละวัน และอาจต้องทำซ้ำๆ กัน วิธีการวัดความขุ่น และการใช้เทคนิค ELISA ไม่เหมาะสำหรับการทำที่ข้างเตียงผู้ป่วย หรือในคลินิกแพทย์ จึงมีการดัดแปลงวิธี agglutination ให้ทำได้รวดเร็ว และสามารถทำได้ทั้งข้างเตียงผู้ป่วยโดยไม่มี prozone effect ใช้เวลาในการทำประมาณ 1 นาที มีความไวเพียงพอ และใช้ค่า 40 มก./ลิตร เป็นค่า cut-off

หลักการ : ใช้ polystyrene latex เคลือบด้วยอัลบูมินของคน เติมน้ำยสารละลาย anti-human IgG ซึ่งได้อนุกับตัวอย่างส่งตรวจมาแล้วทำให้เกิดการจับกลุ่ม แสดงว่าอัลบูมินในสารละลายมีน้อยเกินไปที่จะจับกับแอนติบอดี แต่ถ้าไม่มีการจับกลุ่ม แสดงว่ามีอัลบูมินมากในตัวอย่างที่เปรียบเทียบกับแอนติบอดีได้หมด

การแปลผล :

การจับกลุ่มทั้งหมด และไม่แตกตัว (+++) จะเทียบได้กับอัลบูมินปริมาณไม่เกิน 25 มก./ลิตร การจับกลุ่มบางส่วน ไม่สมบูรณ์ (++) จะเทียบได้กับอัลบูมิน ปริมาณไม่เกิน 30-35 มก./ลิตร

ไม่จับกลุ่มเลย (---) จะเทียบได้กับอัลบูมินปริมาณไม่เกิน 40-500 มก./ลิตร

วิธีนี้มีความจำเพาะดีมาก เมื่อใช้ตัวอย่างที่มีค่าอัลบูมินต่ำกว่า 40 มก./ลิตร มาทำ จะ

พบว่ามีค่าถูกต้อง 99.6% ไม่จำเป็นต้องเจือจางปัสสาวะก่อน เนื่องจากได้ตัดปัญหาเรื่อง prozone effect ด้วยการทำแบบ indirect agglutination และไม่จำเป็นต้องทำซ้ำเหมือนวิธี RIA

ระดับอัลบูมินในปัสสาวะตั้งแต่ 50 มก./24 ชั่วโมงขึ้นไป ถือว่ามีความสำคัญทางคลินิกในการบอกภาวะโรคไตของผู้ป่วยเบาหวาน แต่การทราบระดับที่ต่ำกว่านี้ (Subclinical level) อาจจะช่วยชลอการเกิดโรคไตได้ ดังนั้น การตรวจอัลบูมินปริมาณต่ำๆ จึงมีประโยชน์ในการตรวจคัดผู้ป่วยเบาหวานที่มีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดโรคไตได้

เอกสารอ้างอิง

1. Waller KV, Ward KM, Mahan JD and Wismatt DK. Current concept in proteinuria. Clin Chem 1989; 35: 755-765.
2. Theodore P, Jr. Albumin in urine. CCN 1990; 16: 10-12.
3. Harmoinen A, Vuorinen P and Jokela H. Turbidimetric measurement of microalbuminuria. Clin Chim Acta 1987; 166: 85-89.
4. Harmoinen A, Ala-Houhala A and Vuorinen P. Rapid and sensitive

immunoassay for albumin determination in urine. Clin Chim Acta 1985; 149: 267-274.

5. Woo J, Floyd M, Cannon DC and Kahan B. Radioimmunoassay for urinary albumin. Clin Chem 1978; 24: 1464-1467.
6. Paoli C, Bardelli F, Tarli P, Gragnoli G, Tanganeli I and Signorini AM. A simple latex agglutination test for urinary albumin screening. Clin Chim Acta 1987; 166: 67-71.

นันทยา ชนะรัตน์, วท.ม. (สาขาวิทยาศาสตร์)
ภาควิชาเคมีคลินิก
คณะเทคนิคการแพทย์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่