

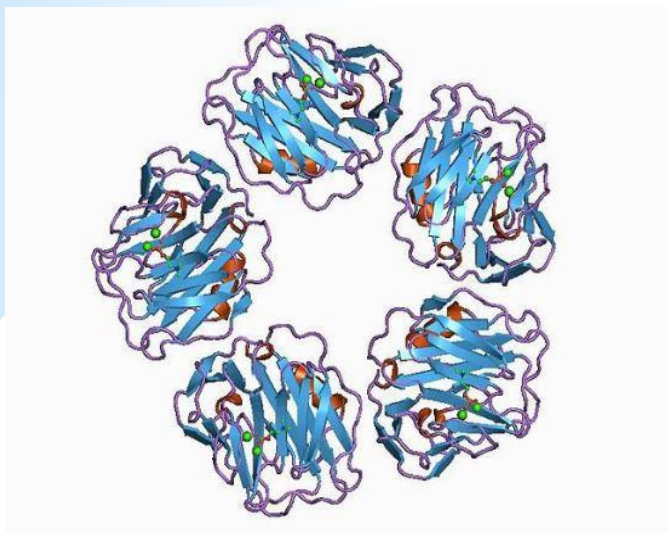
«СРБ – маркер, индуктор и предиктор воспалительных процессов»

Павлова Елена Августовна

кандидат биологических наук,
продакт-менеджер по биохимии НПФ «АБРИС+»

Санкт-Петербург





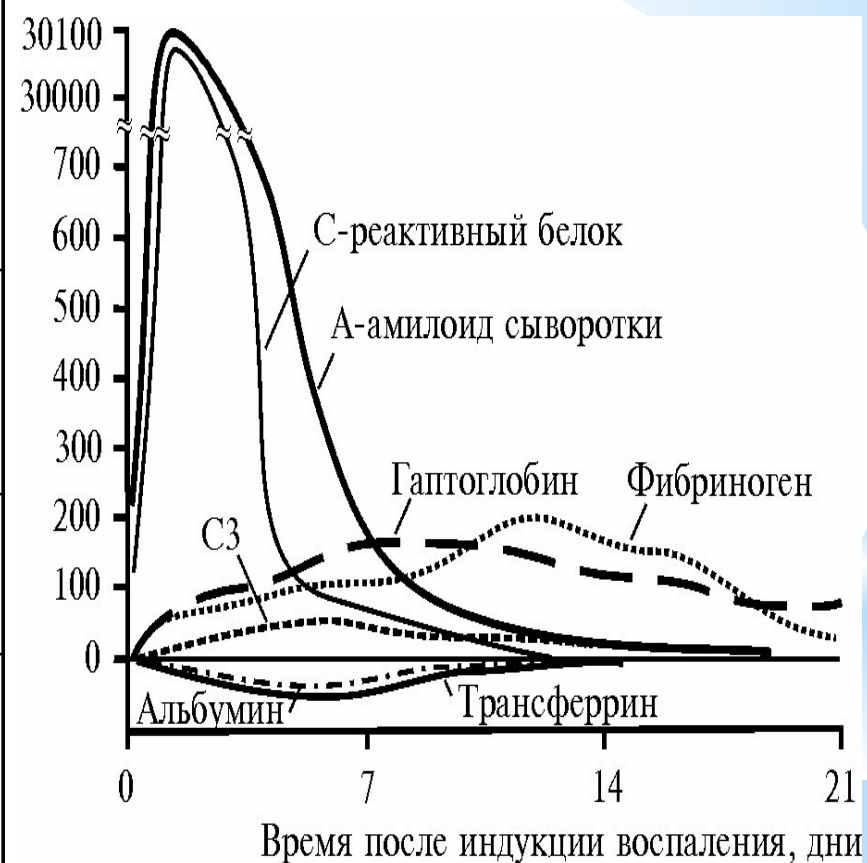
С-реактивный белок (СРБ) был открыт Tilet и Francis в 1930 г. в сыворотке крови больных с пневмококковой пневмонией.

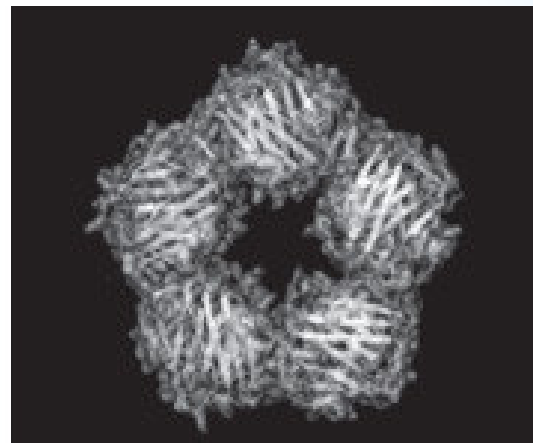
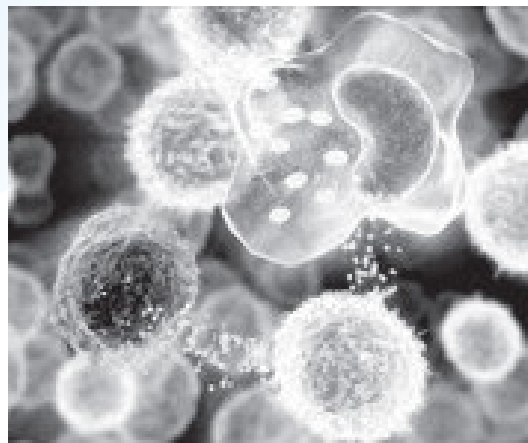
В присутствии ионов кальция данный белок способен образовывать комплексы с С-полисахаридным компонентом мембраны пневмококка в виде флоккулятов.

Само название «C-reactive protein» белок получил исходя из сути данной реакции.

↑100-1000 раз, 2-6 часов	СРБ А-амилоид
↑ 2-5 раз, 24 часа	Орозомукоид А1-антитрипсин Гаптоглобин фибриноген
↑20-60%	Церулоплазмин С3-компонент комплемента
	Иммуноглоблины А2-макроглобулин
↓ 12-24 часов	Альбумин Трансферрин преальбумин

Классификация БОФ





СРБ в крови и отдельная молекула белка

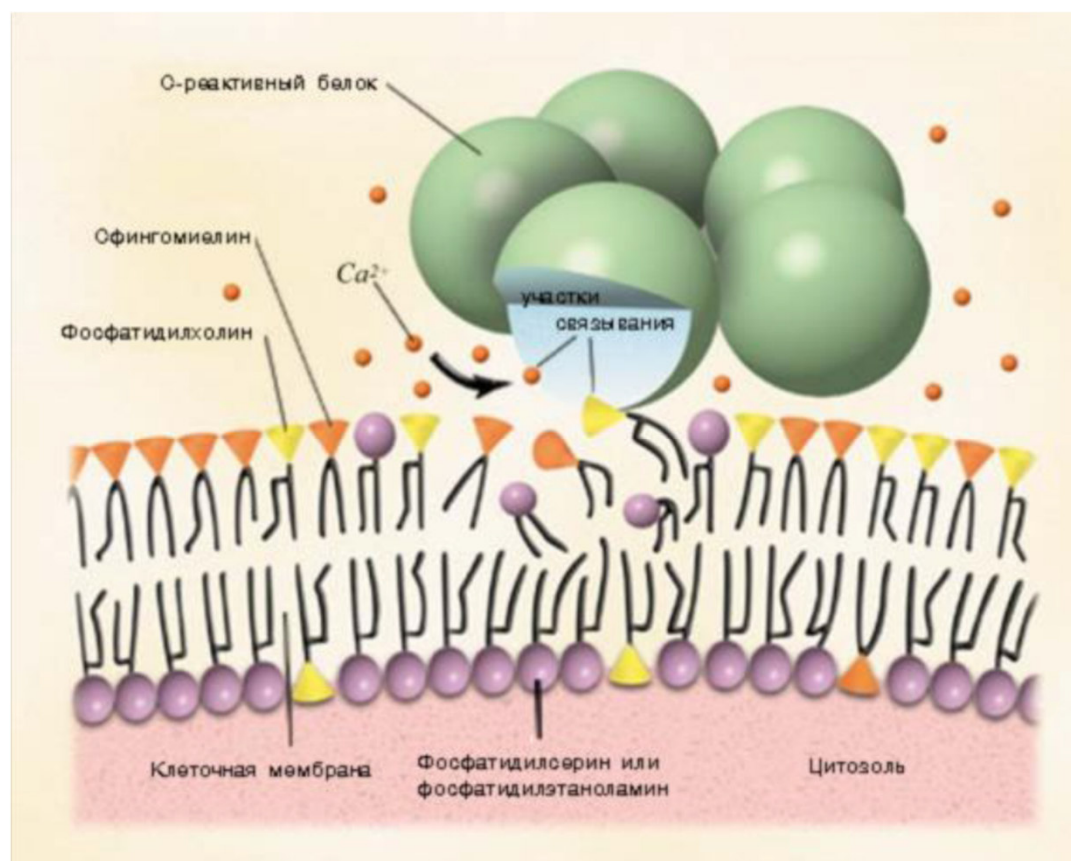
СРБ синтезируется **гепатоцитами** в виде белка с относительной молекулярной массой 115 кДа, состоящего из пяти идентичных субъединиц, образующих циклический **пентамер**.

СРБ принадлежит к эволюционно древнему, жизненно важному семейству белков, названному **пентраксинами**.

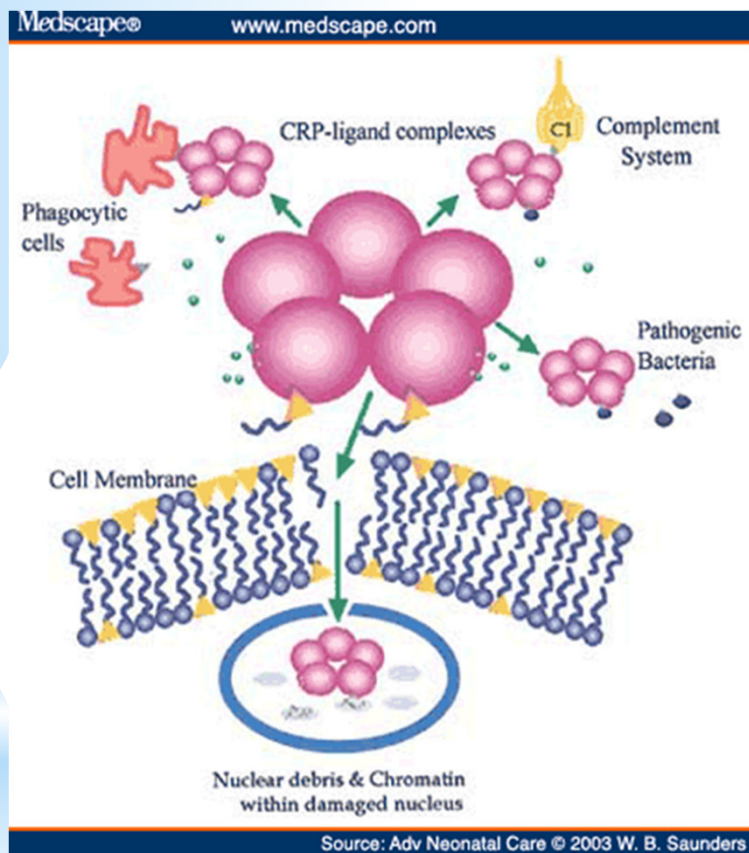
Основные стимулирующие факторы синтеза СРБ:

- Ил-6
- Ил-1 β
- фактор некроза опухолей- α (ФНО- α)
- интерферон- γ
- трансформирующий фактор роста- β

Схема связывания СРБ с компонентами клеточной стенки бактерий



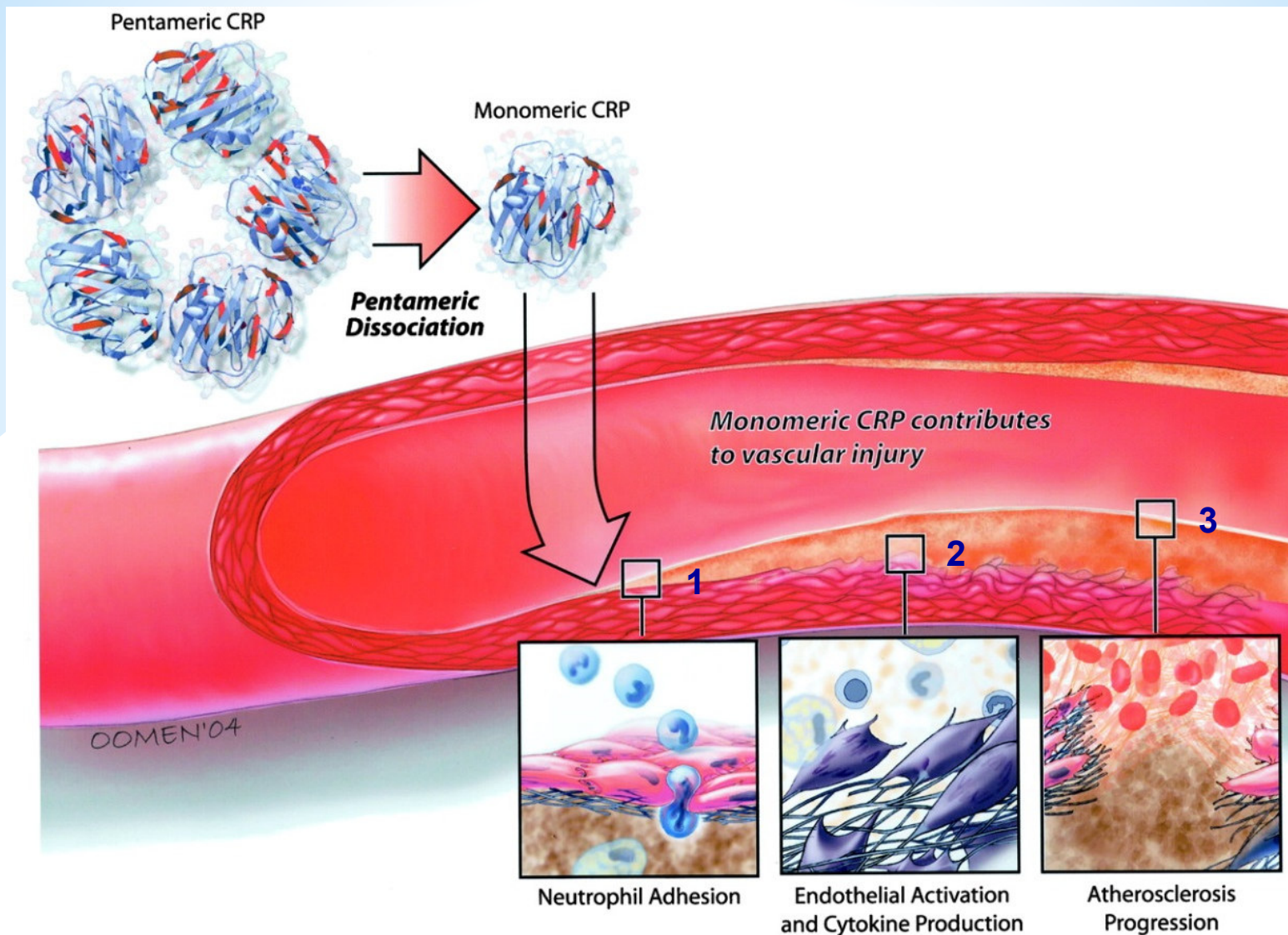
Главное предназначение СРБ – активировать защитные силы организма, а именно:



- распознавать микробы, чужеродные антигены, различные патологические факторы, потенциально токсичные вещества;
- связывать полисахарид пневмококков, другие полисахариды, липидные компоненты мембран бактерий, мертвые, поврежденные клетки;
- усиливать функциональную активность тромбоцитов и лейкоцитов;
- присоединяясь к погибающим клеткам и вредным чужеродным частицам, облегчать их поглощение иммунокомпетентными клетками, обезвреживать и удалять их из крови.

Два типа С-реактивного белка

нативный СРБ	мСРБ (мономерный)
состоит из пентамеров	• состоит из свободных мономеров • имеет при электорфорезе большую подвижность и пониженную растворимость • ускоряет агрегацию тромбоцитов и секрецию серотонина • модулирует метаболизм арахидоновой кислоты • стимулирует высвобождение интерлейкина и др. • другие антигенные детерминанты



Переход СРБ из пентамерной формы в мономерную приводит к (1) адгезии нейтрофилов, (2) активации эндотелия и продукции цитокинов, (3) развитию атеросклероза

Достоинства СРБ как маркера различных заболеваний

1. СРБ обладает определенным преимуществом по сравнению с СОЭ

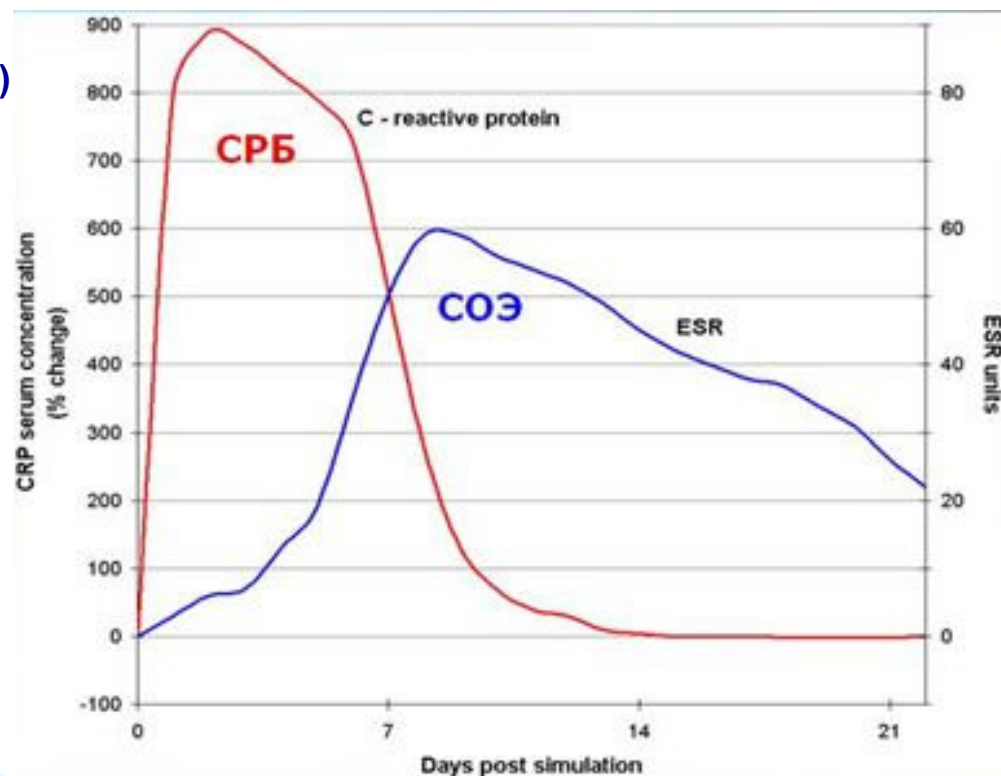
Результат измерения зависит от:	СОЭ	СРБ
Пола	Да	Нет
Возраста	Да	Нет
Беременности	Да	Нет
Температуры	Да	Нет
Лекарств (стероиды, салицилаты)	Да	Нет
Курения	Да	Нет
Уровня белков плазмы	Да	Нет
Эритроцитов – кол-ва (Ht), морфологии, агрегации	Да	Нет
Лабораторные характеристики показателей:		
Скорость повышения в ответ на заболевание	Умеренная	Высокая
Значения нормы	Широкие	Узкие
Специфичность	Умеренная	Высокая
Чувствительность	Умеренная	Высокая
Воспроизводимость	Низкая/умеренная	Высокая
Выявление ошибок при выполнении анализа	Сложное	Легкое
Продолжительность	> 60 мин	< 20 мин

Достоинства СРБ как маркера различных заболеваний

Концентрация СРБ в крови повышается раньше, чем титр антител и СОЭ, снижается быстрее по сравнению с СОЭ

Динамика СРБ и СОЭ

СРБ
(% повышения)



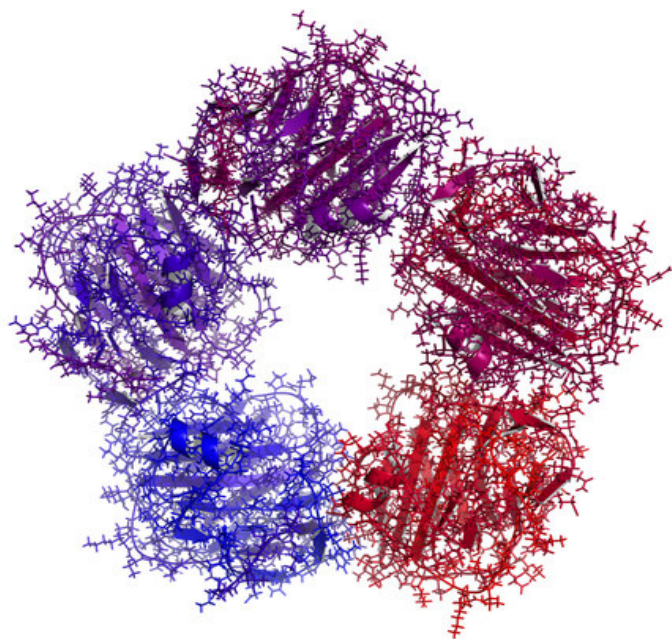
Дни после начала воспаления

2. Специфичен для воспалительного процесса

Вид патологии и концентрация СРБ

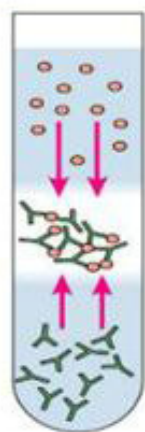
10-30 мг/л	• вирусные инфекции • вялотекущие хронических и некоторые системные ревматические заболевания • метастазы опухолей
40-100 мг/л иногда и до 200 мг/л	• бактериальные инфекции • обострении некоторых хронических воспалительных заболеваний (ревматоидного артрита) • повреждении и некроз тканей(хирургические операции, острый инфаркт миокарда)
300 мг/л и более	• тяжелые генерализованные инфекции • обширные ожоги • сепсис

Достоинства СРБ как маркера различных заболеваний



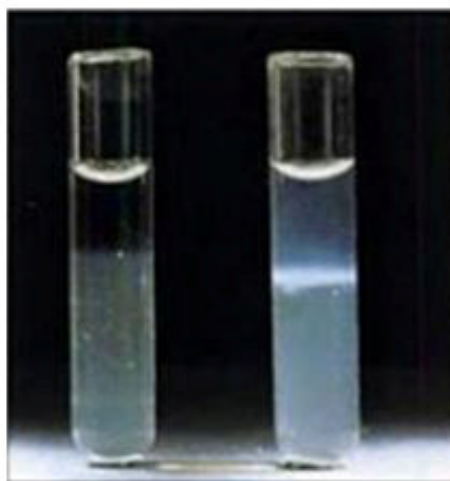
- 3. Имеет большую амплитуду вариации**
- 4. Характеризуется быстрой кинетикой**
- 5. Простота выполнения, возможность получения ответа через несколько минут**
- 6. Малый объем пробы**

Реакция кольцепреципитации



Реакцию проводят путем наслаивания на иммунную сыворотку антигена

Образование комплекса АГ-АТ



Значения результатов:

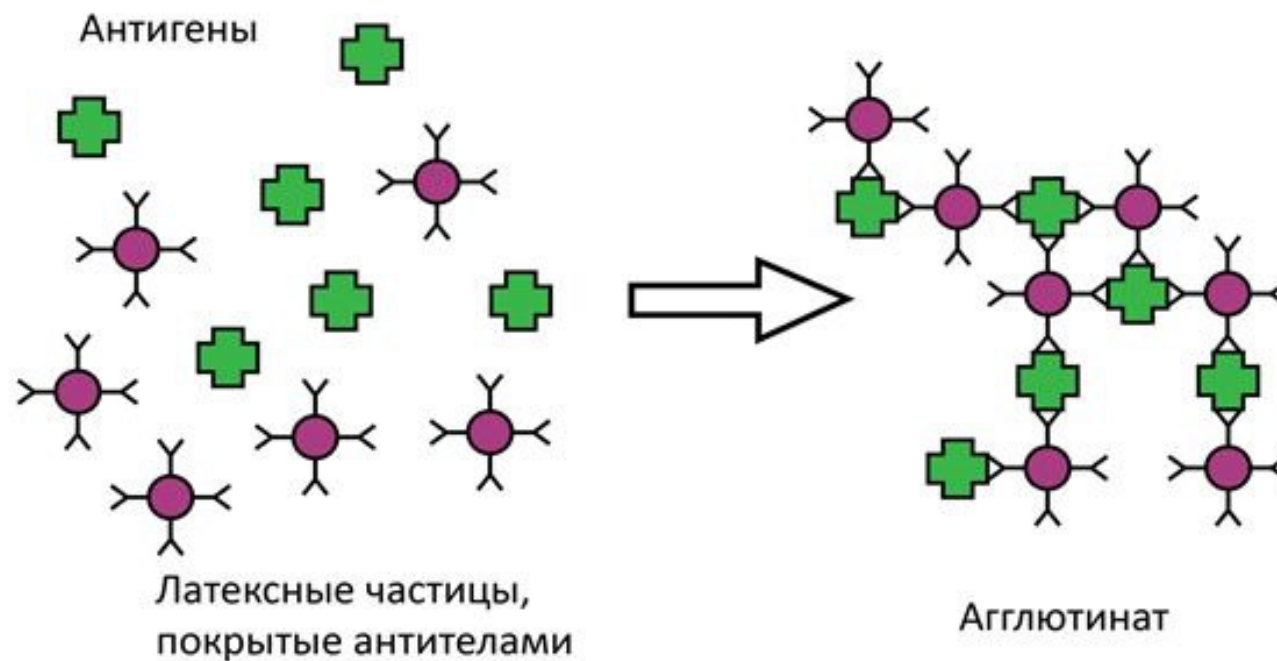
Нет осадка – результат отрицательный

1 мм осадка — реакция слабоположительная

2 мм — положительная реакция

3 мм — выраженно положительная

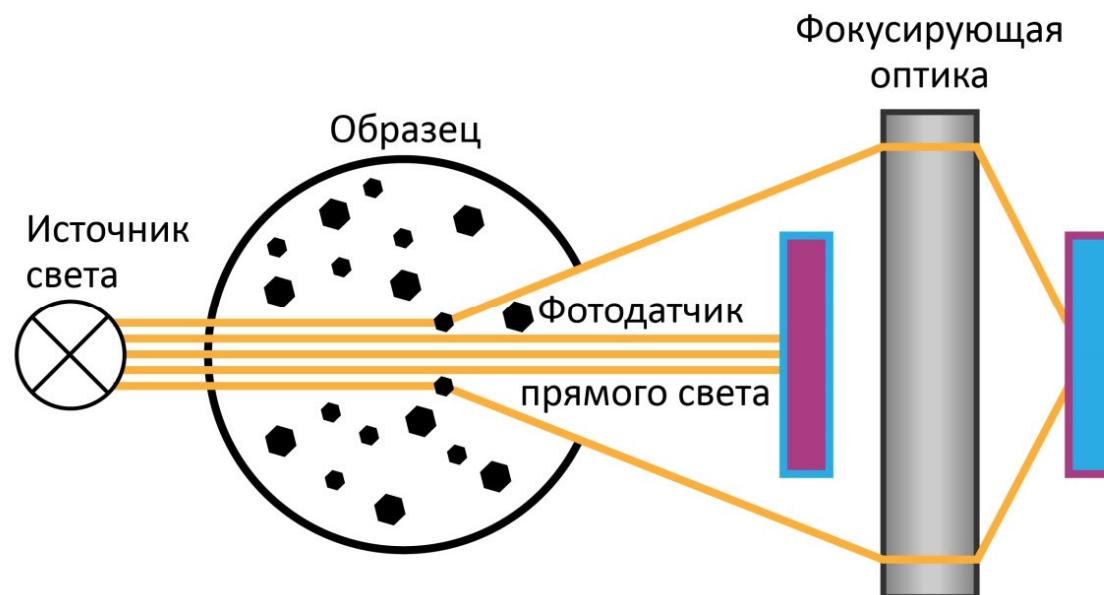
4 мм — резко положительная реакция



Метод латексной агглютинации

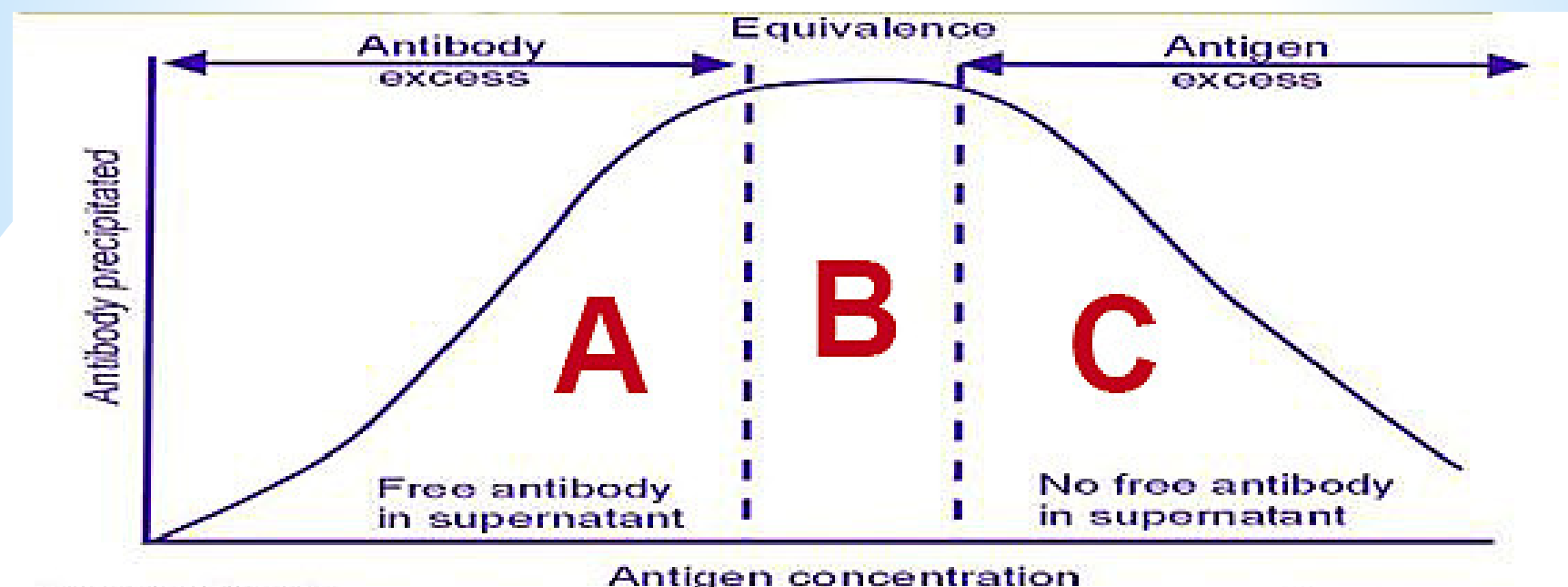
Преимущества метода	Недостатки метода
минимальный объем исследуемого материала	субъективная оценка результатов
проведение больших партий анализов	невысокая чувствительность
быстрота проведения реакции	высокая вариабельность
доступность для любых лабораторий	
не требуется спец. оборудование	
невысокая стоимость исследования	

Метод иммунотурбидиметрии



Турбидиметрия - вид абсорбционного фотометрического анализа, основанный на измерении поглощения или пропускания света частицами мутных растворов (тонких взвесей, эмульсий, коллоидных растворов).

Кривая Хейдельбергера-Кендала для реакции иммунопреципитации



Зона переизбытка Ат

Количество преципитатов увеличивается при добавке Аг и в растворе сохраняются свободные Ат

Зона соответствия Ат и Аг

Количество преципитатов максимальная и в растворе нет свободных Аг и Ат

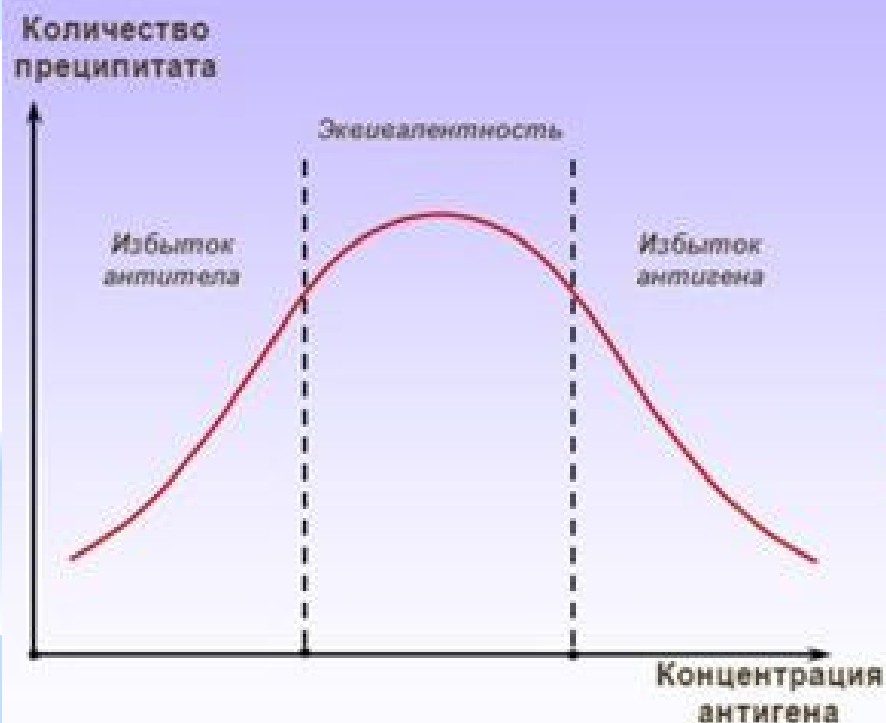
Зона переизбытка Аг

Количество преципитатов уменьшается за счет формирования ИК малых размеров (вместо преципитатов). Раствор содержит свободные Аг

Нелинейная многоточечная калибровка

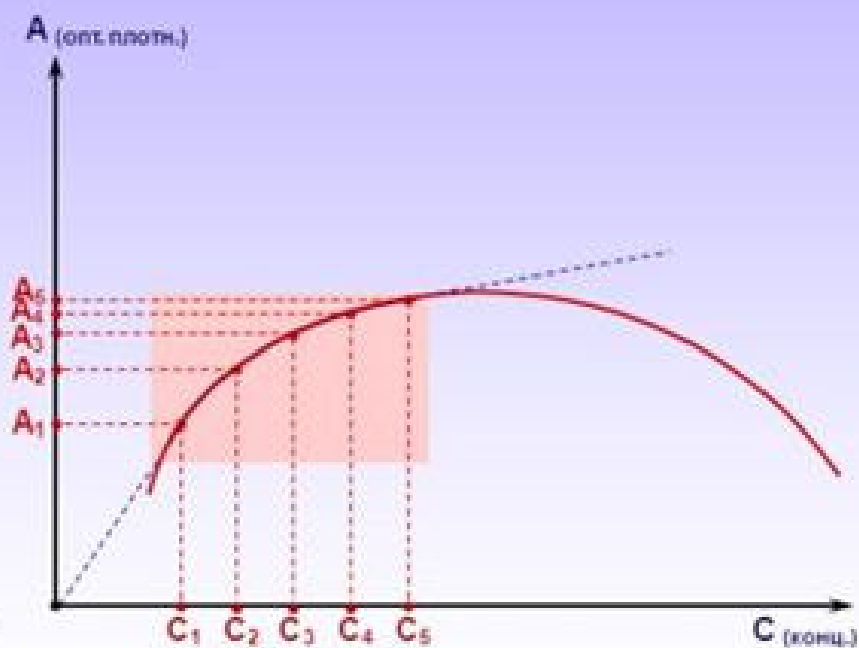
Кривая реакции

(изменение оптической плотности в зависимости от времени)



Калибровочный график

(зависимость оптической плотности от концентрации)



Метод – высокочувствительная (hs – high sensitive) иммунотурбидиметрия с латексным усилением

Нижняя граница определения СРБ - от **0,05** до **0,5** мг/л

Новый клинико–лабораторный тест – **hsСРБ**

Преимущества метода hsCRP:

- прост и применим даже в амбулаторных условиях;
- результаты определения hsCRP в свежей, в хранившейся и в замороженной плазмах практически не отличаются;
- в отличие от короткоживущих цитокинов (для которых характерны суточные колебания концентраций), уровни hsCRP достаточно стабильны;
- метод hsCRP стандартизован, имеются стандарты, аттестованные ВОЗ и надежные контрольные материалы.

Базовая концентрация СРБ – это тот его уровень, который стабильно выявляется у практически здоровых лиц, а также у пациентов при отсутствии острого воспалительного процесса или вне обострения заболевания.

Определение hsСРБ проводят **в дублях**, желательно повторное измерение **через две недели**.

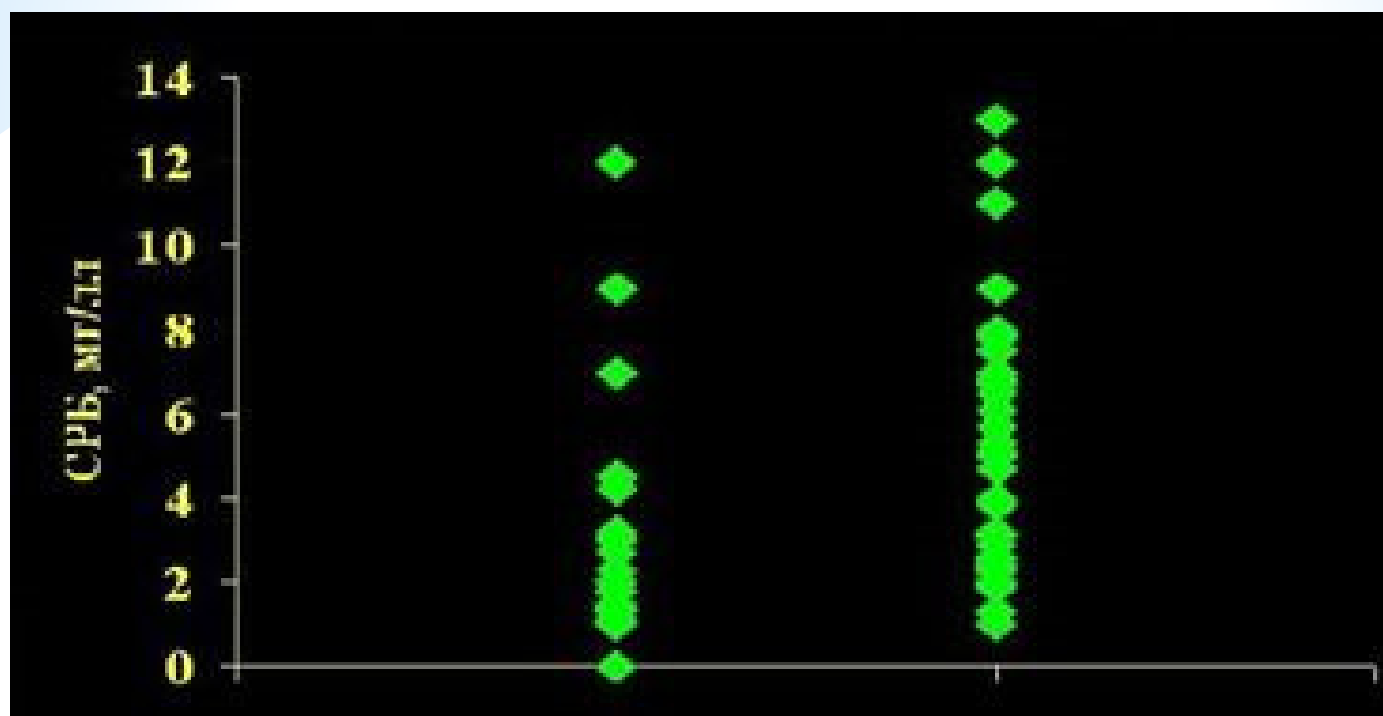
В крови практически здоровых лиц С-реактивный белок обнаруживается в концентрациях **менее 1 мг/л** и отражает активность циркулирующих в плазме цитокинов.

Что повышает и что понижает базовые уровни СРБ

Повышенный уровень hsСРБ	Низкий уровень hsСРБ
Артериальная гипертензия	Умеренное потребление алкоголя
Повышение индекса массы тела	Высокая физическая активность (регулярные физические упражнения)
Курение	Снижение массы тела
Метаболический синдром, сахарный диабет	Лекарственная терапия
Гормоны (эстрогены, прогестерон)	
Хроническая инфекция (гингивит, бронхит и др.)	
Хронические воспалительные заболевания (системные ревматические)	
Факторы окружающей среды	

- Определение hsCRP явилось необходимой методической основой для быстро развивающихся научных и клинических исследований **роли воспаления при атеросклерозе.**
- Базовый уровень CRP имеет прогностическое значение: позволяет **оценить степень риска** развития тяжелых **сердечно-сосудистых заболеваний** и их осложнений.

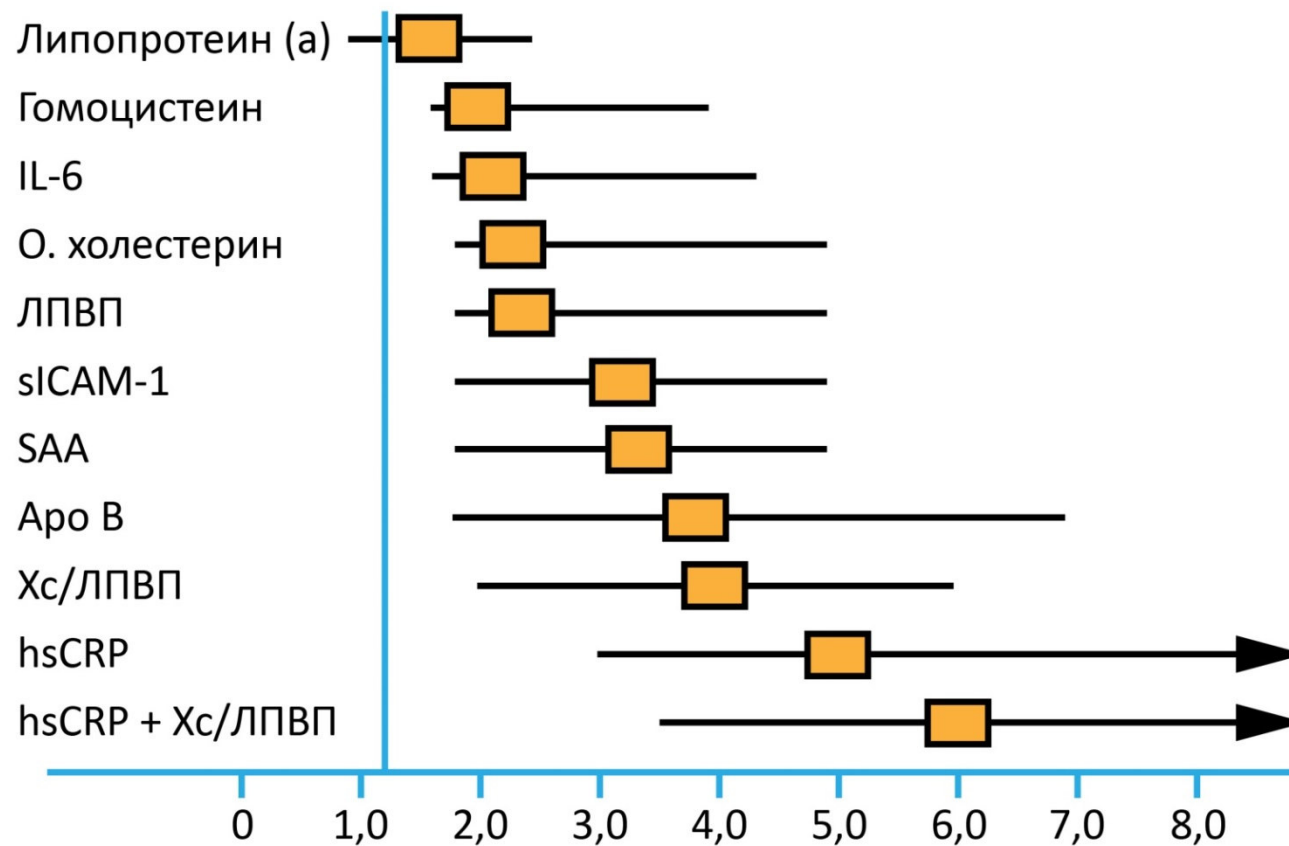
Повышенный hsCRP – предиктор прогрессирования атеросклероза



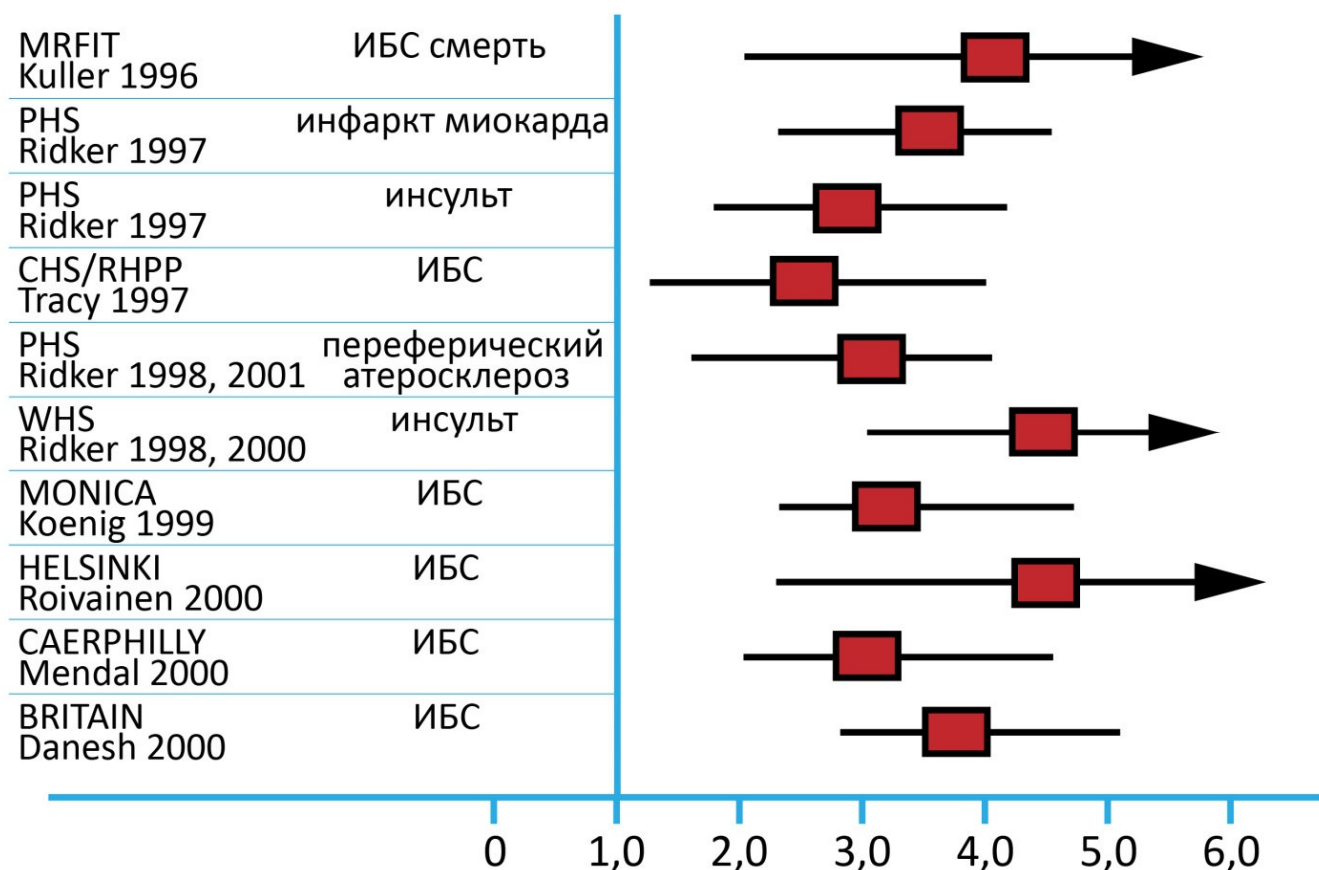
Не прогрессирующий
1,8+/-1,9 мг/л

Прогрессирующий
4,1+/-3,3 мг/л

Связь hsCRP с липидными и нелипидными факторами риска атеросклероза



hsCRP как фактор риска сосудистых осложнений. Результаты проспективных исследований



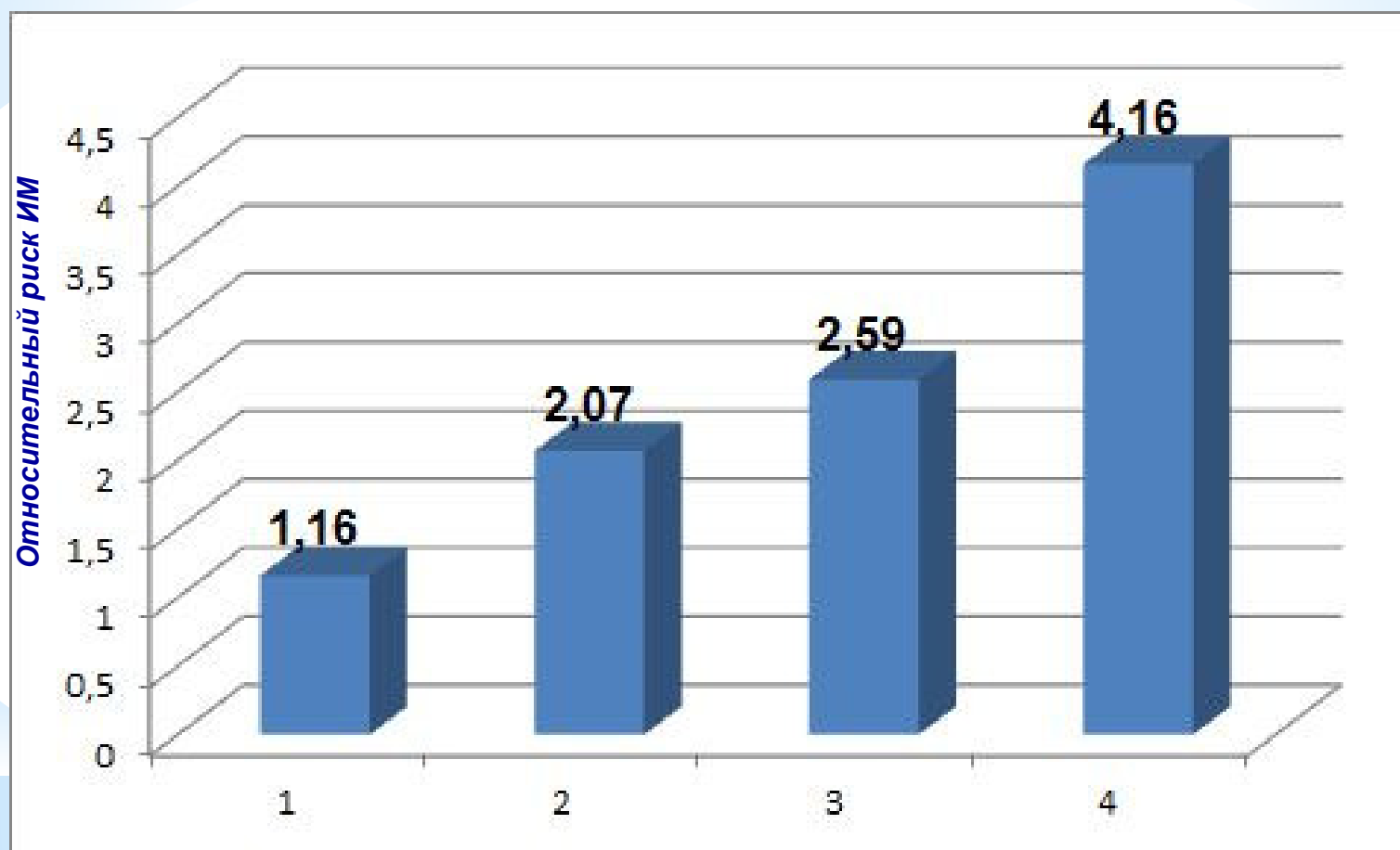
Базовый уровень СРБ - предиктор сосудистых осложнений

Концентрация СРБ, мг/л	Риск сосудистых осложнений (инсульт, ОИМ)
< 1	Минимальный
1,1 – 1,9	Низкий
2,0 – 2,9	Умеренный
> 3	Высокий

Базовый уровень hsCRP – предиктор:

- **сосудистых осложнений** (острый инфаркт миокарда, мозговой инсульт) у практически здоровых лиц среднего и пожилого возраста, у больных ИБС.
- **внезапной сердечной смерти** у лиц, не страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями.

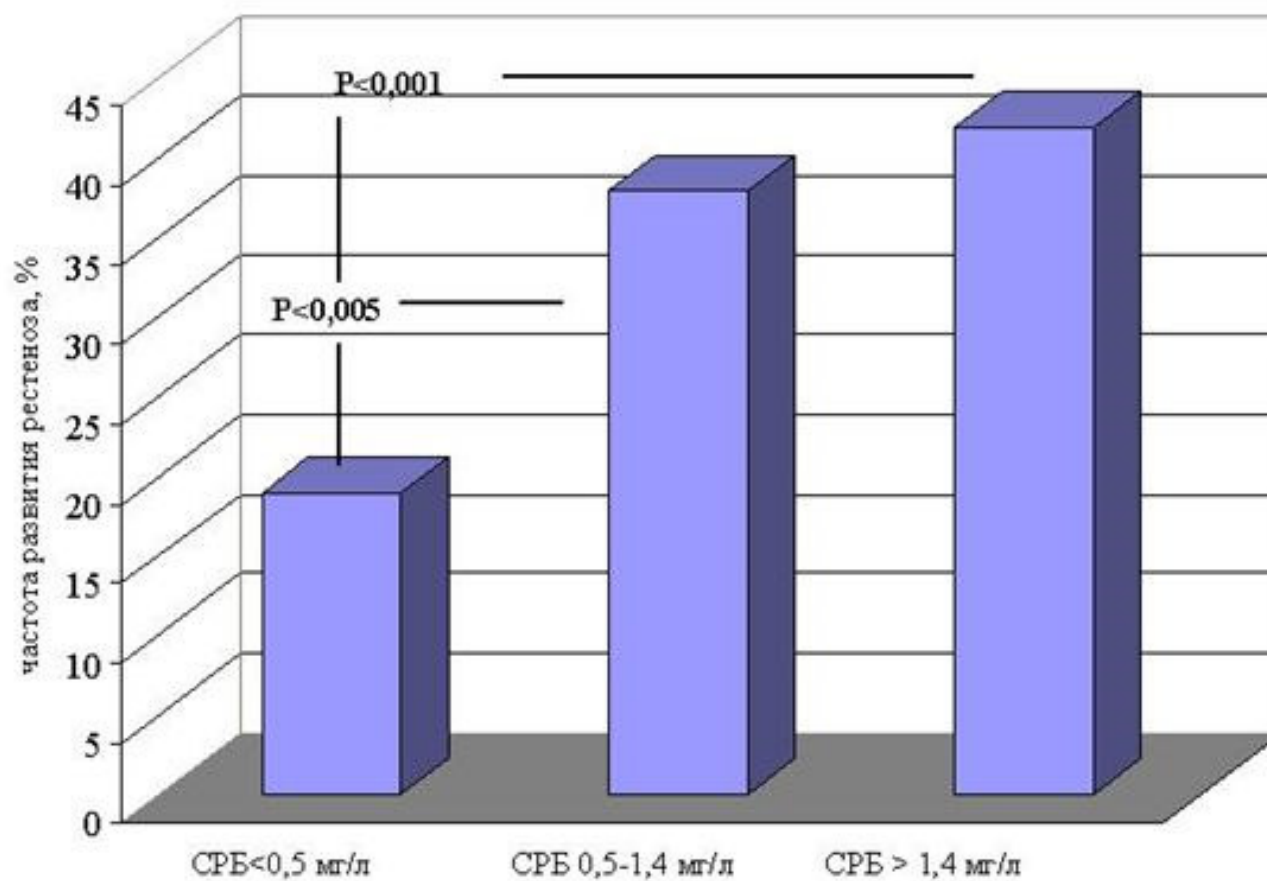
СРБ и риск инфаркта миокарда у практически здоровых лиц



При стратификации риска ранней летальности наиболее информативно **сочетанное определение** hsCRP и уровня тропонина Т:

- повышение обоих маркеров риска **hsCRP > 1,55** мг/л, **тропонин Т > 0,1** мг/л - наибольший риск смерти
- уровни **hsCRP < 1,55** мг/л и **тропонина Т < 0,1** мг/л – минимальный риск смерти

Уровень СРБ до имплантации стента и риск рестеноза



Связь уровня hsCRP с риском осложнений после инвазивного лечения ИБС:

hsCRP < 5 мг/л (в сочетании с нормальным уровнем церулоплазмина, >2 г/л) – только у 12% пациентов развился рестеноз коронарных артерий после ангиопластики со стентированием

hsCRP > 9 мг/л (в сочетании со сниженным уровнем церулоплазмина <0,2 г/л) - у всех больных развился рестеноз коронарных артерий

У больных с пересаженным сердцем повышение базового уровня hsCRP вдвое приводит к увеличению риска недостаточности трансплантата на 36%.

Прогрессирующая форма болезни коронарных артерий пересаженного сердца сопровождается более высокими базовыми уровнями hsCRP в плазме крови.

Базовый уровень hsCRP определяет **эффективность первичной и вторичной профилактики сердечно-сосудистых заболеваний** и их осложнений - при минимизации факторов риска атеросклероза, связанных с образом жизни снижается базовый уровень hsCRP и снижается коронарный риск.

Рекомендовано **скрининговое** определение hsCRP при решении вопросов первичной профилактики ИБС.

Концентрации СРБ следует определять

**В воспалительном диапазоне
(концентрации от 10 мг/л и выше)**

Для определения тяжести воспалительных процессов, вызванных бактериальными и вирусными инфекциями.

Для мониторинга:

- изменения тяжести таких процессов с целью коррекции их терапии
- состояния больного после хирургического вмешательства
- процесса отторжения пересаженной почки
- состояния больного после перенесенного инфаркта или ишемического инсульта.

Высококчувствительное измерение СРБ (концентрации менее 10 мг/л)

Следует применять для оценки рисков:

- прогрессирования атеросклероза, риска острых коронарных событий и ишемических инсультов
- осложнений после гемодиализа
- осложнений диабета
- патологий беременности

Перспективы исследования hsCRP:

- Более точное определение базового уровня CRP в скрининговых эпидемиологических исследованиях.
- Контроль hsCRP при первичной и вторичной профилактике сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений.
- Возможность повышения прогностического значения hsCRP при сочетании его с другими провоспалительными маркерами.
- Изучение механизмов модификаций CRP (гликозилирование, изменение аминокислотных последовательностей), происходящих при различных патологиях.
- Изучение соответствия разных модифицированных форм CRP конкретным формам патологий и их количественным проявлениям.
- Создание новых терапевтических средств, направленных на инактивацию тех свойств CRP, которые могут приводить к возникновению и развитию вызываемых им патологий.

Иммунотурбидиметрические наборы для определения БОФ производства НПФ «АБРИС+»



- Высокая специфичность
- Отсутствие перекрестных реакций с другими белками сыворотки
- Стабильность получаемых результатов
- Полная адаптация для автоматических анализаторов
- Доступность и экономичность

Санкт-Петербург



ЖИВОПИСЬ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ



Россия, 196084, С-Петербург, ул. Цветочная, д. 16, БЦ «Осиповф», оф. 207
Тел.: (812) 740-19-92; 740-18-01; 740-17-89. Фед. тел.: 8-800-333-73-24
E-mail: abris@abrisplus.ru НПФ АБРИС+ <http://www.abrisplus.ru>



**ООО НПФ
«АБРИС+»**

**Россия
Санкт-Петербург,
ул.Цветочная, д. 16
(812) 740-19-92
(812) 740-18-01
(812) 740-17-89**

<http://www.abrisplus.ru>

Спасибо за внимание!

 НПФ
АБРИС+