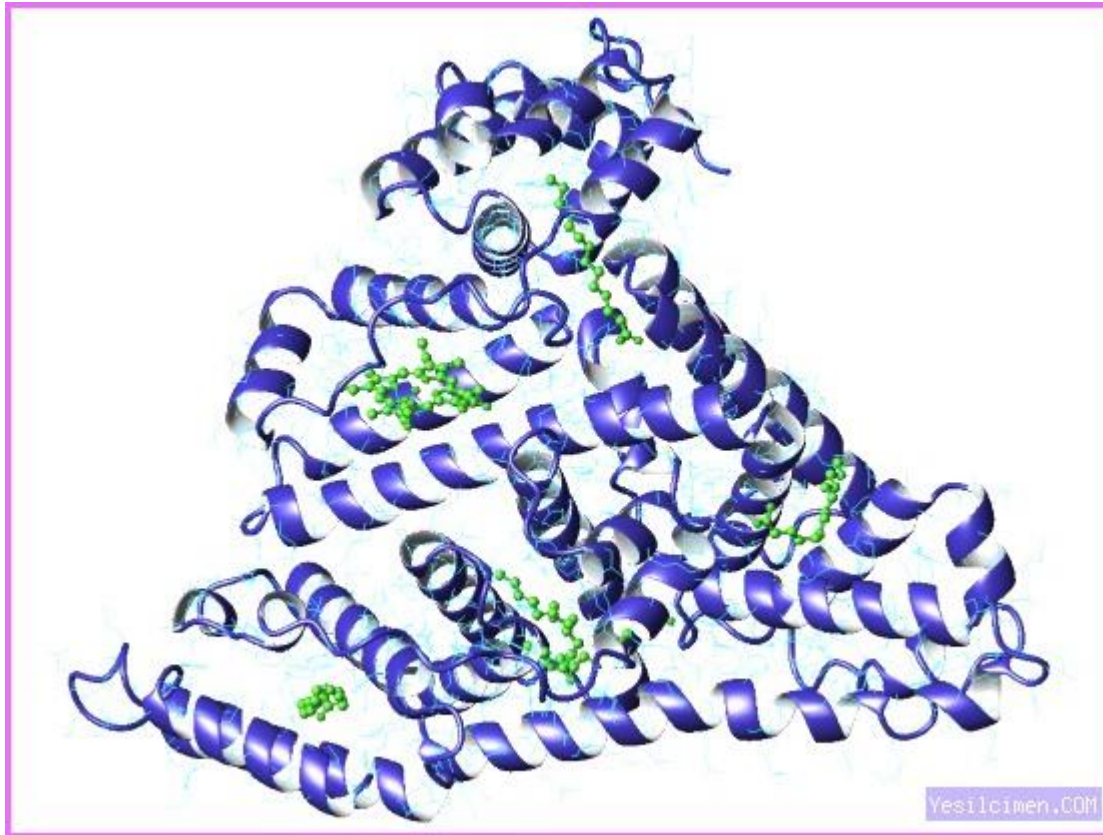
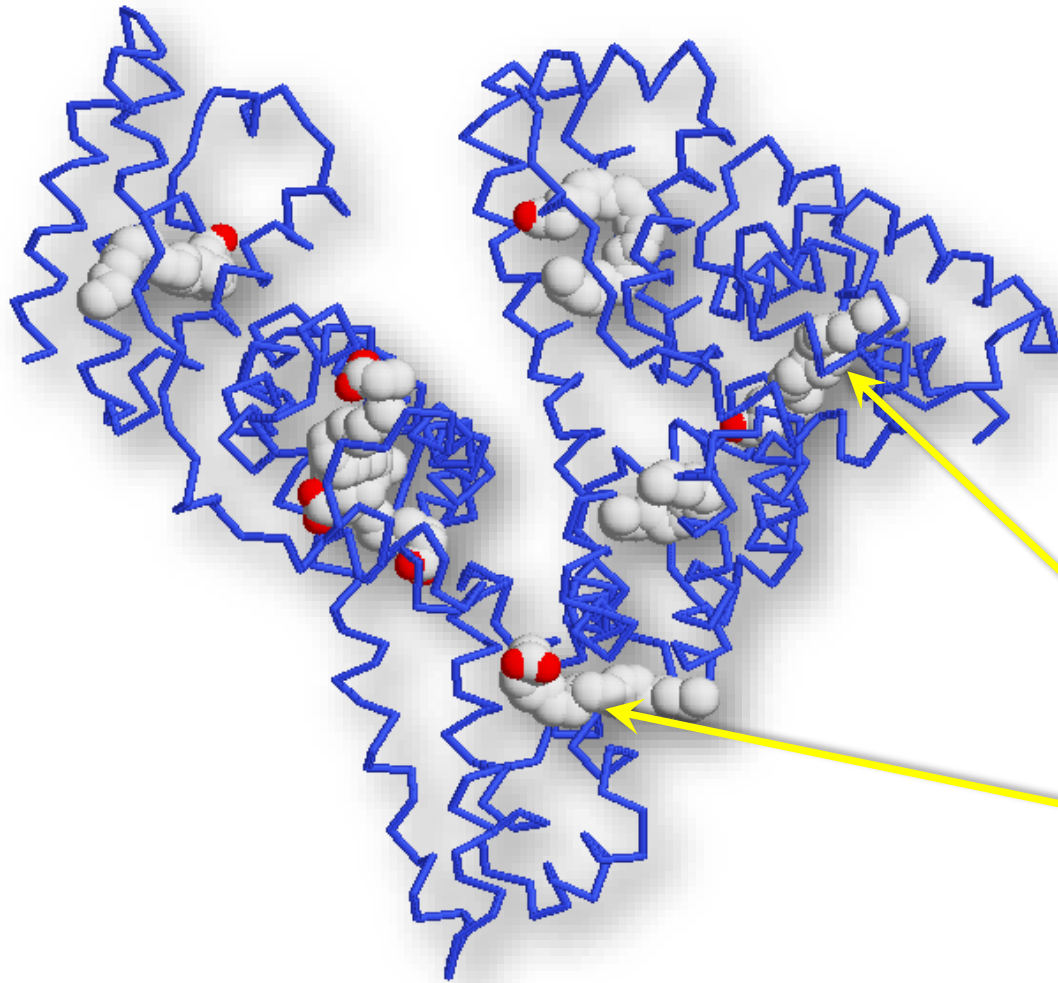


ЭПР-спектроскопическое определения изменений транспортных свойств альбумина

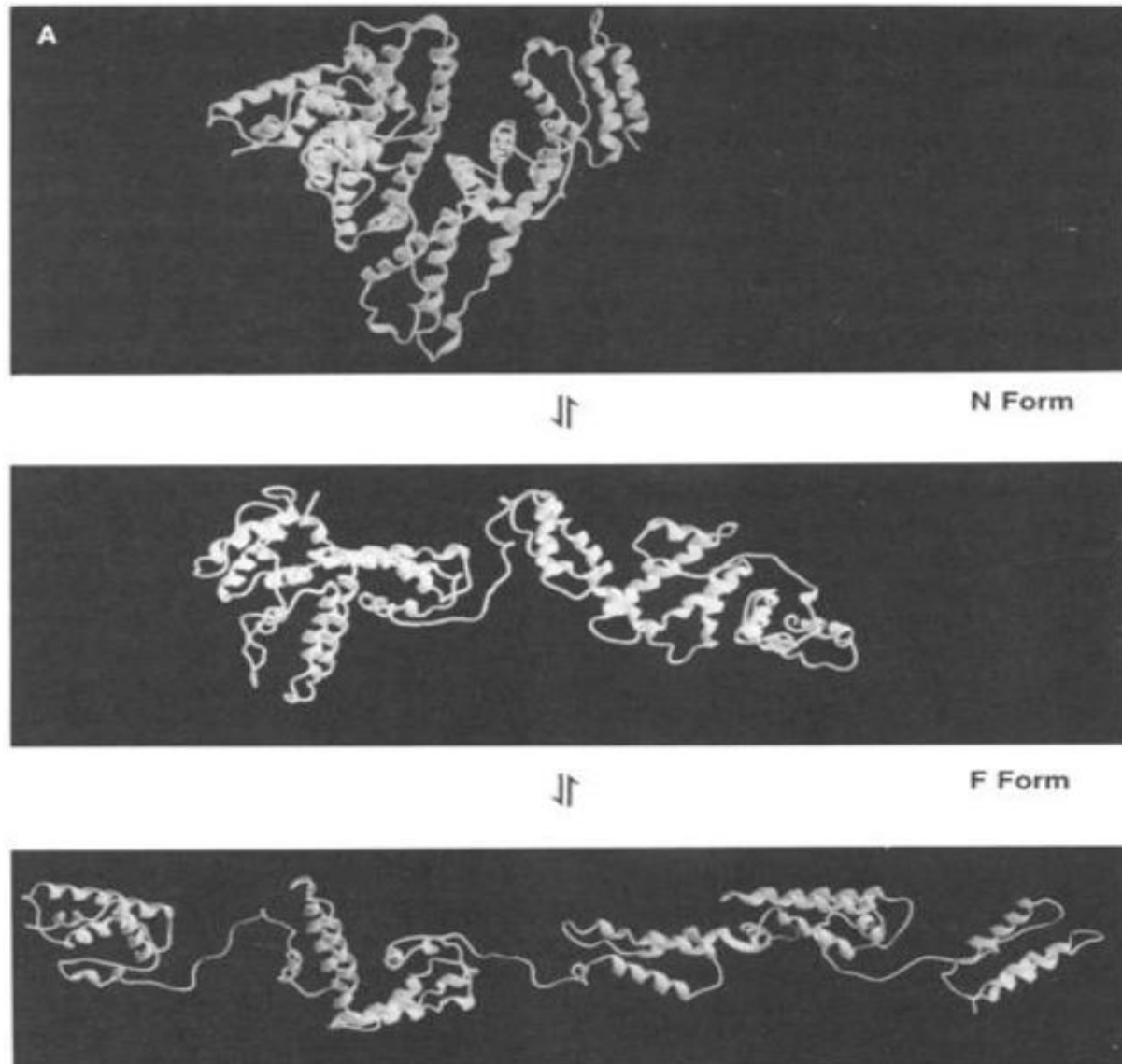


Структура и функции альбумина



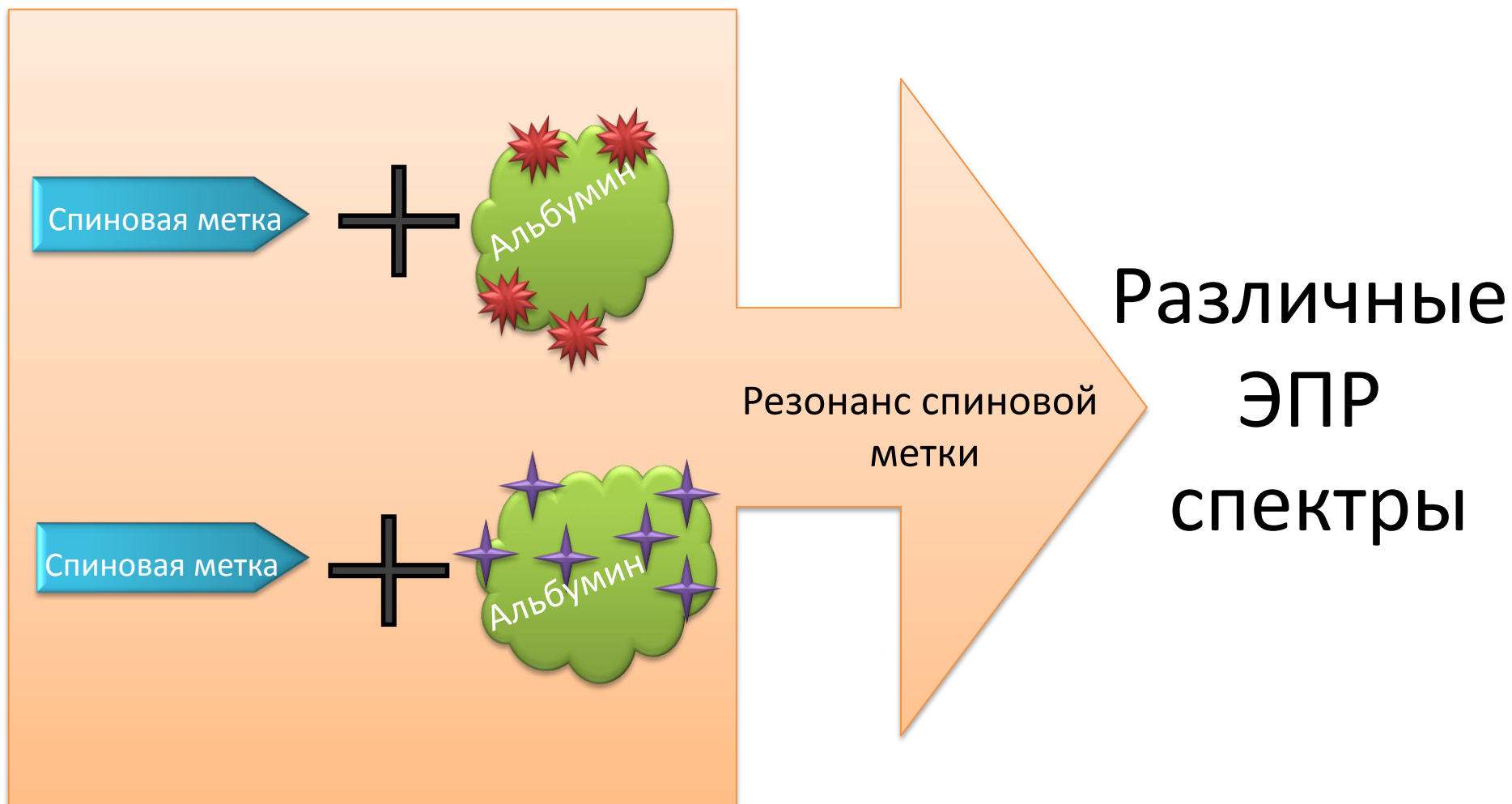
Сайты связывания лигандов —
жирных кислот, триптофана,
билирубина, стероидных
гормонов, токсинов,
металлов, медикаментов

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

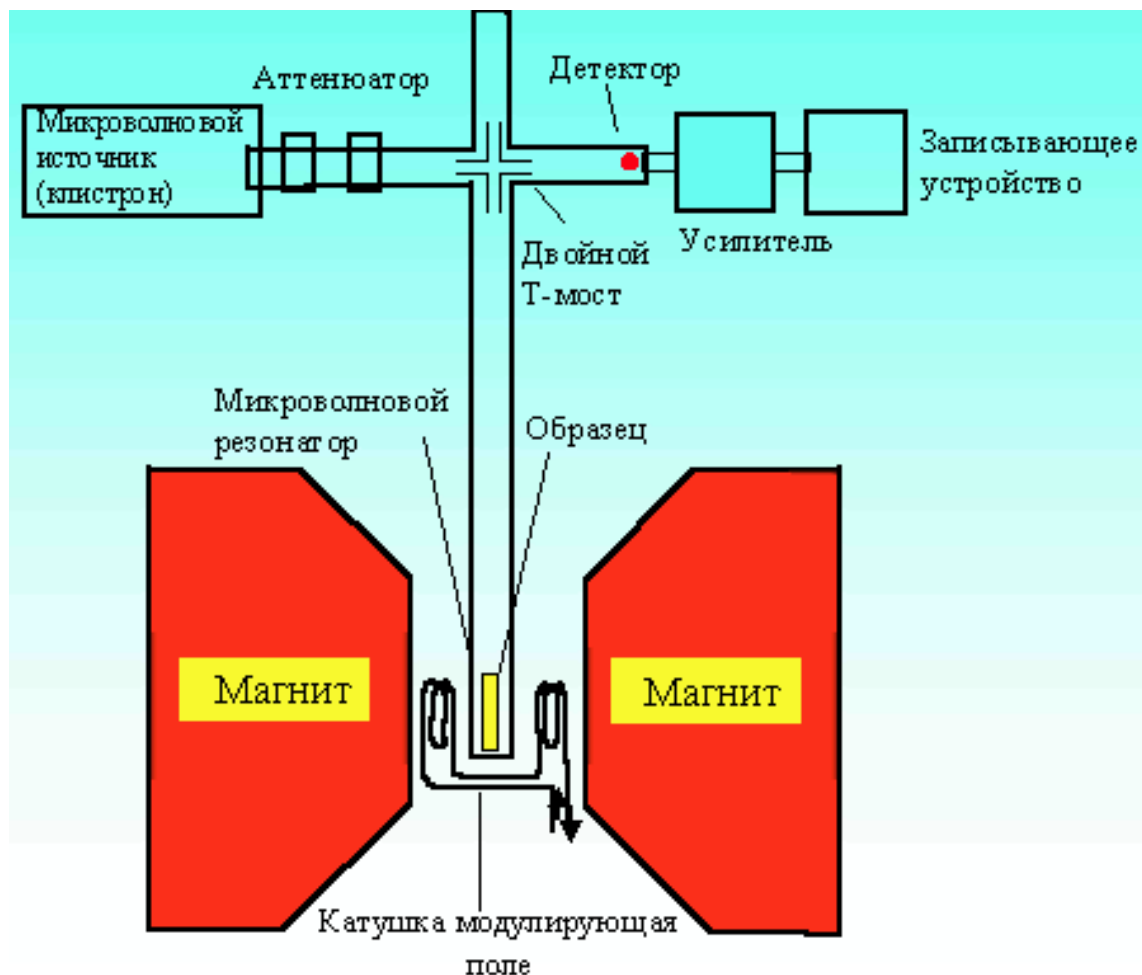




Принцип метода



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)
- Детоксификационная эффективность (DTE)
- Показатель нативности конформации альбумина (DR)



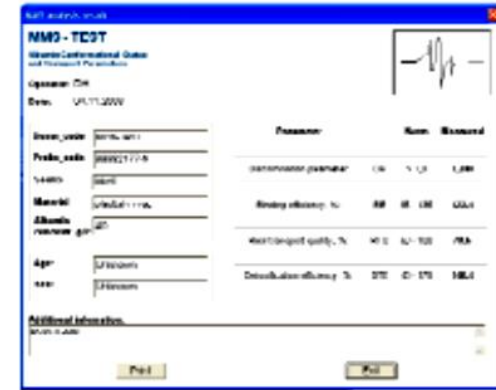
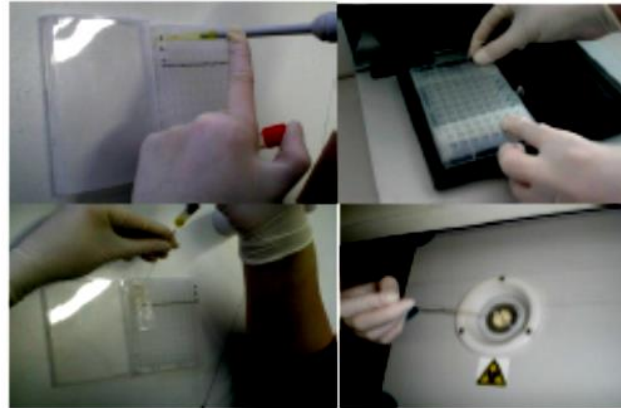
Референтные интервалы

- 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 %

Методика

Анализатор + тестовый набор и методика + программное обеспечение



- Сыворотка или ЭДТА-плазма, 0,2 мл
- Забор крови обычной венепункцией (3-5 мл)
- Центрифугирование при комнатной температуре при 1000-1500 g в течение 10 минут
- Супернатант переносится в отдельную пробирку
- Хранение образцов при t 4-8 C (не более 4 дней) или -30 C (6 месяцев)
- Сыворотка/плазма может быть заморожена только один раз



Области применения метода

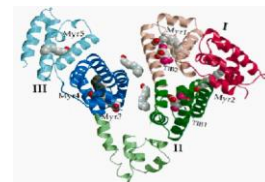
Раннее **определение нарушений транспортной системы крови** при интоксикации (например, сепсис - SIRS) в отделениях интенсивной терапии;

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 активных злокачественных образований** всевозможных видов и локализаций;

Мониторинг физиологических и патологических изменений в организме человека в процессе лечения онкологического заболевания с целью **корректировки проводимой терапии онкологического заболевания**, а также с целью **предотвращения рецидивов**;

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



Состояния, снижающие точность измерения

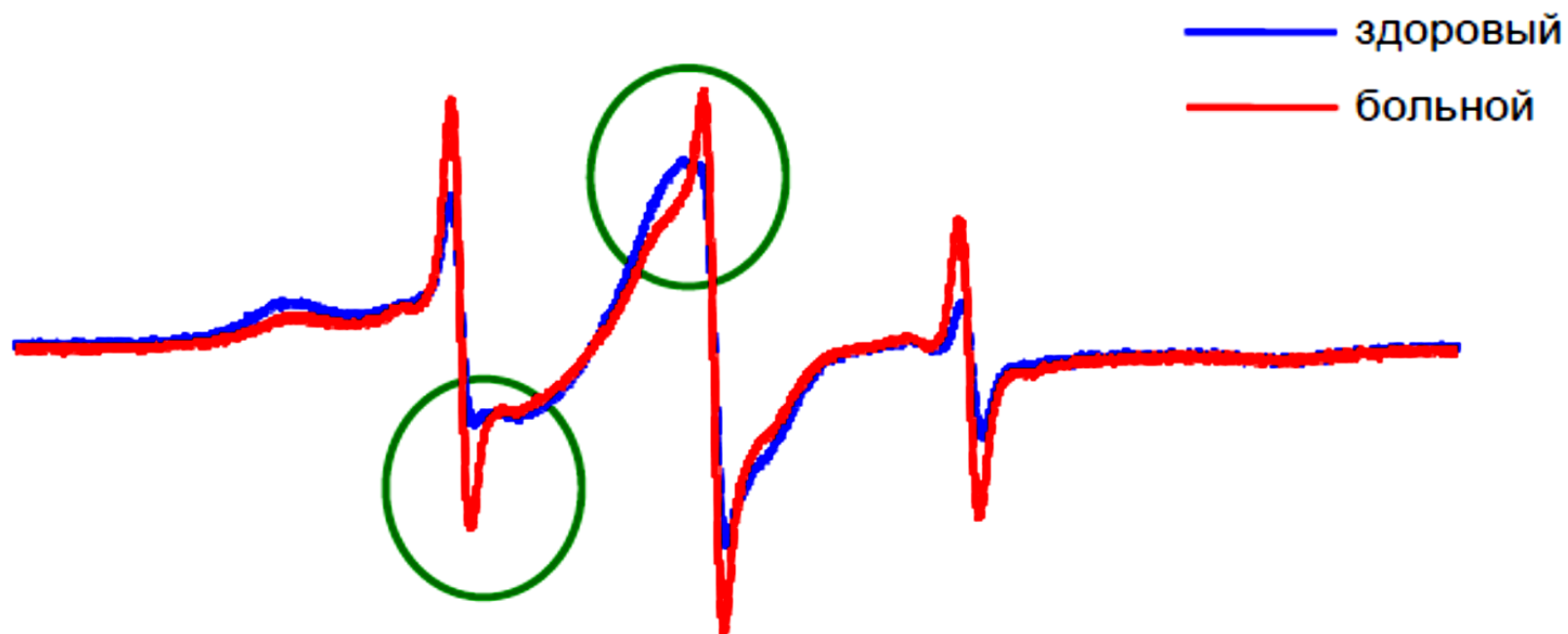
Ложноположительные результаты

- 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	Детоксификационная 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)
-	+	-	-	-//-
-	-	+	+	-//-
-	-	+	-	-//-
-	-	-	+	-//-
-	-	-	-	-//-

Пример интерпретации результатов



Клинические исследования

					Чувствительность	Специфичность	Примечание		
1)	2002	MedInnovation, Берлин	575	349	здоровые	87%	96%	Раковые - здоровые	
				135	онкологические			94%	Раковые - здоровые + хронические заболевания
				91	хроники			86%	Раковые – хронические заболевания
2)	2003	Dr. Schulz / Клиника Бад-Саарова	11	Мониторинг терапии		результаты совпадают с иммунологическими тестами и клиническим статусом	хроническая лимфоцитарная лейкемия В клеток В-CLL		
3)	2003	Prof. Koch / Окружная клиника Беескова	24	Мониторинг терапии		параметры MMS коррелируют с успехом/неудачей в терапии опухоли	Желудочно-кишечный рак		
4)	2004	Dr. Reszka / Max-Delbrück-Center, Берлин	24	10	здоровые	100%	100%	Опухоли головного мозга	
				14	онкологические				
5)	2005	Prof. Hofmeister, Dr.Kramer / Charité, Берлин	27	14	здоровые	75%	93%	Рак головы и шеи	
				13	онкологические				
6)	2005	Prof. Wagner, Dr. Moergel / Университет Майнца	20	10	здоровые	87%	83%	Рак головы и шеи	
				10	онкологические				
7)	2005	Prof. Davidov, Prof. Zubrikhina / Москва	167	70	здоровые	78%	86%	желудок, панкреатит, почка, пищевод, прямая кишка и другие	
				97	онкологические				

Клинические исследования

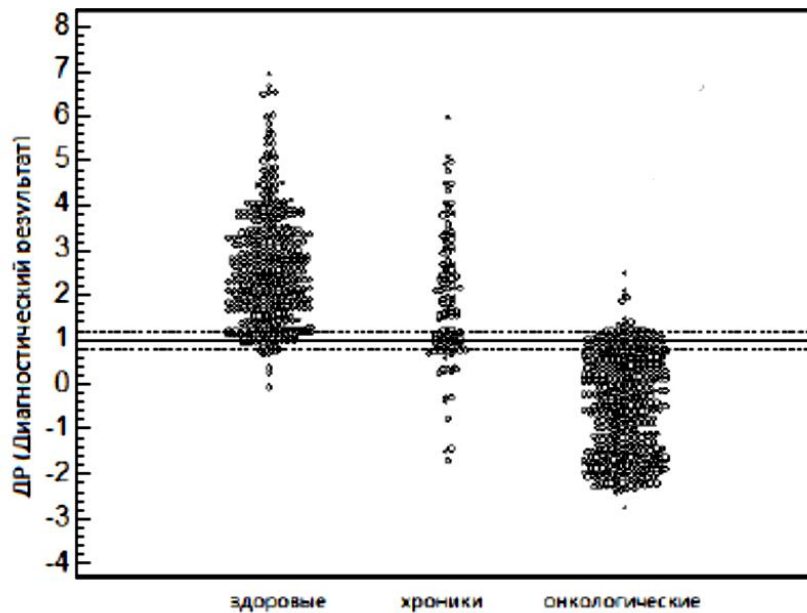
Чувствительность Специфичность Примечание

8)	2005-2006	Dr. Mann, Dr. Gelos / Augusta Krankenanstalten, Бохум	108	35	дивертикулит	90%	100%	Корректно идентифицированный рак прямой кишки: ЭПР тест = 91% / CEA = 46% / CA19-9 = 28% Корректно идентифицированный рак аденомы: ЭПР тест = 86% / CEA = 83% / CA19-9 = 96% Корректно идентифицированный дивертикулит: ЭПР тест = 91% / CEA = 92% / CA19-9 = 100%
				28	аденома			
				45	рак прямой кишки			
9)	2006-2008	Dr. Pilarsky, Dr.Grützmann / Технический университет Дрезден	134	63	поджелудочная железа	90%	100%	Корректно идентифицированный рак поджелудочной железы: 94% неизвестный промежуток времени между терапией / хирургическим вмешательством и отбором крови
				20	прочее			
				51	доброкачественные / воспалительные заболевания			
10)	2008-2010	Доктор Трофименко, Доктор Маландин / ФМБЦ, Москва	222	115	раковые	90%	100%	грудь, простата, почки, мочевого пузыря, легкие, желудочно-кишечные, гинекологические и др.
				107	контрольная группа			
11)	2010-2011	Доктор Кайдарова / Алматинский онкологический центр	150	75	раковые	90,6%	85,3%	Широкий спектр локализаций разных стадий
				75	контрольная группа			
12)	2011-2012	Доктор Меркулов/ Онкологический центр 83 клиники / Москва	27	16	раковые	94%	88%	Молочная железа, кишечник, простата
				11	контрольная группа			

Клинические исследования

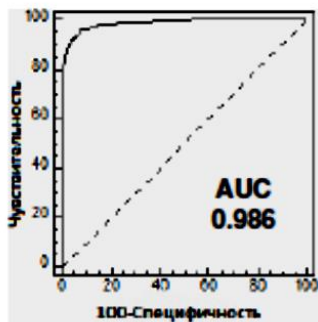
			Чувствительность	Специфичность	Примечание		
13)	2011-2012	Проект разработки теста ранней диагностики рака кишечника совместно с клиникой St.Elizabeth-Krankenhaus, Берлин	650	250	контрольная группа	95%	Раковые - здоровые
				200	рак кишечника	90%	Раковые – здоровые и доброкачественные опухоли
				100	доброкачественные заболевания	80%	Раковые – доброкачественные опухоли
				100	иные локализации	90%	Раковые – здоровые и доброкачественные опухоли, а также злокачественные опухоли иной локализации
14)	2010-	Dr. Hakån Olsson et al / Лунд, Университетская клиника Лунда, Швеция	400	200	контрольная группа		Цель: Возможно ли улучшить диагностические показатели неинвазивного метода измерения PSA путем комбинирования с MMS тестом?
				200	рак простаты		Результат: Комбинация PSA и MMS теста имеет улучшенные диагностические показатели
15)	2011-	Prof. N. Becker et al / DKFZ Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg, Германия	516		Ретроспективное исследование		Цель: возможна ли комбинация MMS теста с low-dose multislice-CT (MSCT) для целей ранней диагностики рака легкого

Онкология, хронические заболевания, здоровые

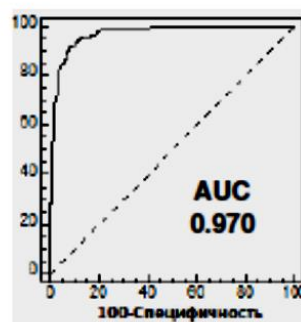


428 здоровых людей
479 онкологических больных
114 пациентов с
хроническими
заболеваниями различной
природы

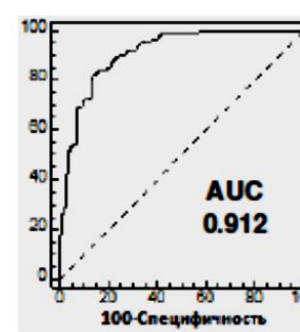
Раковые - здоровые



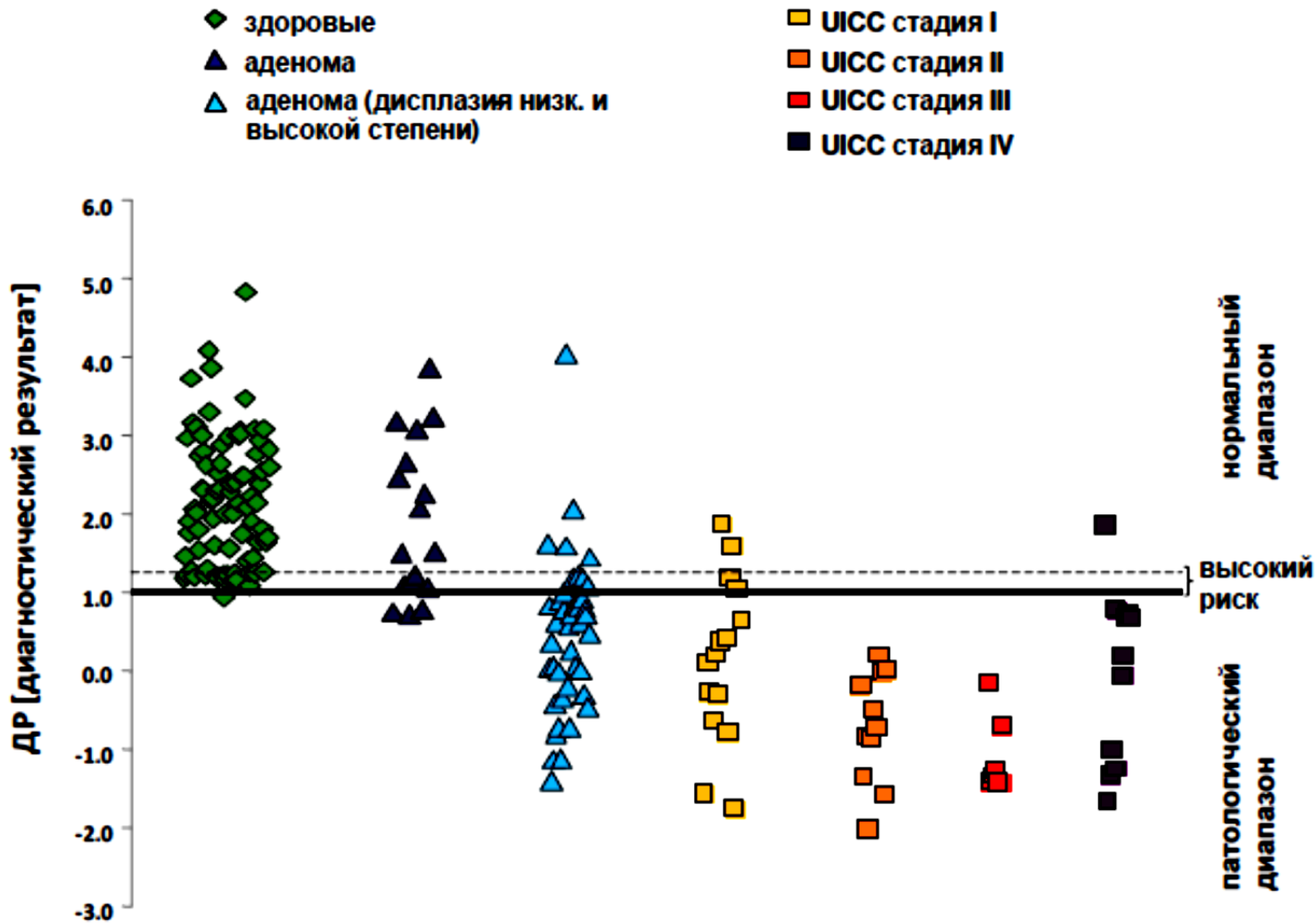
Раковые - здоровые + хроники



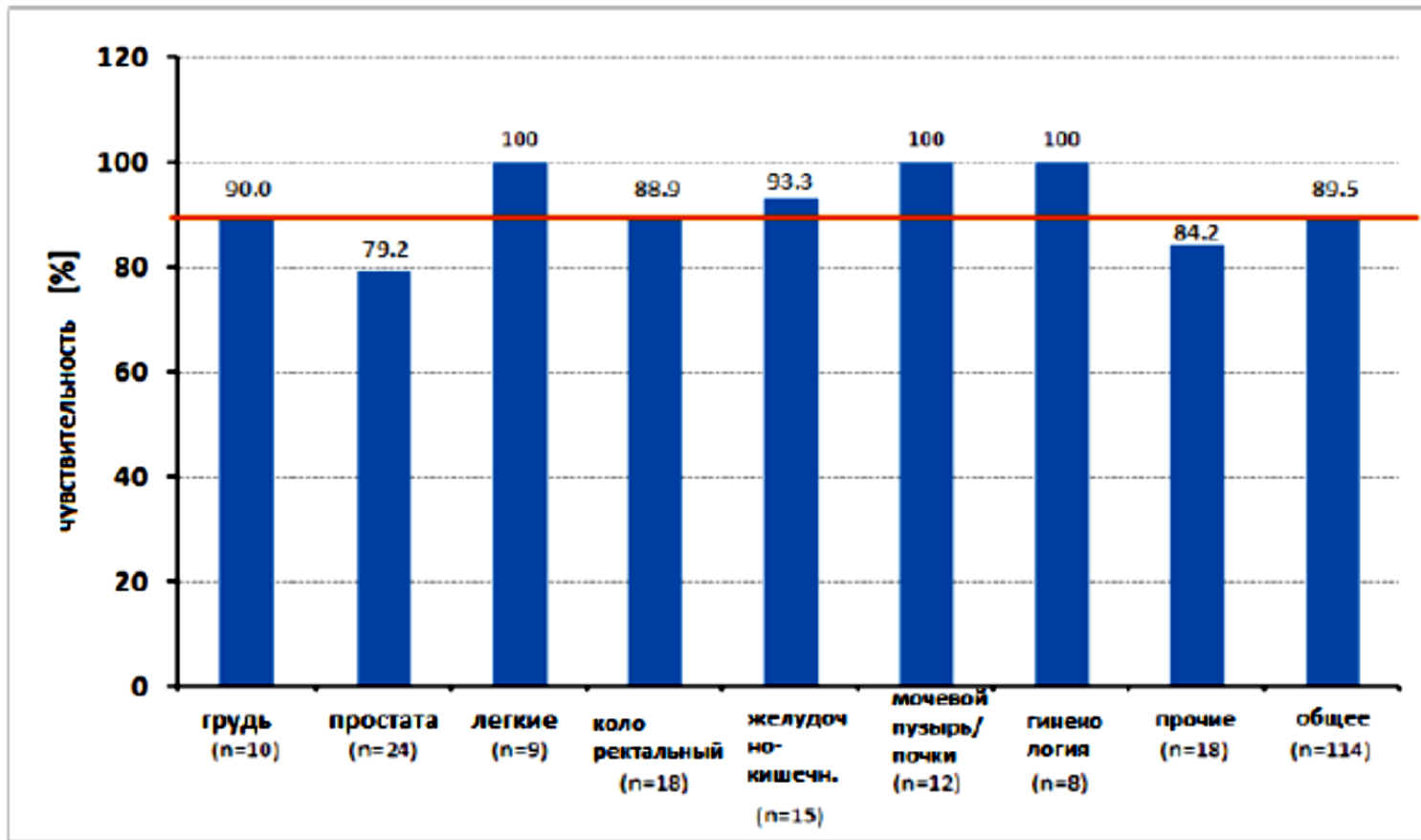
Раковые - хроники



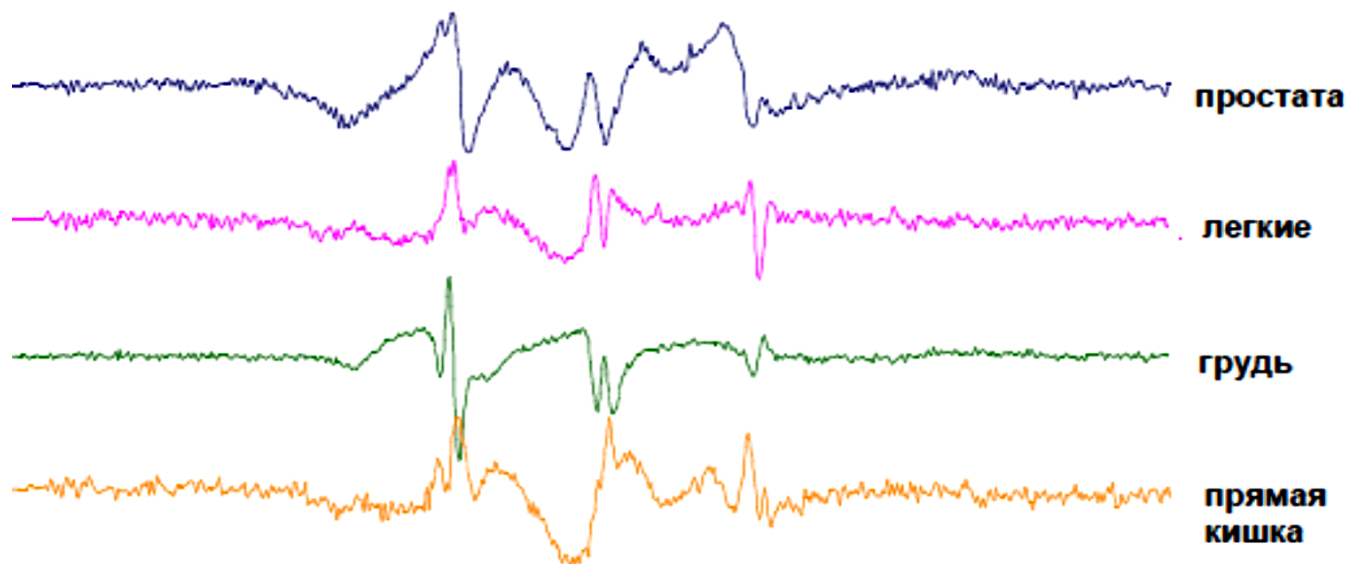
Рак толстого кишечника, аденома, здоровые



Чувствительность метода при опухолях различной локализации



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



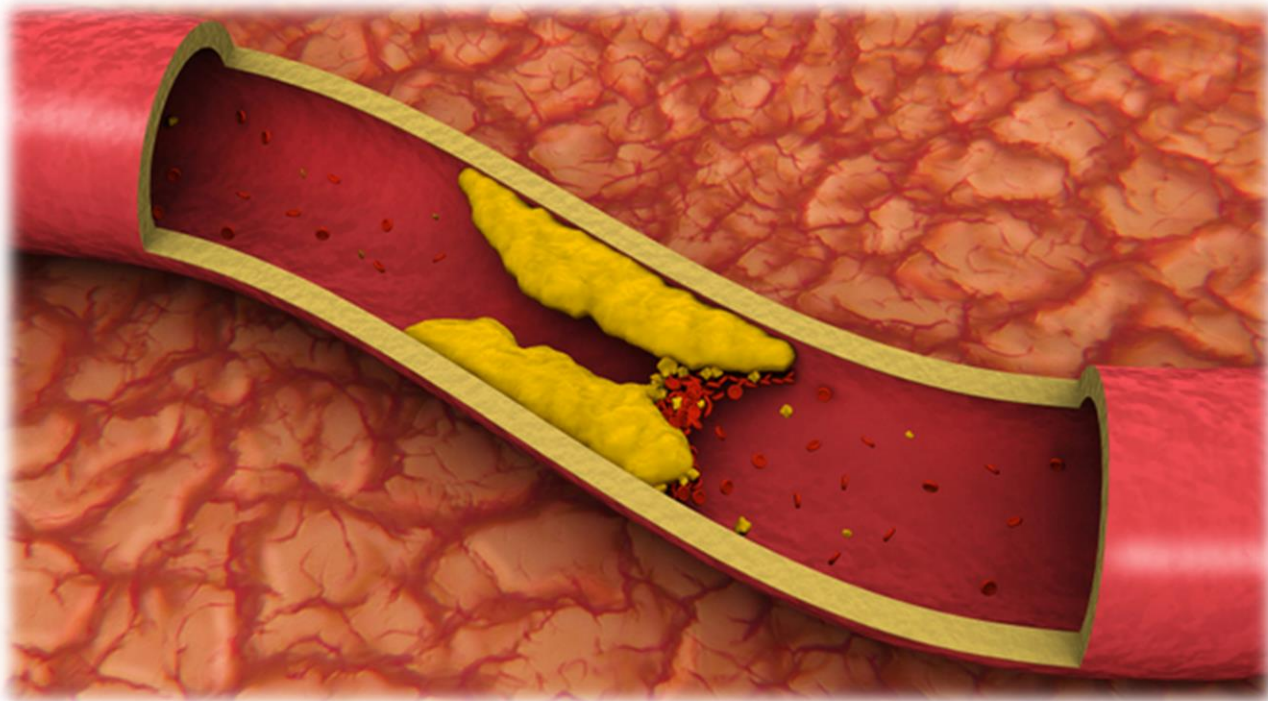
Изменение ЭПР-спектра

Перспективы....

Измерить атеросклероз?

Количественное определение:

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





СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!