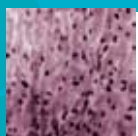


№ 2 (15)
ИЮНЬ
2012

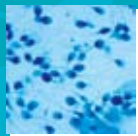
ВЕСТНИК

«ЛАБОРАТОРИИ ДНК-ДИАГНОСТИКИ»

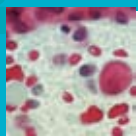
ТЕМЫ НОМЕРА:



**ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОЕ ИЗМЕРЕНИЕ
КАРДИАЛЬНЫХ ТРОПОНИНОВ: ТЕСТ,
КОТОРЫЙ СПАСАЕТ ЖИЗНИ**



**ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛОБУЛИНА,
СВЯЗЫВАЮЩЕГО ПОЛОВЫЕ ГОРМОНЫ**



**АНТИТЕЛА К ЦИКЛИЧЕСКОМУ
ЦИТРУЛЛИНОВОМУ ПЕПТИДУ:
НОВЫЙ МАРКЕР РЕВМАТОИДНОГО
АРТРИТА**

ВЕСТНИК

«ЛАБОРАТОРИИ ДНК-ДИАГНОСТИКИ»

ИЮНЬ, 2012, № 2 (15)

Содержание

Клиническая лекция. Высокочувствительное измерение кардиальных тропонинов: тест, который спасает жизни 3

Клиническая лекция. Диагностическое значение определения глобулина, связывающего половые гормоны 10

Антитела к циклическому цитрулиновому пептиду: новый высокоспецифичный маркер ревматоидного артрита обложка 3



Е. В. Селиванов, главный редактор, к. м. н., заместитель директора ООО Медицинский центр «Лаборатория ДНК-Диагностики» по лечебной работе

Уважаемые читатели!

Вот и пришла долгожданная летняя пора, и все мы настроились на летний отдых.

Этот выпуск журнала выходит специально ко Дню медицинского работника. Желаем в этот замечательный профессиональный праздник, прежде всего, здоровья, хорошего настроения, жизненных сил и успехов в профессиональной жизни. Надеемся, работа с нашей лабораторией принесит вам профессиональное удовлетворение и помогает в работе.

Редакция журнала всеми силами старается освещать новинки лабораторной диагностики, поддерживать интерес практикующих специалистов к новым методам и различным аспектам их применения. В этом номере мы публикуем две клинические лекции, подготовленные московскими специалистами.

Медицинский центр «Лаборатория ДНК-Диагностики» старается постоянно внедрять новые тесты в клиническую практику. Не стал исключением и этот квартал. Информацию по новинкам вы найдете на третьей странице обложки.

Еще раз желаем всем хорошего летнего настроения, и поздравляем с Днем медицинского работника!

Сеть медицинских центров

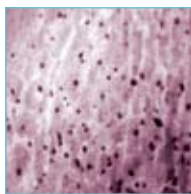


Вестник «Лаборатории ДНК-Диагностики» — корпоративное издание ООО Медицинский центр «Лаборатория ДНК-Диагностики».

Наш адрес: г. Барнаул, ул. А. Петрова, 247. **Тел./факс:** 3852 289060. **E-mail:** otvet@dnklab.com. **Web:** www.dnklab.ru.

Главный редактор: Е. В. Селиванов. **Технический редактор:** Е. Н. Звягинцев. **Печать и допечатная подготовка:** типография Printexpress, г. Барнаул, ул. Кирова, 47, тел./факс: 3852 363626.

Тираж: 800 экз.



ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОЕ ИЗМЕРЕНИЕ КАРДИАЛЬНЫХ ТРОПОНИНОВ: тест, который спасает жизни

Вельков В. В., директор по науке ЗАО «ДИАКОН», к.б.н.

Есть ли у тропонинов нормальные значения?

Чувствительность и специфичность диагностических наборов предполагает, что нормальный уровень анализа должен соответствовать таковому при 99-й процентили. 99-я процентиль — это уровень анализа, при котором 99 из 100 лиц здоровой популяции будут иметь отрицательный результат тестирования (только 1 из 100 может иметь ложноположительный результат).

Универсальное определение инфаркта миокарда (ИМ) устанавливает как один из его главных диагностических критериев «...повышение и/или снижение кардиальных тропонинов по крайней мере, выше одного значения уровня, характерного для 99-й процентили здоровой популяции» (1).

Однако, как известно, «обычные» тропониновые тесты из-за своей низкой чувствительности вообще не определяют тропонины у здоровых лиц, что и привело, как только недавно выяснилось, к распространенному заблуждению, что «в норме тропонинов нет» и что все здоровые лица — «тропонин-отрицательны». При этом упускалось из виду, что универсальное определение ИМ требовало измерения практически неизмеряемого значения — нормального уровня кардиальных тропонинов. Проблема была решена в конце «нулевых».

Высокочувствительные тропониновые тесты, hs-cTn, (hs, high sensitive — высокочувствительный) определяют очень

низкие концентрации тропонинов, начинающиеся от 1,0 нг/л (0,001 нг/мл), и находящиеся ниже значения, соответствующего 99-й процентили. Точность при этом также высокая — CV < 10%. В итоге, кардиальные тропонины стали обнаруживаться почти у всех здоровых людей (обзоры 2-5). Действительно, «тропонин-отрицательных» больше нет.

Многочисленные исследования показали, что:

- 1) *нормальные* уровни кардиальных тропонинов составляют 2-5 нг/л (0,002-0,005 нг/мл);
- 2) пограничный уровень, соответствующий 99-й процентили, для конкретного диагностического набора и его платформы зависит от производителя и имеет собственное значение. Так, пограничный уровень теста hs-cTnT Roche — 14 нг/л, а теста hs-cTnI PATHFAST Mitsubishi — 20 нг/л. Проблемы, связанные с трудностями стандартизации различных hs-cTn тестов и с невозможностью сравнения их результатов, будут рассмотрены ниже.
- 3) уровни hs-cTn должны интерпретироваться как **количественные** переменные, термины «тропонин-отрицательный» и «тропонин-положительный» следует избегать;
- 4) в общей популяции значения hs-cTn тестов, слегка превышающие пограничный уровень, выявляющие лиц с повышенным риском *структурных* заболеваний миокарда и

- риском смертности от всех причин;
- 5) короткий период ишемии, не связанный с явным ИМ, вызывает высвобождение в кровоток небольшого количества hs-cTn;
 - 6) при стабильных заболеваниях коронарных артерий повышенные уровни hs-cTn связаны с риском кардиоваскулярной смерти и сердечной недостаточности, но не с риском ИМ;
 - 7) у пациентов с симптомами острого коронарного синдрома (ОКС) hs-cTn — это ранний маркер ИМ, который, по сравнению с «обычными» cTn тестами, выявляет большее количество пациентов с диагнозом ИМ Б ST (ИМ без элевации ST сегмента) и является независимым предиктором неблагоприятных исходов;
 - 8) динамика уровней hs-cTn (повышение, постоянство, снижение концентрации в крови) дифференцирует острый некроз кардиомиоцитов от их хронического повреждения;
 - 9) с помощью серийного измерения hs-cTn диагноз ИМ можно исключить уже в первые часы после поступления;
 - 10) повышенные уровни hs-cTn могут быть связаны и с неишемическими причинами, которые следует устанавливать;
 - 11) вне зависимости от того, вызвано ли повышение hs-cTn ишемическими или другими причинами, во всех случаях повышенный hs-cTn — предиктор неблагоприятных исходов, включающих: повторные ОКС, фатальные и не фатальные ИМ, и смертность от всех причин (2-5).

Нормальные уровни тропонинов — откуда и почему?

Полагается, что в норме причины выхода тропонинов в кровоток могут быть таковы (5-7):

- 1) *маломасштабный некроз миоцитов.* Это наиболее распространенный процесс, который может вызываться ишемическим или воспалительным состоянием, прямой травмой и токсическими причинами, включая сепсис.
- 2) *апоптоз, или запрограммированная смерть клеток.* Апоптоз на фоне сохраненной целостности клеточных мембран связан с активацией каспаз, вызывающих деградацию структурных белков миокарда, что может приводить к высвобождению тропонинов в кровоток.
- 3) *нормальный метаболизм миоцитов.* В целом, на протяжении жизни обновлению подвергаются около 50% кардиомиоцитов. Пока неясно, связан ли процесс обновления миоцитов с высвобождением тропонинов в кровоток.
- 4) *высвобождение продуктов протеолитической деградации тропонинов из миоцитов.* Предполагается, что такой процесс может происходить без гибели миоцитов и без нарушения целостности клеточных мембран. В результате протеолиза образуются мелкие фрагменты тропонинов, которые проходят через неповрежденные клеточные мембраны.
- 5) *повышенная проницаемость клеточных стенок.* Обратимое повреждение мембран кардиомиоцитов при напряжении миокарда или при ишемии позволяет тропонинам цитозоля выходить в кровоток
- 6) *образование и высвобождение мембранных везикул.* Подобный механизм обнаружен при ишемии у клеток печени, когда большие молекулы могут выходить из внутриклеточного пространства во внеклеточное без некроза гепатоцитов (5-7).

Выход тропонинов в кровотока при ишемии, но без миоинекроза

О том, что кардиомаркеры могут выходить в кровотока и без некроза клеток, известно с 1971 г., когда в модельных экспериментах было обнаружено, что при повреждении сердечной ткани лактатдегидрогеназа может высвобождаться в кровотока и в отсутствие погибших клеток (8).

Аналогичные результаты были получены и с креатинкиназой (КК) и креатинкиназой МВ (КК МВ). Короткий период коронарной окклюзии, вызывающий кратковременную ишемию, недостаточную для того, чтобы вызвать повреждение миокарда, приводит к выходу этих ферментов в кровотока (9). Согласно ранним представлениям, повреждения миоцитов необратимы, их регенерация невозможна. И, как полагалось, если происходит выход в кровотока кардиомаркеров, свидетельствующих о необратимом повреждении, со временем эта прогрессирующая необратимость обязательно приведет к усилению тяжести патологии. Опасения оказались напрасными. Кардиомиоциты способны к регенерации и к восстановлению функций поврежденного сердца (10).

Особо отметим, что выход тропонинов наблюдается при интенсивных физических нагрузках, после марафонских забегов и при стресс-тестах. Повышенные после марафонского забега тропонины приходят в норму через 72 ч (5, 11).

Как тропонины выходят в кровотока при ОКС?

Тропонин в миоцитах состоит из двух пулов — структурного, когда находится в миофибриллах, и цитозольного — когда находится в свободном от миофибрилл состоянии и в комплексе с другими тропонинами. Именно цитозольный пул и выходит в кровотока при раннем развитии повреждений миокарда. hs-cTn тесты фиксируют именно этот ранний выход цитозольных тропонинов

в кровотока и отражают динамику этого процесса.

Следующий и относительно длительный выход тропонинов из разрушенных миофибрилл, из структурного пула, связан с более серьезными повреждениями миокарда, которые, чем тяжелее — тем более необратимы. «Постулировано, что выход тропонинов из структурного пула — это синоним клеточной смерти, а выход тропонинов из цитозольного пула может быть связан как обратимыми, так и с необратимыми повреждениями» (6).

Циркулирующие тропонины — анализ «с тысячько лиц».

Многолетние исследования показывают, что при ОИМ cTnI циркулирует в кровотока: а) как свободный cTnI, б) как бинарный комплекс cTnI-cTnС и в) как тройной комплекс cTnI-cTnС-cTnТ. Более того, в крови присутствуют продукты: з) N-терминальной деградации cTnI, а также д) фосфорилированные и ж) окисленные производные как свободного cTnI, так и его и) двойных и к) тройных комплексов. При этом у разных пациентов соотношения концентраций всех этих форм cTnI и его комплексов индивидуальное. И, похоже, при развитии ОИМ, соотношение концентраций этих форм может меняться (12-15).

Количественное определение тропонинов базируется на моноклональных антителах, узнающих различные эпитопы. Таких эпитопов может быть весьма много. Более того у разных пациентов они могут разными, а у одного и того же пациента соотношение этих эпитопов может меняться в течение развития ОКС и, не исключено, может быть различным при повторных ОКС. Кроме того, могут быть эпитопы, чья эффективность может зависеть от гепарина, от наличия гетерофильных антител, от связывания аутоантител (16-18).

Таким образом, «в лице тропонина» мы имеем анализ «с тысячько лиц», выражение которых может меняться

от пациента к пациенту и «от часа к часу» (13).

Такая эпитопная вариабельность и динамичность гетерогенной популяции циркулирующих тропонинов приводит к тому, что различные производители тропониновых тестов, чтобы улучшить их чувствительность, включают в тест все большее количество различных антител. В итоге, тесты различных производителей имеют: а) разные показатели чувствительности, б) разные значения 99-й перцентили, и в) разные значения диагностических уровней. Некоторые hs-cTnI тесты показывают, что нормальные уровни тропонина у мужчин и женщины — разные, другие такой разницы «не видят». Полагается, что «для диабетиков и для пожилых лиц должны быть отдельные пограничные уровни hs-cTn тестов, и более того, разные для тестов различных производителей» (19, 20).

В целом, *«все эти данные показывают, что сравнение абсолютных концентраций тропонинов, полученных с помощью тестов различных производителей, невозможно»* (20).

Но, может быть, возможна международная стандартизация hs-cTn тестов? Например, с помощью референтных материалов, утвержденных международным сообществом экспертов? На этот счет есть две точки зрения: сдержанно оптимистическая и реалистическая. Сдержанно оптимистической придерживается рабочая группа Международной федерации клинической химии (IFCC) по стандартизации кардиального тропонина I, считающая, что такая стандартизация возможна. Статья, опубликованная от имени этой группы, так и называется: «Отнеситесь к этому просто: стандартизация кардиального тропонина I сложна» (21). Реалистическая точка зрения приведена в статье, расположенной рядом: «Стандартизация определения кардиального тропонина I: при моей жизни этого не случится» (20).

Кроме причин, приведенных выше (гетерогенность и непостоянство популяции изоформ cTnI и его комплексов) приводятся данные и о том, что даже в тех случаях, когда производитель применяет тесты с идентичными антителами, но на разных платформах — то результаты измерений не совпадают (20).

Плата за высокую чувствительность

Плата за высокую чувствительность — компромисс между несомненной пользой выявления ИМ в самые первые часы и тем, что наблюдаемое повышение hs-cTn может быть вызвано не ИМ, а, например, неишемическим некрозом кардиомиоцитов, который, в свою очередь, может быть связан с большим количеством других патологий (22-28).

Уж не проще ли использовать традиционно высокие пограничные уровни тропонинов, имеющие большую специфичность по отношению к ОИМ? Однако такой подход, *«хотя и делает жизнь кардиологов легкой, но подвергает опасности жизнь пациентов с ранними ОИМ или с другими случаями некроза миоцитов, которые при традиционных пограничных уровнях cTn останутся незамеченными»* (29).

Серийные измерения hs-cTn повышают специфичность

Если повышенный при первом измерении уровень hs-cTn вызван: а) стабильными заболеваниями коронарных артерий; б) хронической сердечной недостаточностью; в) нестабильной стенокардией; г) неишемическими и другими некардиальными причинами, то при измерении через 3 ч уровни hs-cTn повышаться **не** должны (19).

Полагается, что при серийных измерениях последовательное повышение уровня hs-cTn (выше пограничного) *четко указывает на развитие ИМ*. Постоянно повышенный hs-cTn указывает на другие причины (19).

Множественно показано, что диагностические алгоритмы измерения дельты (разницы концентраций) hs-cTn улучшают диагностическую специфичность, но могут: а) снижать диагностическую чувствительность и б) увеличивать время, необходимое для подтверждения или исключения диагноза ИМ (30-32).

Например, при использовании hs-cTnI теста Vitros ES cTnI измерение через 6 ч повысило диагностическую специфичность с 77% до 91%, но понизило чувствительность с 94% до 75% (30). При использовании тестов hs-cTnT и hs-cTnI было показано, что абсолютные значения дельты (интервал измерений 2 ч) для hs-cTnT составляли 7 нг/л, а для hs cTnI — 20 нг/л и имели более высокую специфичность, чем относительные значения (32).

Аналогичные результаты, опубликованные в 2012 г., также свидетельствуют о том, что абсолютные значения дельты теста Roche hs-cTnT лучше относительных. Абсолютная дельта, составлявшая 9,2 нг/л (интервал 6 ч), дискриминировала ОКС от не-ОКС со специфичностью 90%, а относительная со специфичностью 75% (33). Поэтому полагается, что относительное значение дельты, составляющее 20% и рекомендованное американской Национальной академией клинической биохимии (22), не является столь же эффективным, как абсолютные значения дельты, оптимизированные для конкретных hs-cTn тестов конкретных производителей (34).

В целом, «... как для лабораторий, так и для клиницистов критичным является следующее положение: конкретные абсолютные значения дельты, полученные с помощью теста Roche hs-cTnT нельзя прямым образом использовать в лаборатории, которая измеряет hs-cTn с помощью другого теста, как при использовании платформы того же самого производителя, так и другого. Важно знать, что каждый конкретный hs-cTn тест нуждается в специальном определении именно его абсолютных и относитель-

ных значений дельты» (34). Считается, что для каждого теста абсолютные и/или относительные значения дельты должны быть определены в интервалах 0-3 ч, 3-6 ч и 0-6 ч. Это должно сократить время, необходимое для исключения ОИМ с 6 ч до 3 (34).

В целом, алгоритм серийных измерений hs-cTn «существенно смягчает главную озабоченность клиницистов, связанную с высокочувствительными тропонинами». (34).

Основная клиническая ценность hs-cTn тестов

В общем, клиническая ценность hs-cTn тестов включает их измерение: а) для выявления в общей популяции лиц с субклиническими сердечно-сосудистыми заболеваниями, б) для оценки неблагоприятных исходов при стабильных заболеваниях коронарных артерий, в) при поступлении пациентов с признаками ОКС (2-5). Риск летальности, связанный с повышенным hs-cTnT, присутствует на всем спектре тяжести ОКС, а также при состояниях, не связанных с кардиальными причинами (35). Учитывая, что повышенные уровни hs-cTn — предиктор неблагоприятных исходов при любых этиологиях, диагностическая ценность hs-cTn может включать и такие патологические состояния, как ХПН и ОПН, сепсис, легочная эмболия, контузии, химическая, тяжелые физические нагрузки (спортивная и военная медицина), и другие состояния, при которых повышаются уровни тропонина.

Главная клиническая ценность hs-cTn тестов — это значительное повышение эффективности диагностики при поступлении пациентов с клинической картиной, характерной для ОКС, при отсутствии признаков ИМ ST на ЭКГ и с cTnI > 100 нг/л (0,1 нг/мл).

Для пациентов с указанными характеристиками hs-cTn это **ранний маркер развития ИМ**, который, по сравнению со «стандартным тропониновым тестом», в

течение 3-6 ч: а) исключает диагноз ИМ с вероятностью 100%, б) устанавливает диагноз ИМ Б ST с вероятностью 95% и, в целом, в) выявляет большее количество пациентов с ИМ Б ST, чем обычные сTn тесты (2-5, 36, 37).

«Внедрение hs-cTn для триажа пациентов с подозреваемым ОКС улучшит раннюю диагностику ИМ Б ST и, в конечном счете, повысит количество диагнозов ИМ Б ST и снизит количество диагнозов нестабильной стенокардии» (35).

Список литературы

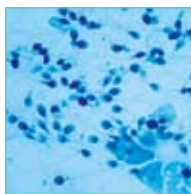
1. Thygesen K, Alpert JS, White HD, on behalf of the Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myocardial infarction. Eur Heart J 2007;28:2525-38; Circulation 2007;116: 2634-53; J Am Coll Cardiol 2007;50:2173-95.
2. Christenson RH, Phillips D. Sensitive and high sensitivity next generation cardiac troponin assays: more than just a name. Pathology. 2011;43(3):213-9.
3. Collinson PO. Sensitive troponin assays. J Clin Pathol. 2011;64(10):845-9
4. Baker JO, Reinhold J, Redwood S et al. Troponins: redefining their limits. Heart. 2011;97(6):447-52.
5. Вельков В.В. Революция в кардиологии — высокочувствительное измерение кардиальных тропонинов: «тропонин-отрицательных» больше нет. Клинико-лабораторный консилиум. 2012, в печати. Электронная версия: <http://www.diakonlab.ru/files/Docs/SciArticles/Troponin-2011.pdf>
6. Jaffe AS, Wu AHB Troponin Release—Reversible or Irreversible Injury? Should We Care? Clinical Chemistry 58:1148-150 (2012)
7. Hickman PE, Potter JM, Aroney C, Koerbin G, Southcott E, Wu AH, et al. Cardiac troponin may be released by ischemia alone, without necrosis. Clin Chim Acta 2010;411:318-23.
8. Doty DH, Bloor CM, Sobel BE. Altered tissue lactic dehydrogenase activity after exercise in the rat. Am J Physiol 1971;30:548 — 51.
9. Heyndrickx GR, Millard RW, McRitchie RJ, Maroko PR, Vatner SF. Regional myocardial functional and electrophysiological altera-

В целом, «переход от «обычных» тропониновых тестов на высокочувствительные приводит к реклассификации значительного процента пациентов, имевших при поступлении признаки ОКС и первичный диагноз нестабильная стенокардия, в диагноз ИМ Б ST. А это, при проведении адекватных мероприятий, снижает количество повторных ИМ в 2,6 раза, а летальность — в 1,9 раза (наблюдение 1 год)» (26).

- tions after brief coronary artery occlusion in conscious dogs. J Clin Invest 1975; 56:978-85.
10. Anversa P, Leri A, Kajstura J. Cardiac regeneration. J Am Coll Cardiol 2006;47:1769 - 76.
11. Scherr J, Braun S, Schuster T, Hartmann C, Moehlenkamp S, Wolfarth B, et al. 72-h kinetics of high-sensitivity troponin T and inflammatory markers after marathon. Med Sci Sports Exerc 2011;43:1819 -27
12. Katrukha AG, Bereznikova AV, Esakova TV, Pettersson K, Lovgren T, Severina ME, et al. Troponin I is released in bloodstream of patients with acute myocardial infarction not in free form but as complex. Clin Chem 1997;43: 1379-85.
13. Labugger R, Organ L, Collier C, et al. Extensive troponin I and T modification detected in serum from patients with acute myocardial infarction. Circulation. 2000;102(11):1221-6.
14. McDonough JL, Van Eyk JE. Developing the next generation of cardiac markers: disease-induced modifications of troponin I. Prog Cardiovasc Dis. 2004;47(3):207-16.
15. Gaze DC, Collinson PO. Multiple molecular forms of circulating cardiac troponin: analytical and clinical significance. Ann Clin Biochem. 2008;45(Pt 4):349-55
16. Stiegler H, Fischer Y, Vazquez-Jimenez JF, Graf J, Filzmaier K, Fausten B, et al. Lower cardiac troponin T and I results in heparin-plasma than in serum. Clin Chem 2000;46:1338-44
17. Kim WJ, Laterza OF, Hock KG, Pierson-Perry JF, Kaminski DM, Mesguich M, et al. Performance of a revised cardiac troponin method that minimizes interferences from heterophilic antibodies. Clin Chem 2002;48:1028 -34.

18. Eriksson S, Halenius H, Pulkki K, Hellman J, Pettersson K. Negative interference in cardiac troponin I immunoassays by circulating troponin autoantibodies. *Clin Chem* 2005;51:839-47.
19. Katus H A, Giannitsis E, Jaffe AS. Interpreting Changes in Troponin—Clinical Judgment Is Essential. *Clinical Chemistry* 58:1 39-44 (2012)
20. Apple FS. Standardization of Cardiac Troponin I Assays Will Not Occur in My Lifetime. *Clinical Chemistry* 58:1 169-171 (2012)
21. Christenson RH, Bunk DM, Schimmel H, Tate JR; on behalf of the IFCC Point: Put Simply, Standardization of Cardiac Troponin I Is Complicated. Working Group on Standardization of Troponin I. *Clin Chem*. 2012 ;58(1):165-168.
22. Morrow DA, Cannon CP, Jesse RL, Newby LK, Ravkilde J, Storrow AB, et al. National Academy of Clinical Biochemistry practice guidelines: clinical characteristics and utilization of biomarkers in acute coronary syndromes. *Clin Chem* 2007;53:552-74.
23. Kelley W.E., Januzzi J.L., Christenson R.H. Increases of cardiac troponin in conditions other than acute coronary syndrome and heart failure // *Clin. Chem.* 2009; 55(12): 2098-2112.
24. Venge P, Johnston N, Lindahl B, James S. Normal plasma levels of cardiac troponin I measured by the high-sensitivity cardiac troponin I Access prototype assay and the impact on the diagnosis of myocardial ischemia. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:1165-72.
25. Sabatine MS, Morrow DA, de Lemos JA, Jarolim P, Braunwald E. Detection of acute changes in circulating troponin in the setting of transient stress test-induced myocardial ischemia using an ultrasensitive assay: results from TIMI 35. *Eur Heart J* 2009;30:162-9.
26. Mills NL, Churchhouse AM, Lee KK, Anand A, Gamble D, Shah AS, et al. Implementation of a sensitive troponin I assay and risk of recurrent myocardial infarction and death in patients with suspected acute coronary syndrome. *JAMA* 2011;305:1210-6.
27. Agewall S, Giannitsis E, Jernberg T, Katus H. Troponin elevation in coronary vs. non-coronary disease. *Eur Heart J* 2011;32:404-11.
28. McFalls EO, Larsen G, Johnson G, Apple FS, Goldman S, Arai A, et al. Long-term outcomes of hospitalized patients with a non-acute syndrome diagnosis and an elevated cardiac troponin level. *Am J Med* 2011;124: 630-5.
29. Twerenbold R., Reichlin T., Reiter M. et al. High-sensitive cardiac troponin: friend or foe? // *Swiss. Med. Wkly.* 2011; 141: E1-E5.
30. Apple FS, Pearce LA, Smith SW, Kaczmarek JM, Murakami MM. Role of monitoring changes in sensitive cardiac troponin I assay results for early diagnosis of myocardial infarction and prediction of risk of adverse events. *Clin Chem* 2009;55:930-7.
31. Kavsak PA, Ko DT, Wang X, Macrae AR, Jaffe AS. Increasing cardiac troponin changes measured by a research high-sensitivity troponin I assay. Absolute vs percentages changes and long-term outcomes in a chest pain cohort. *Clin Chem* 2010;56:1902-4.
32. Reichlin T, Irfan A, Twerenbold R, Reiter M, Hochholzer W, Burkhalter H, et al. Utility of absolute and relative changes in cardiac troponin concentrations in the early diagnosis of acute myocardial infarction. *Circulation* 2011;124: 136-45.
33. Mueller M, Biener M, Vafaie M, Doerr S, Keller T, Blankenberg S, et al. Absolute and relative kinetic changes of high-sensitivity cardiac troponin T in acute coronary syndrome and in patients with increased troponin in the absence of acute coronary syndrome. *Clin Chem* 2012;58:209-18.
34. Apple FS, Morrow DA. Delta Cardiac Troponin Values in Practice: Are We Ready to Move Absolutely Forward to Clinical Routine? *Clinical Chemistry* 58:1 8-10 (2012)
35. Celik S, Giannitsis E, Wollert KC et al. Cardiac troponin T concentrations above the 99th percentile value as measured by a new high-sensitivity assay predict long-term prognosis in patients with acute coronary syndromes undergoing routine early invasive strategy. *Clin Res Cardiol.* 2011 100(12):1077-85.
36. Keller T, Zeller T, Peetz D, Tzikas S, Roth A, Czyz E, et al. Sensitive troponin I assay in early diagnosis of acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2009;361:868 -77.
37. Reichlin T, Hochholzer W, Bassetti S, Steuer S, Stelzig C, Hartwiger S, et al. Early diagnosis of myocardial infarction with sensitive cardiac troponin assays. *N Engl J Med* 2009; 361:858-67.

С автором можно связаться по адресу: 142290, Московская обл., г. Пущино, ул. Грузовая, 1а



ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛОБУЛИНА, СВЯЗЫВАЮЩЕГО ПОЛОВЫЕ ГОРМОНЫ

Ивашкина С. Г., к. м. н., руководитель подразделения специалистов по продукции отдела аналитических систем ООО «ОМБ»

В настоящее время накоплено достаточно данных о том, что транспортные белки депонируют стероидные гормоны и модулируют колебания их концентрации в крови. Транспортные белки во многом определяют динамическое равновесие, существующее между связанной и свободной фракциями стероидов, вследствие чего меняется количество гормонов, обладающих биологической активностью. На процесс поддержания этого равновесия оказывают влияние множество факторов, в т. ч. концентрация транспортных белков, их аффинность к транспортируемым стероидным гормонам, концентрация стероидных гормонов и других стероидов, конкурирующих за связывающие центры транспортных белков [13].

Депонирование и транспорт половых гормонов, в частности тестостерона (Тс) и эстрадиола, осуществляется при участии глобулина, связывающего половые гормоны (ГСПГ) [14]. Другой транспортный белок — транскортин — осуществляет транспорт таких стероидных гормонов, как прогестерон и кортизол [18]. ГСПГ связывает Тс более интенсивно, чем эстрадиол, поэтому при изменении концентрации ГСПГ содержание свободного Тс меняется в большей степени, чем эстрадиола.

ГСПГ представляет собой гликозилированный гетеродимер с молекулярной массой 80–100 кДа, по электрофоретической подвижности — бета-глобулин [8]. Молекула белка специфически связывает Тс с относительно высоким средством и

ограниченной емкостью. ГСПГ синтезируется главным образом в печени, период полураспада составляет 7 дней [17].

Исследование уровня Тс в настоящее время является одним из обязательных тестов при дифференциальной диагностике различных форм гипогонадизма у мальчиков и мужчин, а также в алгоритме комплексной диагностики гиперандрогении у женщин и синдрома преждевременного полового развития у мальчиков. В настоящее время известно, что общий Тс представляет собой комплекс трех фракций: связанного с альбумином (25–65%), свободного (1–2%) и связанного с транспортными белками (35–75%). Концентрация общего Тс, определение которого проводят в большинстве клинических лабораторий, не всегда адекватно отражает истинный уровень биологически активного Тс.

Для выполнения биологической функции необходимо связывание Тс с рецепторами андрогенов в тканях-мишенях. Образовавшийся в результате комплекс Тс–рецептор является ключевым для осуществления андрогенного действия гормона. Способностью к связыванию обладают свободный Тс и Тс, нестабильно связанный с альбумином. Свободная и связанная с альбумином фракции Тс в совокупности рассматриваются как биологически активный Тс.

Прочное связывание Тс с ГСПГ препятствует проникновению гормона из плазмы в клетку, эта фракция Тс не является биологически активной. Таким

образом, концентрация ГСПГ оказывает существенное влияние на биологическую активность Тс, поэтому результаты исследования общего Тс при отсутствии данных о концентрации ГСПГ сложно поддаются интерпретации [8].

Концентрация ГСПГ у детей обоего пола резко возрастает сразу после рождения и постепенно снижается, оставаясь сходной у мальчиков и девочек до периода полового созревания. Впоследствии уровень ГСПГ у мужчин ниже, чем у женщин [2]. По данным исследования Massachusetts Male Aging Study, после 60 лет содержание ГСПГ у мужчин возрастает примерно на 1,2% в год, концентрация ГСПГ у мужчин в возрасте 80 лет почти в 2 раза выше, чем у 20-летних [6].

Интенсивность синтеза ГСПГ в печени зависит от концентрации половых гормонов: эстрогены увеличивают, а андрогены снижают его продукцию, содержание ГСПГ у женщин почти вдвое выше, чем у мужчин. Отмечена корреляция между содержанием ГСПГ и концентрацией эстрадиола, увеличение концентрации ГСПГ способствует росту соотношения эстрадиол/Тс [1].

В регуляции синтеза и секреции ГСПГ принимают участие инсулин, соматотропный гормон, инсулиноподобный фактор роста I (соматомедин С) [3]. Рядом исследователей показана взаимосвязь низких уровней свободного Тс и ГСПГ у мужчин с диабетом 2 типа, висцеральным ожирением, инсулинорезистентностью или гиперинсулинемией, дислипидемией [9, 15]. Согласно полученным данным, низкое содержание общего Тс и ГСПГ позволяет прогнозировать у мужчин средней возрастной категории развитие метаболического синдрома, диабета [9–12, 19] и сердечно-сосудистых заболеваний [11]. Отмечена отрицательная корреляция между уровнем ГСПГ и концентрацией инсулина [7]. По мнению ряда авторов, это является результатом воздействия на печень пациентов с инсулинорезистентностью высоких concentra-

ций инсулина, оказывающего влияние на снижение выработки ГСПГ в печени [16]. При изменении массы тела концентрация ГСПГ меняется: его уровень снижен у пациентов с ожирением. Таким образом, хотя при выраженном ожирении уровень общего Тс обычно также снижен, концентрации свободного и связанного с альбумином Тс, обладающих биологической активностью, могут быть нормальными. В настоящее время имеются данные о возможном сокращении выработки ГСПГ в гепатоцитах в ответ на различные нарушения метаболизма, наблюдаемые у лиц с избыточной массой тела [16].

Снижение ГСПГ у женщин на фоне нормального или несколько повышенного содержания общего Тс может приводить к развитию гирсутизма, аменореи, бесплодия, акне, вирилизма [5]. У пациенток с поликистозом яичников на фоне гиперинсулинемии и инсулинорезистентности высокий уровень андрогенов часто взаимосвязан с низкой концентрацией ГСПГ [4].

Уровень ГСПГ в сыворотке крови повышен при циррозе печени [5]. При алкогольном циррозе печени у мужчин содержание общего Тс в сыворотке остается близким к норме за счет высокого содержания ГСПГ. При этом в организме пациентов отмечают серьезные изменения метаболизма андрогенов: снижение синтеза и секреции Тс вследствие прямого токсического действия алкоголя, нарушение катаболизма андростендиона, при котором гормон не выводится из организма в виде 17-кетостероидов, а превращается в эстрогены. Падение уровня Тс и повышение эстрогенов стимулирует синтез ГСПГ. В результате количество биологически активного Тс (т. е. свободного и связанного с альбумином) снижается, вследствие дефицита биологически активного Тс у больных развивается гинекомастия и в ряде случаев атрофия яичек.

Исследование уровней ГСПГ и Тс целесообразно рекомендовать у взрос-

лых мужчин для определения причин бесплодия, снижения полового влечения и диагностики эректильной дисфункции, особенно если результаты определения концентрации общего Тс не соответствуют клинической картине. Определение ГСПГ имеет существенное значение при диагностике гипогонадизма. Если концентрация общего Тс снижена, а уровень ГСПГ нормальный, диагноз гипогонадизма считают подтвержденным и переходят к выяснению причины патологии. При наличии клинических проявлений гипогонадизма, но нормальной концентрации общего или свободного Тс, можно предполагать наличие резистентности к андрогенам. При снижении содержания общего Тс на фоне отсутствия клинических проявлений гипогонадизма, вероятно наличие врожденного или приобретенного дефицита ГСПГ [5].

В настоящее время исследование концентрации ГСПГ стало доступным для большинства лабораторий. Представлены тест-системы для выполнения этого исследования как ручными методами, так и при использовании современных автоматических анализаторов высокой производительности. Определение ГСПГ наиболее востребовано, когда результаты определения общего Тс не соответствуют клинической картине, например, наличие снижения потенции у мужчин или гирсутизма у женщин.

При нормальных концентрациях у пациента ГСПГ и альбумина можно использовать приблизительную процентную оценку фракций Тс в сыворотке (см. выше).

Разработаны тест-системы и для прямого определения содержания свободного Тс на основе иммуноферментного анализа (ИФА). Однако полученные при их использовании результаты не всегда адекватно отражают истинное содержание свободного Тс в сыворотке крови пациента и нередко не соответствуют клинической картине. Возможно, его прямое определение с применени-

ем части представленных тест-систем — на основе ИФА осложняется наличием матричного эффекта [20]. Поэтому результаты, получаемые с использованием прямых безэкстракционных методов определения свободного Тс, следует все же трактовать с осторожностью.

Вместо проведения прямого исследования свободного Тс возможно использование расчетных концентраций свободного и биологически активного Тс, полученных на основании имеющихся концентраций общего Тс и ГСПГ как у здоровых лиц, так и при широком спектре патологических состояний [20].

Оценку этих фракций можно проводить с использованием расчетных индексов, вычисляемых по соотношению основных гормонов в сыворотке крови. Например, индекс свободных андрогенов (ИСА, Free androgen index, FAI), вычисляемый как отношение концентрации общего Тс к концентрации ГСПГ, выраженное в процентах ($\text{ИСА} = \frac{\text{общий Тс}}{\text{ГСПГ}}$), коррелирует с содержанием биологически доступного, свободного Тс и широко применяется в практике в качестве информативного маркера андрогенного статуса [21].

Предложен специальный калькулятор для расчета свободного, биологически активного Тс и ИСА, разработанный доктором A. Vermeulen с соавт. [20].

В основу расчетов заложены математически сформулированные закономерности зависимости концентрации свободного, биологически активного Тс и ИСА от концентрации общего Тс, ГСПГ и альбумина.

В сравнительных исследованиях, проведенных авторами с использованием прямых хроматографических (метод равновесного диализа меток) методов определения свободного Тс, показано, что полученные результаты совпадали со значениями концентрации свободного Тс, рассчитанными на основании содержания общего тестостерона, ГСПГ и альбумина, из-

меренного методом иммуноферментного анализа.

В настоящее время некоторые фирмы адаптировали использование калькулятора A. Vermeulen для расчета содержания свободного и биологически активного Тс для результатов, полученных с помощью производимых ими аналитических систем и реагентов. По результатам исследований обсуждаемых аналитов в контрольных группах, состоящих из лиц обоего пола, были определены референсные диапазоны расчетных значений свободного, биологически активного Тс и индекса свободных андрогенов для каждой группы обследуемых в зависимости от возраста и пола **для конкретных приборов и тест-систем.** Например, такой калькулятор для расчета концентрации свободного, биологически активного Тс и референсные интервалы для различных групп обследованных предоставляет пользователям своего оборудования компания Siemens Healthcare Diagnostics.

Таким образом, исследование ГСПГ позволяет проводить оценку количест-

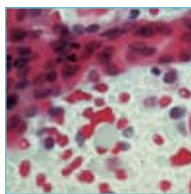
ва свободного, биологически активного Тс с использованием расчетных методов. Полученные результаты существенно улучшают возможности дифференциальной диагностики в случаях подозрения на различные формы гипогонадизма у мальчиков и мужчин, а также используются при комплексной диагностике гиперандрогении у женщин и синдрома преждевременного полового развития у мальчиков.

Представленные сведения свидетельствуют, что при ряде патологических состояний наряду с количественным определением общего содержания Тс в сыворотке крови необходимо определение концентрации ГСПГ. Количественное определение ГСПГ в сыворотке крови как пациентов с явными нарушениями андрогенного статуса, так и при ряде соматических заболеваний позволяет проводить более эффективную дифференциальную диагностику этих заболеваний, назначать соответствующую терапию, осуществлять мониторинг в процессе лечения и прогнозировать развитие и исходы заболевания.

Список литературы

1. Богданов А.Б., Велиев Е.И. Современные возможности терапии андрогенного дефицита у мужчин // Урология, гинекология, дерматовенерология. 2007. № 10. С. 42–47.
2. Тиц Н.У. Клиническое руководство по лабораторным тестам. Москва. 2003. С. 380–381.
3. Crave J.C., Lejeune H., Bréban C., Bare, C., Pugeat M. Differential effects of insulin and insulin-like growth factor-1 on the production of plasma steroid binding globulins by human hepatoblastoma-derived (Hep G2) cells // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1995. Vol. 80. P. 1283–1289.
4. Crave J.C., Fimbel S., Lejeune H., Cugnardey N., Pugeat M. Effects of diet and metformin administration on sex hormone-binding globulin, androgens and insulin in hirsute and obese women // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1995. Vol. 80. P. 2057–2062.
5. Cumming D.C., Wall S.R. Non-sex hormone-binding globulin-bound testosterone as a marker for hyperandrogenism // J. Clin. Endocrinol. 1985. Vol. 61(5). P. 873–876.
6. Feldman H.A., Goldstein I., Hatzichristou D.G. et al. Impotence and its medical and psychosocial correlates: results of the Massachusetts Male Aging Study // J Urol. 1994. Vol. 151. P. 54–61.
7. Haffner S.M., Katz M.S., Stern M.P., Dunn J.F. The relationship of sex hormones to hyperinsulinemia and hyperglycemia // Metabolism. 1988. Vol. 37. P. 683–688.
8. Kelly J.A., Vankrieken L. Sex hormone binding globulin and the assessment of androgen status. Los Angeles, CA: Diagnostic Products Corporation. 1997.
9. Laaksonen D.E., Niskanen L., Punnonen K. et al. Sex hormones, inflammation and the metabolic syndrome: a population-based study // Eur. J. Endocrinol. 2003. Vol. 149. P. 601–608.
10. Laaksonen D.E., Niskanen L., Punnonen K. et al. Testosterone and Sex Hormone-Binding Globulin Predict the Metabolic Syndrome and Diabetes in Middle-Aged Men Diabetes Care // American Diabetes Assoc-

- ciation, Inc. 2004. Vol. 27. P. 1036–1041.
11. Lapidus L., Lindstedt G., Lundberg P.A et al. Concentrations of sex-hormone binding globulin and corticosteroid binding globulin in serum in relation to cardiovascular risk factors and to 12-year incidence of cardiovascular disease and overall mortality in postmenopausal women // *Clin. Chem.* 1986. Vol. 32. P.146–152.
 12. Lindsted G., Lundberg P.A, Lapidus L. et al. Low sex hormone-binding globulin concentration as independent risk factor for development of NIDDM: 12-yr follow-up of population study of women in Gothenburg, Sweden // *Diabetes.* 1991. Vol. 40. P. 123–128.
 13. Manni A., Pardridge W.M., Cefalu W., Nisula B.C. Sex hormone binding globulin: origin, function and clinical significance // *Ann. Clin. Biochem.* 1990. Vol. 27. P. 532–41.
 14. Pétra P.H. The plasma sex steroid binding protein (SBP or SHBG). A critical review of recent developments on the structure, molecular biology and function // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 1991. Vol. 40. P. 735–753.
 15. Phillips G.B., Jing T., Heymsfield S.B. Relationships in men of sex hormones, insulin, adiposity, and risk factors for myocardial infarction // *Metabolism.* 2003. Vol. 52. P. 784–790.
 16. Pugeat M., Cousin P., Baret C., Lejeune H., Forest M.G. Sex hormone-binding globulin during puberty in normal and hyperandrogenic girls // *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 2000. Vol. 13. P. 1277–1279.
 17. Rosner W., Aden D.P., Khan M.S. Hormonal influences on the secretion of steroid-binding proteins by a human hepatoma-derived cell line // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1984. Vol. 59. P. 806–808.
 18. Sandberg A.A., Woodruff M., Rosenthal H. et al. Transcortin: A Corticosteroid-binding Protein of Plasma // *J. Clin Invest.* 1964. Vol. 43(3). P. 461–466.
 19. Tsai E.C., Boyko E.J., Leonetti D.L., Fujimoto W.Y. Low serum testosterone level as a predictor of increased visceral fat in Japanese-American men // *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 2000. Vol. 24. P. 485–491.
 20. Vermeulen A., Verdonck L., Kaufman J.M. A Critical Evaluation of Simple Methods for the Estimation of Free Testosterone in Serum // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* Printed in U.S.A. 1999. Vol. 10. P. 3666–3672.
 21. <http://www.labtestsonline.org/understanding/analytes/shbg/test.html>.



АНТИТЕЛА К ЦИКЛИЧЕСКОМУ ЦИТРУЛЛИНОВОМУ ПЕПТИДУ: новый высокоспецифичный маркер ревматоидного артрита

Селиванов Е. В., Звягинцев Е. Н.

Ревматоидный артрит (РА) представляет собой довольно большую клиническую проблему, как с точки зрения диагностики, так и лечения. РА поражает от 0,5 до 1% взрослого населения. РА — системное заболевание соединительной ткани с преимущественным поражением мелких суставов по типу эрозивно-деструктивного полиартрита неясной этиологии со сложным аутоиммунным патогенезом. Заболевание характеризуется высокой инвалидностью (70%), которая наступает довольно рано. Основными причинами смерти от заболевания являются инфекционные осложнения и почечная недостаточность.

До недавнего времени лабораторная диагностика РА базировалась лишь на выявлении в крови ревматоидного фактора (РФ) и высокого СОЭ. Однако РФ является неспецифическим показателем и может присутствовать в крови здоровых пожилых людей или пациентов с другими аутоиммунными и инфекционными заболеваниями. Ситуация изменилась с 1998 года, когда впервые был описан новый тип антител, которые имеют высокую специфичность (95-98%) и чувствительность (80%) для ревматоидного артрита. Речь идёт об **антителах к циклическому цитруллиновому пептиду (АЦЦП)**.

Такое название пептид получил за содержащуюся в его составе аминокислоту цитруллин. Цитруллин — α-аминокислота, название которой происходит от латинского названия арбуза (*Citrullus*), из которого она впервые была выделена. Установлено, что цитруллин, который долгое время считали промежуточным продуктом щелочной деградации аргинина в орнитин, входит в состав белка клеточной сердцевинной волос млекопитающих и игл дикобраза. Откуда в организме берется такой пептид и как его нашли?

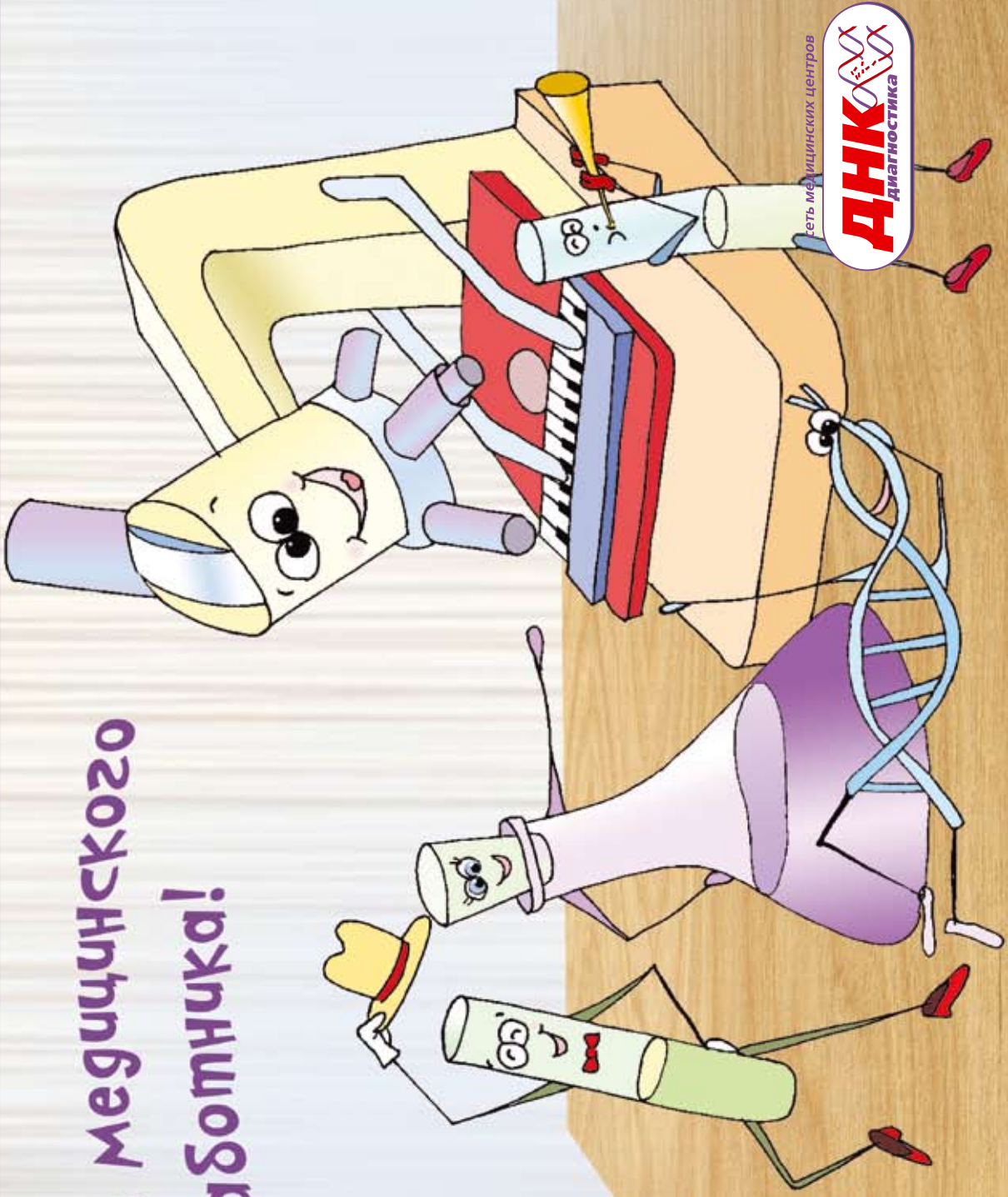
Дело в том что в научных исследованиях довольно давно было установлено, что ис-

пользование буккального эпителия или эпителия пищевода крысы позволяет выявлять в сыворотке больных РА специфические для этого заболевания антитела, но в широкую лабораторную практику тест не удавалось продвинуть из-за сложностей со стандартизацией антигена. Однако было выявлено, что такие антитела имеют сродство к кератину и филаггину.

Оказывается, эпидермальный белок филаггин, ассоциированный с промежуточными филаментами в процессе ороговения кератиноцитов эпидермиса, может дефосфорилироваться, и некоторые аргининовые остатки превращаются в цитруллин. Такой пептид и стали называть циклическим цитруллиновым пептидом, или, иногда, циклическим цитруллинированным пептидом (ЦЦП). Его получение и использование в тест-системе удалось стандартизировать. Было показано, что антитела, взаимодействующие с ЦЦП, присутствуют в 79% сывороток от больных РА со специфичностью для РА 97%. Антитела к ЦЦП (АЦЦП) обнаруживаются на очень ранней стадии РА, что позволяет его точно диагностировать и своевременно начать лечение. Кроме того, тест позволяет дифференцировать эрозивную и неэрозивную формы РА. У АЦЦП-положительных пациентов отмечается большая степень повреждения хряща, по сравнению с АЦЦП-отрицательными пациентами. Прогностическая ценность метода возрастает, если его используют в комбинации с ревматоидным фактором. Этот тест позволяет дифференцировать РА с другими заболеваниями суставов. В самом ближайшем будущем тест обещает стать ключевым серологическим диагностическим методом для пациентов с РА.

Начиная с мая 2012 г. наша лаборатория выполняет исследование АЦЦП на высококачественных диагностических системах. Ждем направления ваших пациентов.

с днем медицинского
работника!



сеть медицинских центров

ДНК
Диагностика