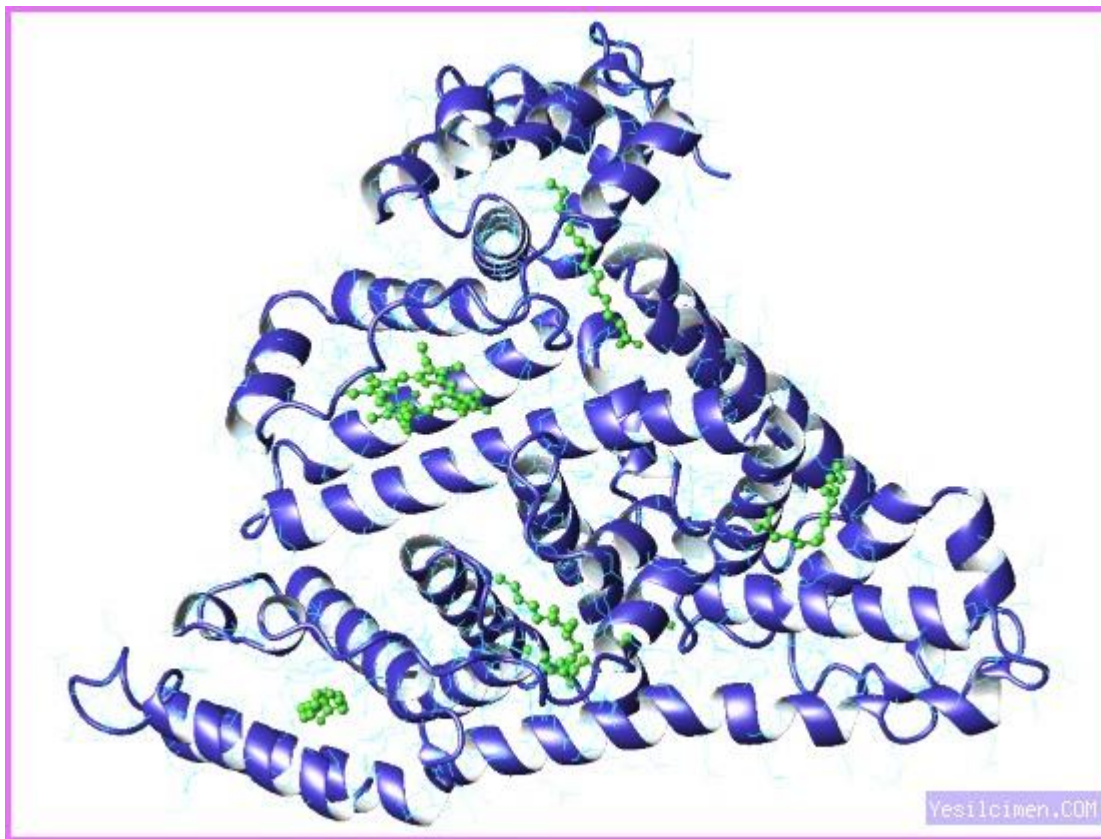
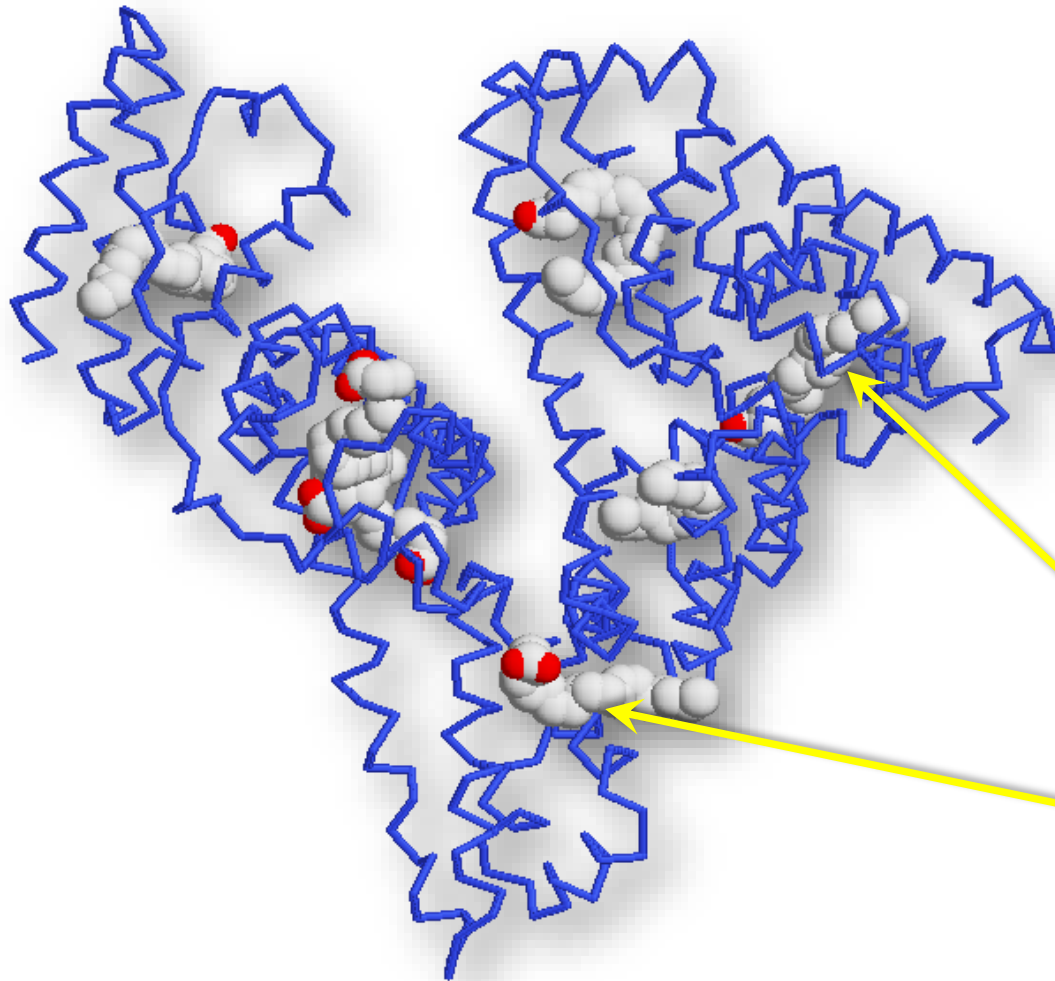


ЭПР-спектроскопическое определения изменений транспортных свойств альбумина

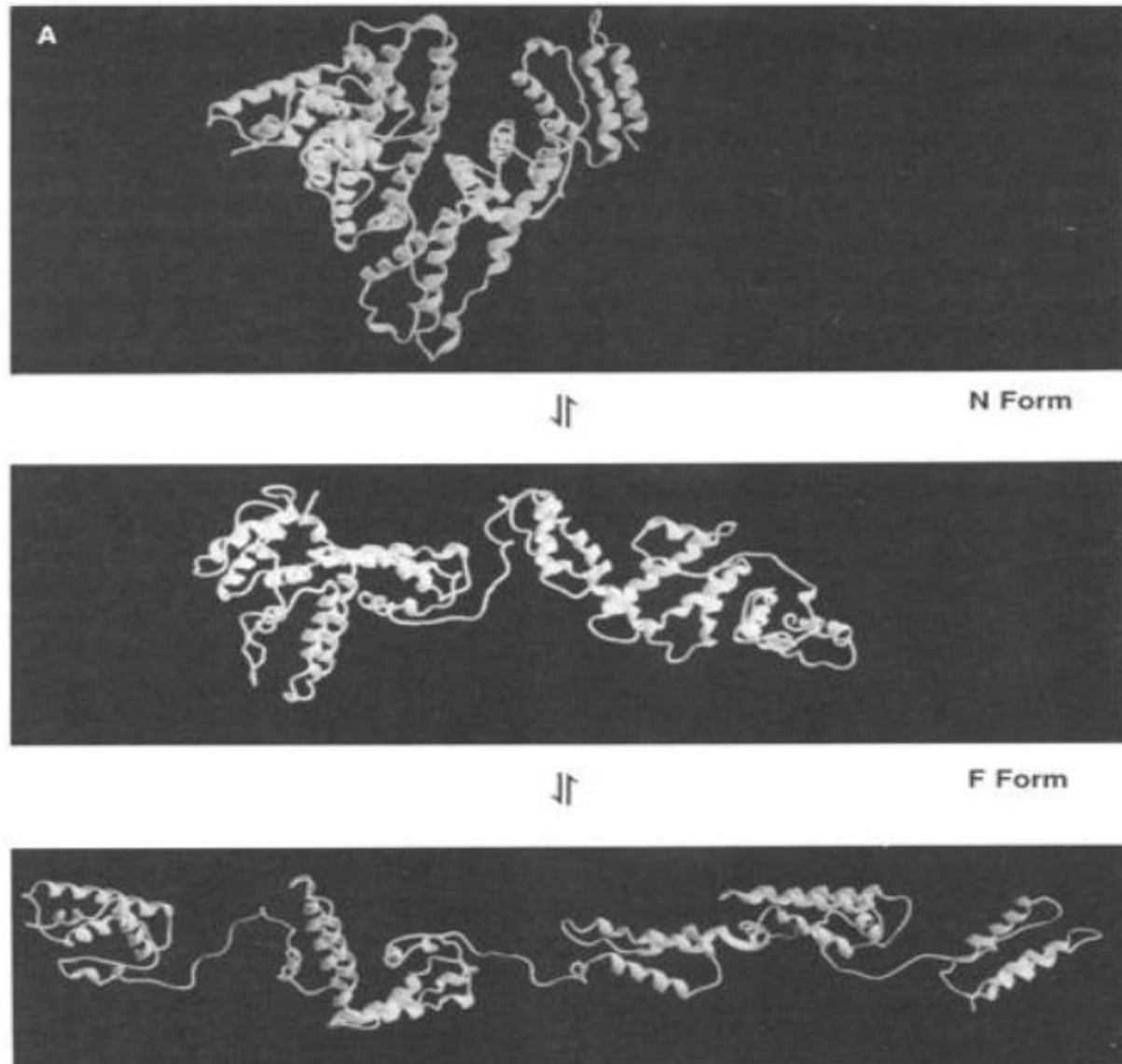


Структура и функции альбумина



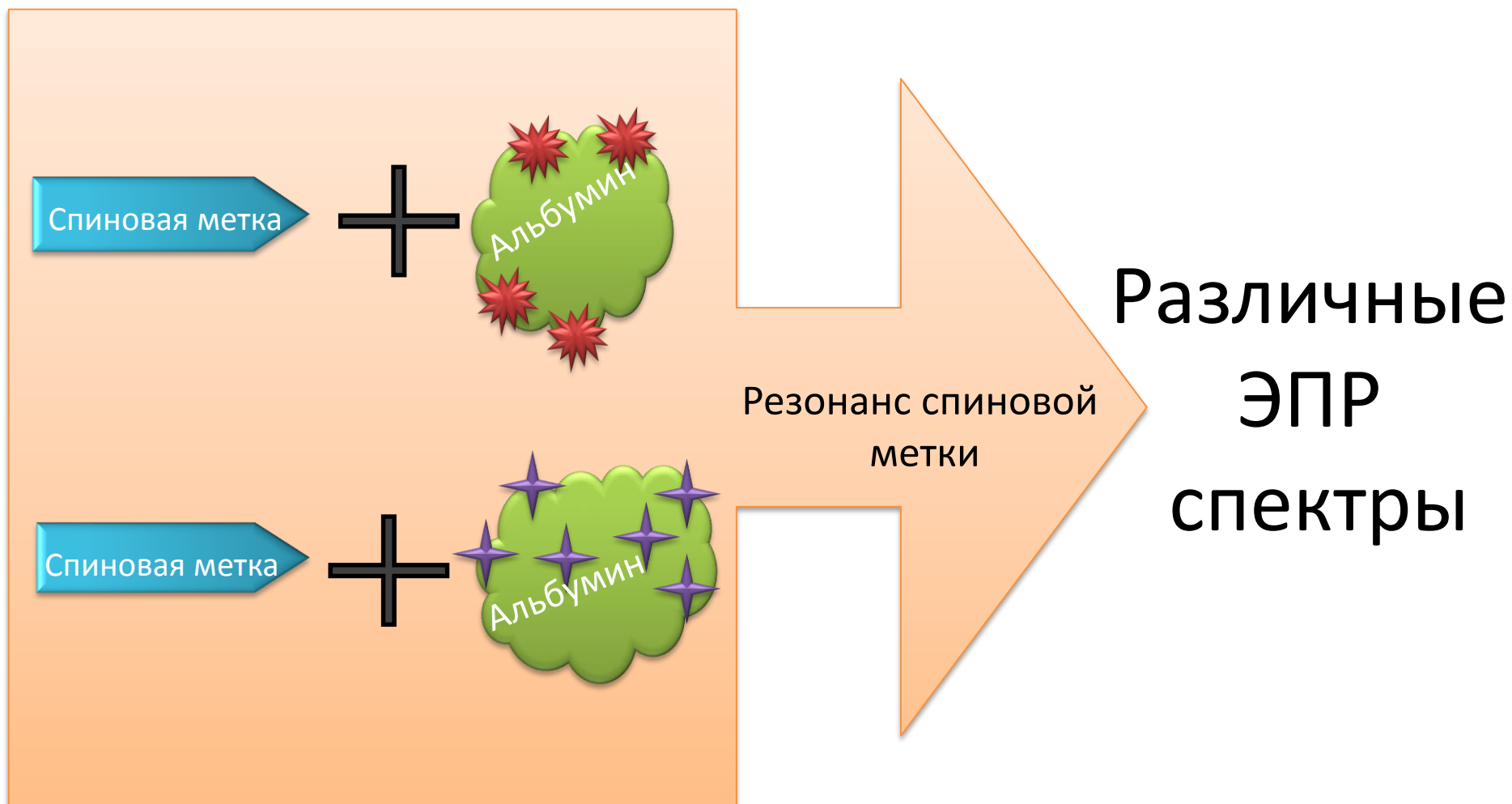
Сайты связывания лигандов —
жирных кислот, триптофана,
билирубина, стероидных
гормонов, токсинов,
металлов, медикаментов

Функциональная
активность
альбумина
способностью его
молекулы менять
конформацию при
связывании с
метаболитами



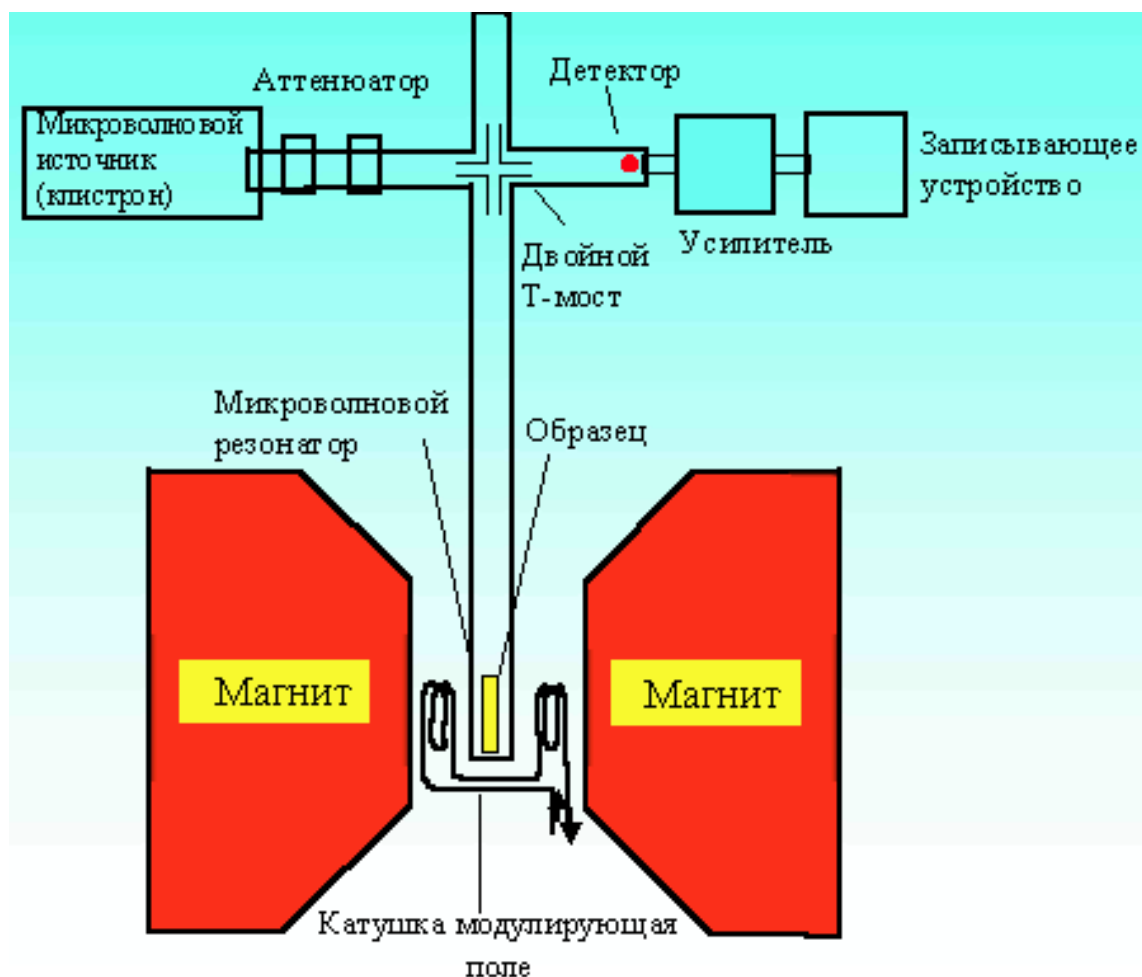


Принцип метода



Магнитное поле

Принцип метода



Электронный парамагнитный резонанс - резонансное поглощение электромагнитной энергии в сантиметровом или миллиметровом диапазоне длин волн веществами, содержащими парамагнитные частицы

Принцип метода

Спин-меченая жирная кислота (16-доксил-стеариновая кислота) в трех различных концентрациях полярного растворителя – этанола



Спиновая метка соединяется с альбумином в специфических центрах связывания и между доменами внутри глобулы



3 конформационные модификации альбумина



3 ЭПР-спектра



Аппроксимация спектров



- Связывающая эффективность (BE)
- Транспортная эффективность (RTQ)
- Детоксикационная эффективность (DTE)
- Показатель нативности конформации альбумина (DR)



Референтные интервалы

- 2000-2004 гг. – обследовалась группа здоровых доноров-добровольцев (321 человек), в возрасте от 9-и до 78-и лет.
- 2005-2007 гг. – обследовалась группа здоровых доноров-добровольцев (83 человека), в возрасте от 17-и до 78-и лет.

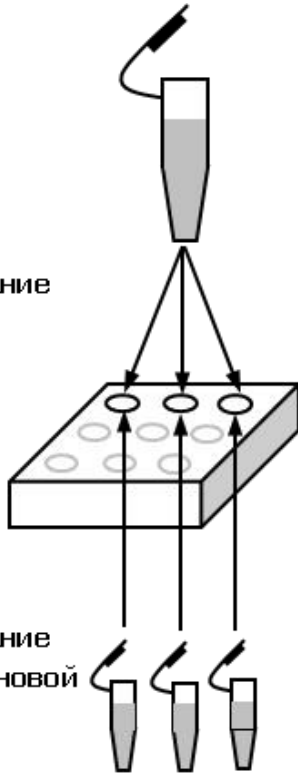
Показатель	Референтный интервал
DR	1,2 – 5
BE	65 – 135 %
RTQ	60 – 100 %
DTE	50 – 175 %

Пробоподготовка

- Сыворотка 0,2 мл
- Забор крови обычной венепункцией (3-5 мл)
- Центрифугирование при 1000-1500 g в течение 10 минут
- Супернатант переносится в отдельную пробирку
- Хранение образцов при t 4-8 C (не более 5 дней) или -20 °C (6 месяцев)
- Сыворотка может быть заморожена только один раз

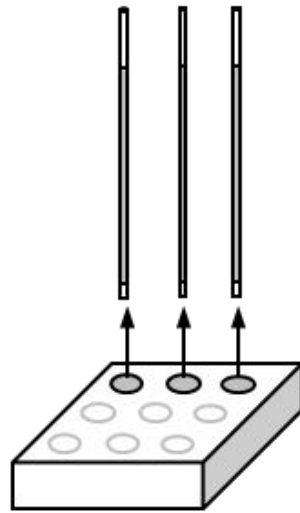
Схема методики

1. Дозирование сыворотки



2. Дозирование реагента спиновой метки ЭПР

4. Заполнение капилляров



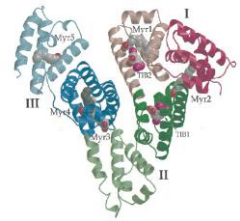
3. Инкубация

5. Измерения образцов в капиллярах



6. Обработка спектров ЭПР и вывод результатов





Области применения метода

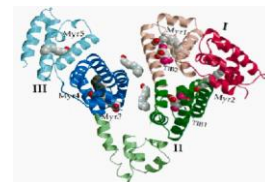
Раннее **определение нарушений транспортной системы крови** при интоксикации (например, сепсис - SIRS) в отделениях интенсивной терапии;

Мониторинг нарушений транспортной системы крови при интоксикации в отделениях интенсивной терапии;

Профилактическое обследование широкого круга лиц, относящихся к группе с повышенным риском возникновения онкологического заболевания, в целях **ранней диагностики злокачественных образований** различных видов и локализаций;

Выявление и мониторинг онкологического процесса для корректировки проводимой терапии онкологического заболевания, а также предотвращения рецидивов;

В перспективе - **оценка качества транспортных свойств коммерческих растворов альбумина**



Состояния, снижающие точность измерения при диагностике онкологического процесса

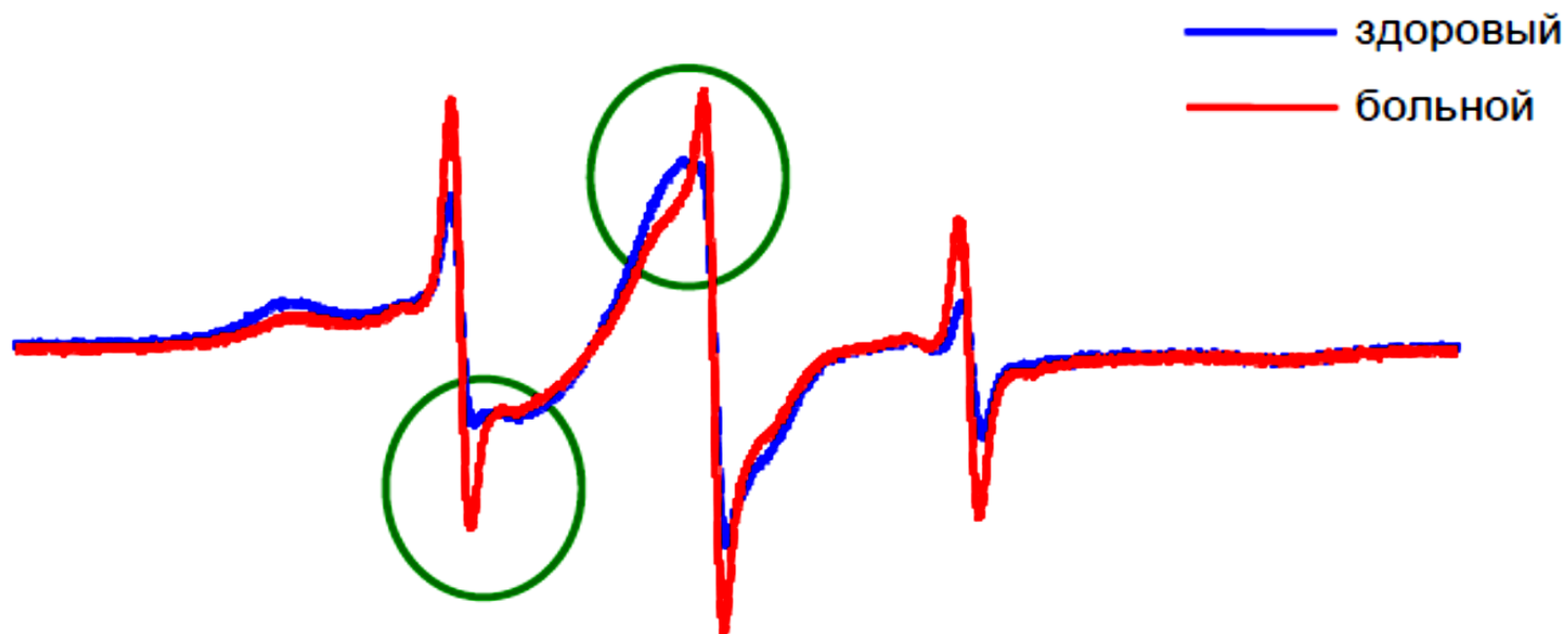
Ложноположительные результаты

- печёночная недостаточность;
- острое вирусное, либо воспалительное заболевание;
- ожоги тела высокой степени;
- тяжелая травма при высокой потере крови;
- тяжелая медикаментозная интоксикация;
- послеоперационный (до 14 суток) период;
- нахождение под воздействием алкоголя и наркотических средств;
- пониженное содержание в крови альбумина – гипоальбуминемия (< 35 г/л);
- период беременности

Ложноотрицательные результаты

- повышенное содержание в анализируемой сыворотке триглицеридов и липопротеинов по сравнению с нормальными значениями (осуществляется автоматический контроль во время измерения);
- повышенное содержание в крови альбумина – гиперальбуминемия (> 55 г/л).

Ранняя диагностика активного злокачественного роста



Интерпретация результатов

DR	BE	RTQ	DTE	Интерпретация результатов анализа
Показатель нативности конформации альбумина	Связывающая способность альбумина	Транспортная эффективность альбумина	Детоксикационная эффективность альбумина	
+	+	+	+	активного роста злокачественного образования не установлено
+	+	+	-	активного роста злокачественного образования не установлено (при наличии одного или нескольких противопоказаний к использованию метода)
+	+	-	+	-//- (см. предыдущее)
+	+	-	-	-//-
+	-	+	+	-//-
+	-	+	-	-//-
+	-	-	+	-//-
+	-	-	-	-//-
-	+	+	+	наличие активного роста злокачественного образования
-	+	+	-	наличие активного роста злокачественного образования (при наличии одного или нескольких противопоказаний к использованию метода). Для подтверждения результата рекомендовано контрольное измерение в течении месяца при желательном исключении противопоказаний к использованию метода
-	+	-	+	-//- (см. предыдущее)
-	+	-	-	-//-
-	-	+	+	-//-
-	-	+	-	-//-
-	-	-	+	-//-
-	-	-	-	-//-

Показатель нативности конформации альбумина (DR)

- Пороговое значение – 1,0
 - Серая зона 0,8-1,2

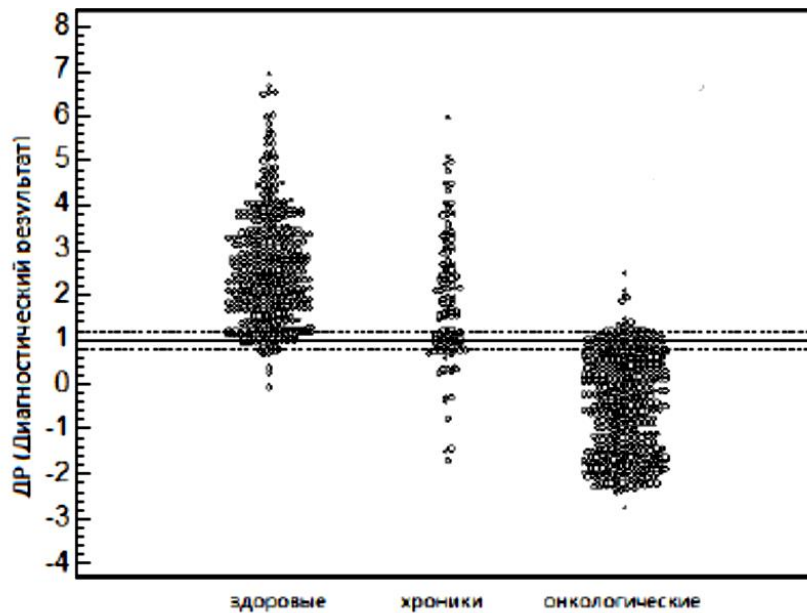
Пример интерпретации результатов



Клинические исследования

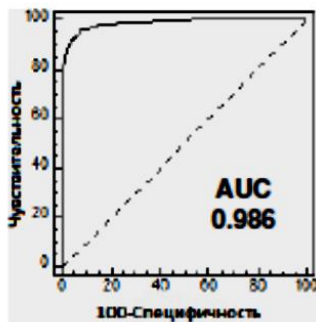
Год	Автор и место проведения	N	n	Группы	ДЧ, %	ДС, %	Комментарий	Рейтинг
2002	MedInnovation, Берлин	575	349	здоровые	87	96	Опухоль – здоровые	2+
			135	опухоль		94	Опухоль – (здоровые+с хрон.заб.)	
			91	с хронич. заболеваниями		86	Опухоль – с хрон.заб.	
2008-2010	Д-р Трофименко, д-р Маладин / ФМБЦ, Москва	222	115	онкология	90	100	Мол.железа, простата, почки, мочевого пузыря, легкие, ЖКТ	2+
			107	Контрольная группа				
2009-2011	Проект разработки теста ранней диагностики рака кишечника совместно с клиникой St.Elizabeth-Krankenhaus, Берлин	650	250	контрольная группа	90	95	Раковые - здоровые	2+
			200	рак кишечника		80	Раковые – здоровые и доброкачественные опухоли	
			100	доброкачественные заболевания		90	Раковые – доброкачественные опухоли	
			100	иные локализации		90	Раковые – здоровые и доброкачественные опухоли, а также злокачественные опухоли иной локализации	
2010-	Dr. Hakån Olsson et al / Лунд, Швеция	400	200	контрольная группа	Задача – улучшение неинвазивной диагностики рака простаты путем комбинации с тестом ПСА Результат – комбинация ЭПР-ТСА с ПСА увеличивает диагностическую эффективность	2+		
			200	рак простаты				
2014-	Dr. P. Reichardt / Берлин	100		Мониторинг терапии	Сравнение теста со стандартными методами при наличии опухоли, в процессе лечения и после лечения		2++	

Онкология, хронические заболевания, здоровые

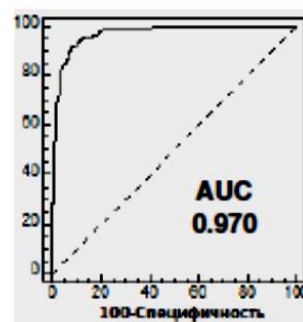


428 здоровых добровольцев
479 онкологических больных
114 пациентов с
хроническими
заболеваниями различной
природы

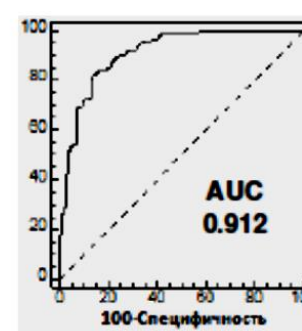
Раковые - здоровые



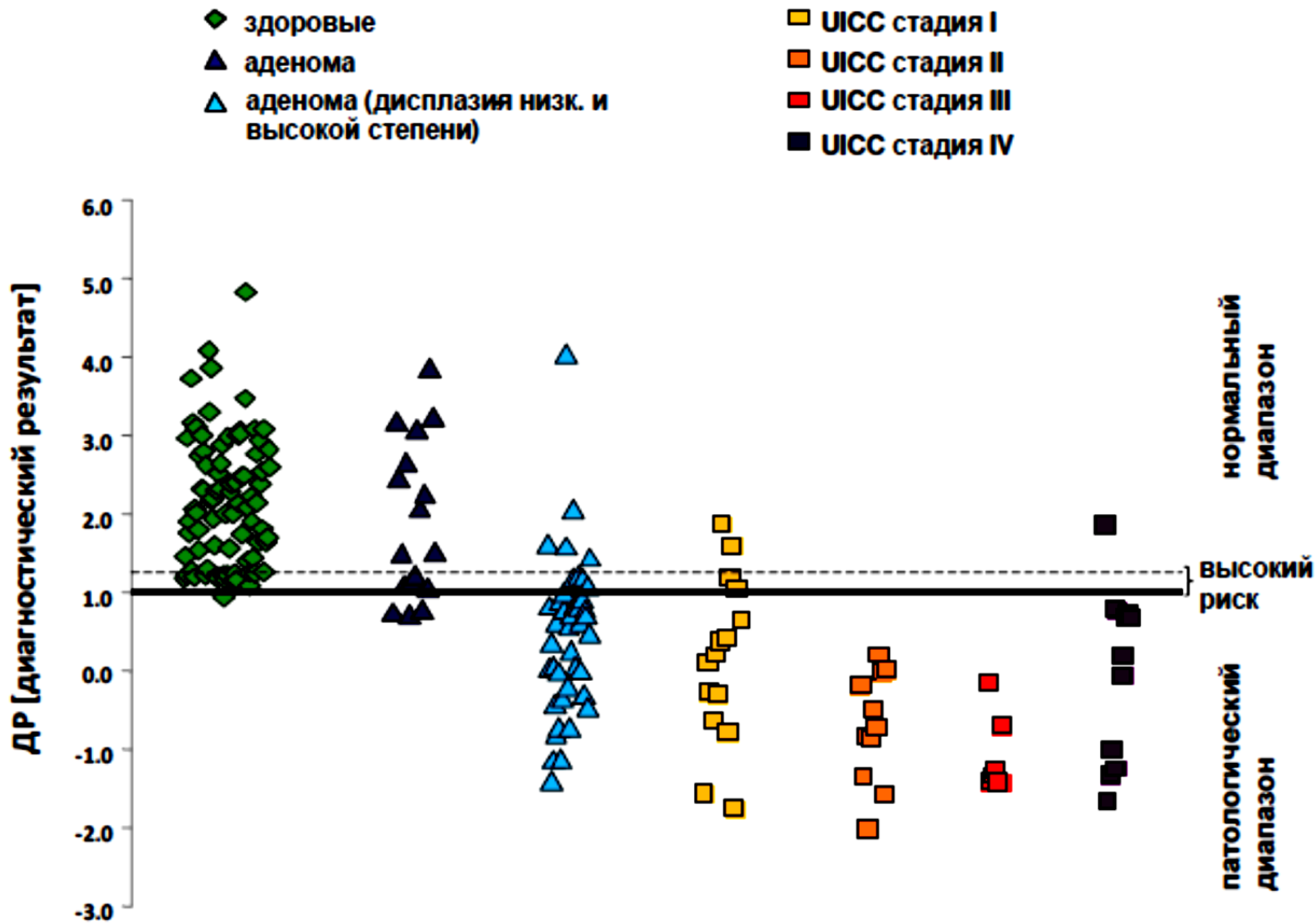
Раковые - здоровые + хроники



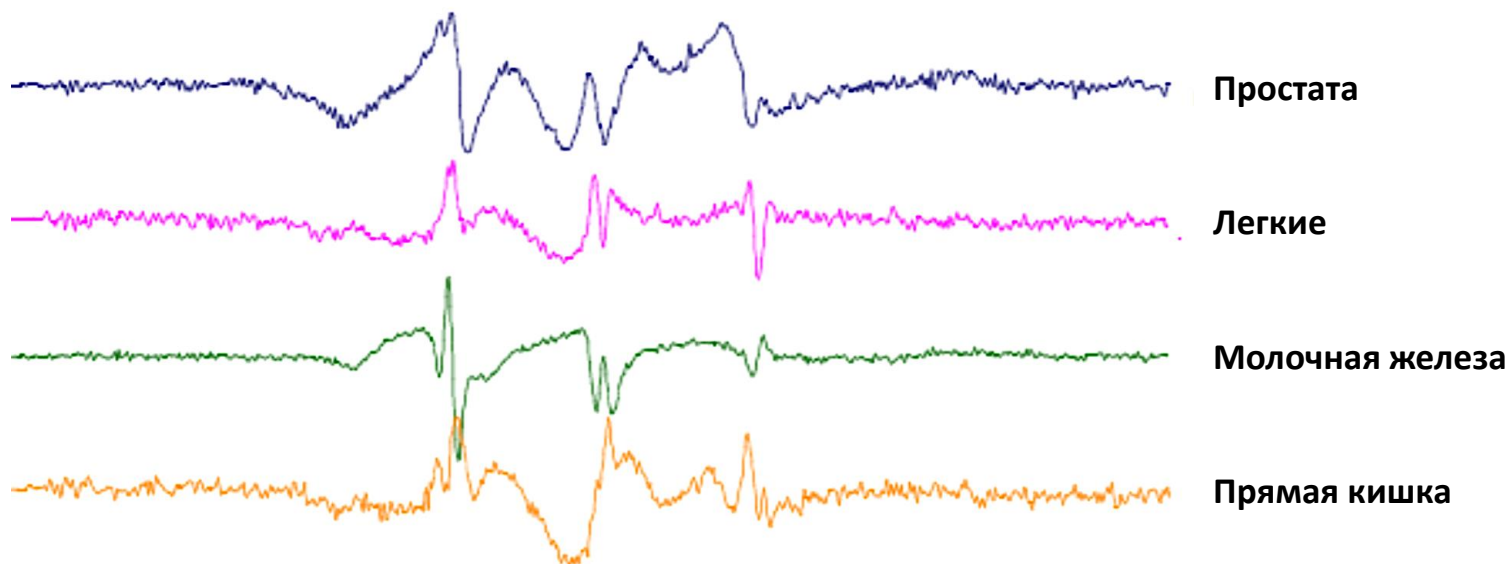
Раковые - хроники



Рак толстого кишечника, аденома, здоровые



Вид ЭПР-спектра и локализация опухоли



Другие заболевания

Атеросклероз?

По мере развития атеросклеротического процесса повышается содержание модифицированного фибриногена, из которого в местах повреждения сосудистой стенки образуется нелизируемый фибрин

Модифицированный фибриноген:
комплекс из фибриногена

+

метаболиты воспалительного процесса

+

микроэлементы

+

АЛЬБУМИН



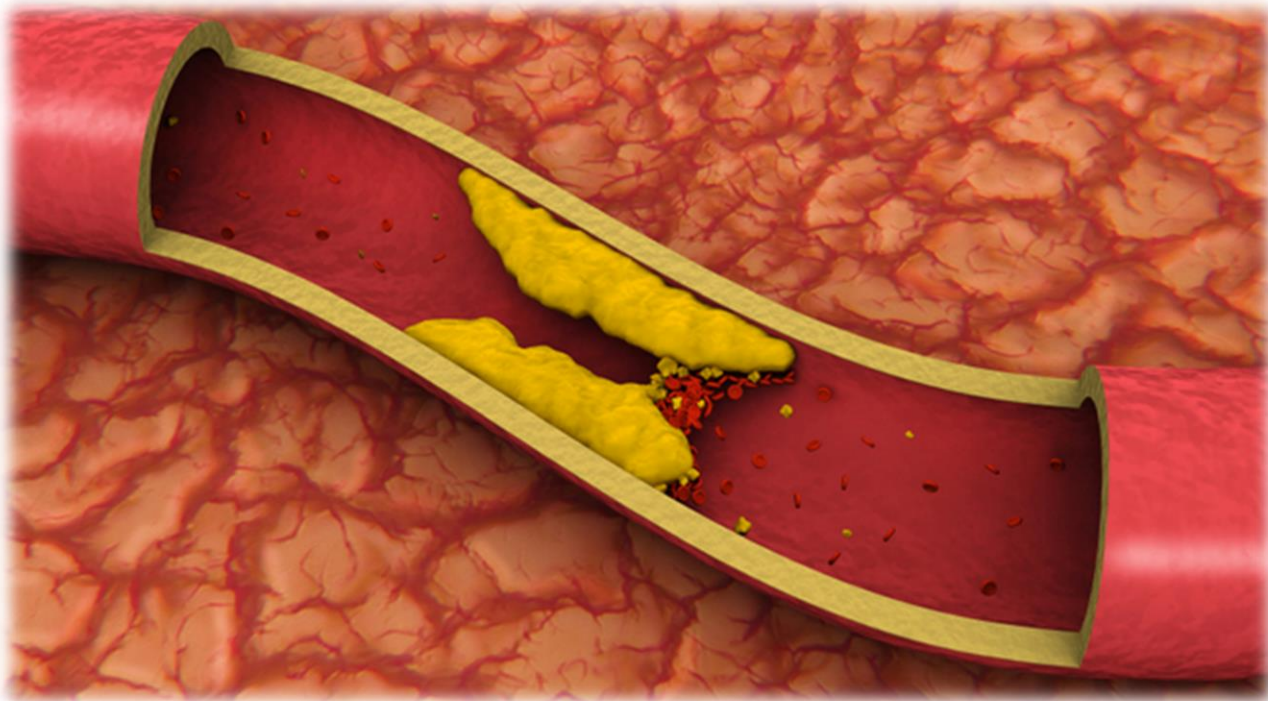
Изменение ЭПР-спектра

Перспективы....

Измерить атеросклероз?

Количественное определение:

- степень атеросклеротического процесса
- в динамике - скорость развития атеросклеротического процесса





СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!