

Лабораторная диагностика нарушений обмена белков плазмы крови. (Преальбумин, С-РБ, Фибронектин, Фибриноген).

Выполнила студентка 3 курса 9 гр ЛПФ: Елизарова М.В.

* Преальбумин (Транстиретин)



* Транстиретин – белок, обеспечивающий транспорт тироксина и ретинола. Перенос тироксина и других гормонов щитовидной железы осуществляется также тироксинсвязывающим глобулином и альбумином. Транспорт ретинола происходит при соединении транстиретина с ретинол-связывающим белком. Транстиретин связан с такими заболеваниями, как старческий системный амилоидоз, семейная амилоидная полинейропатия, семейная амилоидная кардиомиопатия.

Транстиретин производится преимущественно в печени, сосудистом сплетении желудочков мозга и в пигментном эпителии сетчатки глаза. В цереброспинальной жидкости содержание транстиретина непропорционально велико, его масса составляет 25 % от массы всех белков этой полости тела. Подавляющая часть содержащегося в ЦНС транстиретина производится в мозге – из кровотока в полость желудочков мозга попадает лишь около 3 % содержащегося там транстиретина, в спинномозговой канал – около 10 %. Среди всех известных белков центральной нервной системы, только транстиретин вырабатывается исключительно в сосудистом сплетении. На ранних стадиях онтогенеза, пик синтеза транстиретина в ЦНС совпадает с периодом максимальной репликации нейробластов, непосредственно перед началом активной деятельности по построению новых областей мозга. У тех видов животных, в чьем мозге отсутствует неокортекс, например у амфибий и у рыб, транстиретин в сосудистом сплетении не производится.

* Роль в заболеваниях. Клиническое значение.



- * Обнаружено более 80 мутаций гена TTR, вызывающих заболевания. Большинство этих мутаций приводит к амилоидозу. Амилоидогенные мутации снижают стабильность белка.
- * В одном исследовании спинномозговой жидкости пациентов с шизофренией, не получающих терапию на момент взятия образца, отмечено снижение уровней транстиретина по сравнению со здоровыми людьми. Той же группой исследователей впоследствии отмечено некоторое снижение уровней белка у части лиц из «группы риска» шизофрении (демонстрирующих «продромные», предварительные симптомы расстройства).
- * Согласно одному исследованию 2009 года, полчасовое использование сотового телефона повышает уровень транстиретина в крови через полчаса после «разговора».
- * Преальбумин связывает и переносит низкомолекулярный ретинол-связывающий белок, предотвращая его клубочковую фильтрацию. Резкое снижение уровня преальбумина в сыворотке свидетельствует о снижении его синтеза в гепатоцитах в результате острого повреждения печени или вследствие недостаточного поступления белков с пищей. Быстрое снижение уровня преальбумина также наблюдается при воспалительных процессах.

* Определение преальбумина



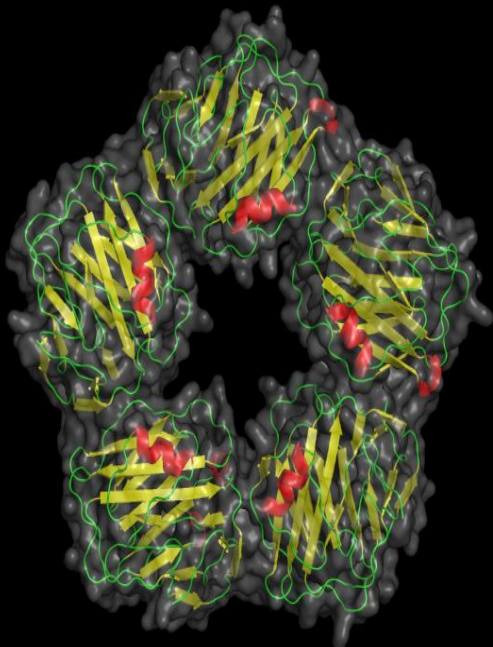
- * Определение преальбумина основано на специфическом взаимодействии между антителами к преальбумину поликлональной антисыворотки и соответствующим антигеном при оптимальном pH в присутствии ПЭГ. Мутность раствора, возникающая в результате образования комплекса, прямо пропорциональна концентрации преальбумина в пробе.

Характеристика набора для определения транстиретина:

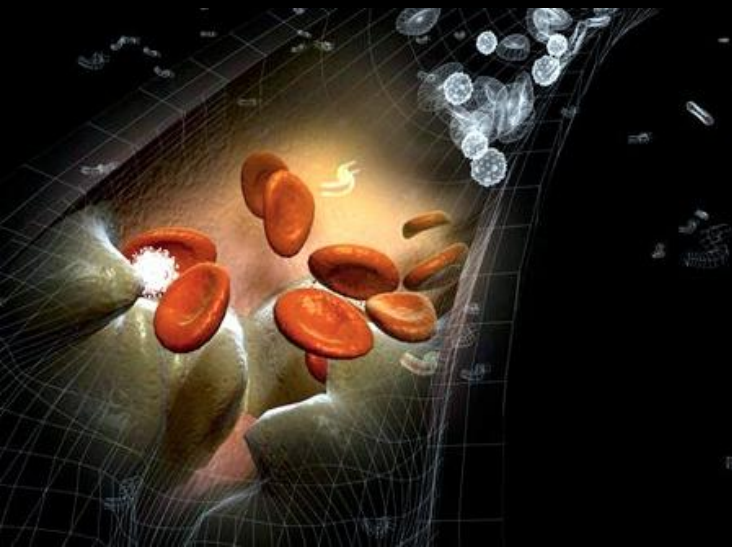
- * широкий ранг исследования 2.3 - 65mg/dl
- * коэффициент вариации внутрилабораторного контроля CV < 1.27%, и CV < 1.31% межлабораторного контроля
- * чувствительность 2.3mg/dl
- * жидкие готовые к использованию реагенты, стабильные при 20С...80С
- * коэффициент корреляции со стандартными методами $r=0.98$
- * лимитированная интерференция к гемоглобину, билирубину, интралипиду, триглицериду
- * прозона антигена при 240mg/dl
- * исследуемый материал сыворотка или плазма крови
- * набор содержит контроли трех уровней, калибратор

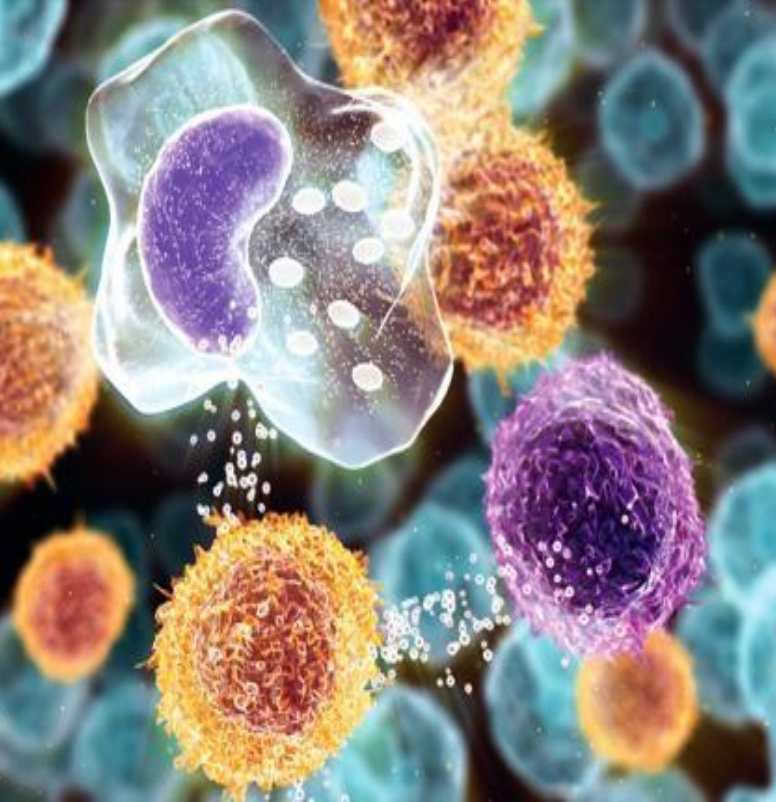


* С-реактивный белок



- * С-реактивный белок (англ. C-reactive protein, CRP) – белок плазмы крови, относящийся к группе белков острой фазы, концентрация которых повышается при воспалении. Играет защитную роль, связывая бактериальный полисахарид *Streptococcus pneumoniae*. С-реактивный белок используется в клинической диагностике наряду с СОЭ как индикатор воспаления.
- * Помимо того, что СРБ является белком острой фазы [воспаления], он также является одним из наиболее чувствительных маркеров острого воспаления; однако, в связи с низкой специфичностью и значительной его межиндивидуальной вариацией, необходимо с большой осторожностью подходить к интерпретации данных с учетом полученных ранее значений и уровня содержания в сыворотке других маркеров, а также с учетом полной оценки анамнеза пациента. Таким образом, хотя повышение уровня СРБ в сыворотке крови не является характерным признаком какого-либо определенного (т.е. конкретного) заболевания, он является важным индикатором воспалительного процесса. Повышенные концентрации СРБ отмечаются через 6-12 часов после начала воспалительной реакции и достигают максимальных значений в пределах 48-72 часов. СРБ имеет относительно короткий период полужизни (1-2 дня) и обычно возвращается к норме через 5-10 дней после начала воспаления (и его прекращения). Следует заметить, что определение СРБ является более надежным и чувствительным показателем воспалительного процесса, чем подсчет скорости оседания эритроцитов (СОЭ), на которую могут влиять и физиологические изменения, не связанные с воспалительным процессом. Основным стимулятором (или регулятором) его синтеза являются интерлейкин-6, фактор некроза опухоли, интерлейкин-1.





* Повышение уровня С-реактивного белка наблюдается при острых бактериальных и вирусных инфекциях, инфаркте миокарда, злокачественных новообразованиях и аутоиммунных заболеваниях. С-реактивный белок взаимодействуя с фосфорилхолином бактериальной стенки, выступает и как опсонин и как индуктор классического пути активации системы комплемента. CRP человека состоит из пяти идентичных, нековалентно связанных полипептидных цепей, образующих замкнутый пентамер. Важное свойство CRP - способность связываться при участии кальция с некоторыми микроорганизмами, у которых в состав мембраны входит фосфорилхолин. Образовавшийся комплекс активирует систему комплемента (по классическому пути). Это приводит к связыванию C3b с поверхностью микроба, и в результате последний опсонизируется, т.е. подготавливается к фагоцитозу. Уровень С-реактивного белка, который связывается с поврежденными и погибшими клетками, а также некоторыми микроорганизмами, может повышаться в 1000 раз.

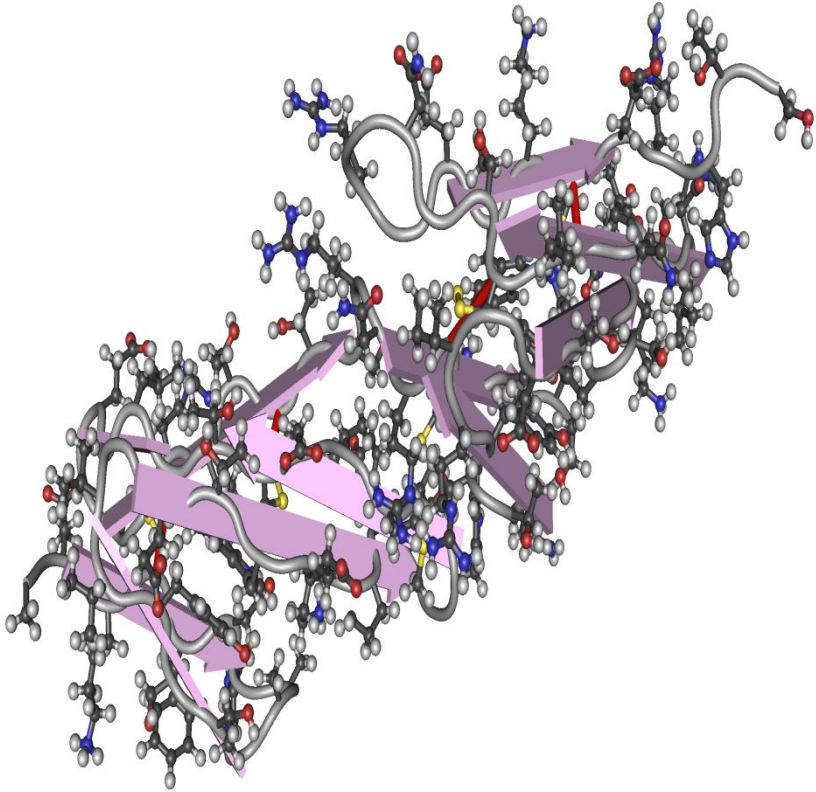
* Определение СРБ



Методы выявления.

- * С-реактивный белок определяют в реакции преципитации и в реакции агглютинации частиц латекса, покрытых антителами к этому белку.
- * Диагностическая значимость. В большинстве случаев чем выше СОЭ, тем выше уровень С-реактивного белка. Исключение составляют следующие случаи:
 - * - уровень С-реактивного белка быстро повышается даже после небольшого асептического повреждения тканей, СОЭ при этом остается нормальной;
 - * - СОЭ повышается, а уровень С-реактивного белка не меняется при некоторых вирусных инфекциях, тяжелой интоксикации, некоторых формах хронического артрита. В этих случаях уровень С-реактивного белка - менее информативный показатель, чем СОЭ.
- * Иногда уровень С-реактивного белка измеряют для оценки активности ревматизма. Поскольку уровень С-реактивного белка в течение суток может резко меняться, его следует определять в динамике.

* Фибронектин



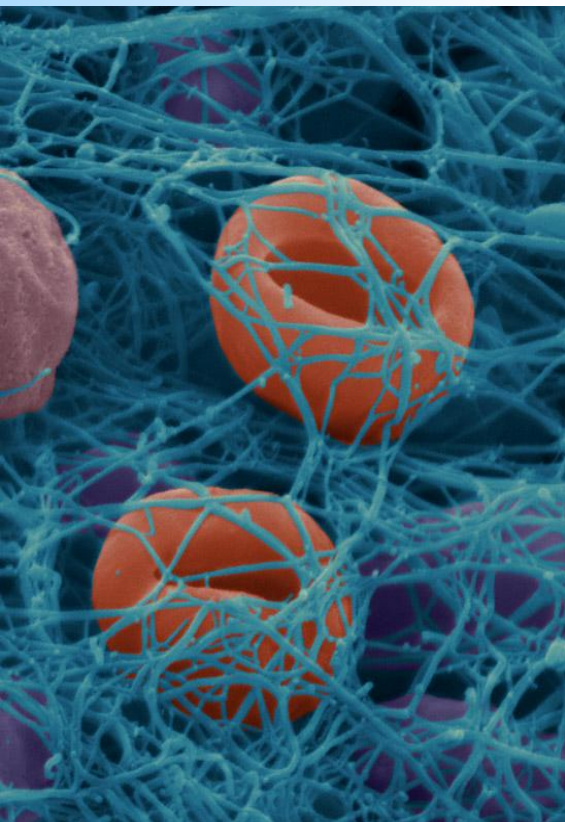
- * (fibronectin) - крупный, внеклеточный гликопротеин, участвующий в осуществлении защитных реакций организма. В плазме крови он усиливает фагоцитоз, а на поверхности клетки усиливает образование белковых связей. Кроме того, фибронектин участвует в агрегации тромбоцитов. Скапливается в соединительной ткани и эндотелии капилляров. (Фибронектин способствует адгезии между клеткой и основным веществом соединительной ткани)
- * Фибронектин участвует в осуществлении защитных реакций организма. В плазме крови он усиливает фагоцитоз, а на поверхности клетки усиливает образование белковых связей. Кроме того, фибронектин участвует в агрегации тромбоцитов. Скапливается в соединительной ткани и эндотелии капилляров. Фибронектин способствует адгезии между клеткой и основным веществом соединительной ткани.

* Определение фибронектина

* Для определения уровня плазменного ФН использовался метод твердофазного иммуноферментного анализа. Диагностика осуществлялась с помощью стандартных тест-систем, вакцин и сывороток. Наряду с изучением общего, иммунореактивного ФН, оценивалась его функциональная активность, путем определения степени осаждения этого гликопротеина в гепариновый преципитат.



* Фибриноген



* Фибриноген – бесцветный белок, растворённый в плазме крови. При активации системы свёртывания крови подвергается ферментативному расщеплению ферментом тромбином, образующийся фибрин-мономер под действием активного XIII фактора свёртывания крови полимеризуется и выпадает в осадок в виде белых нитей фибрина-полимера.

При взятии биоматериала для анализа фибриногена используется антикоагулянт цитрат натрия (3,8 %). Фибриноген – белок, вырабатываемый в печени и превращающийся в нерастворимый фибрин – основу сгустка при свёртывании крови. Фибрин впоследствии образует тромб, завершая процесс свёртывания крови.

Фибриноген является ценным показателем гемостаза (коагулограмма). Анализ фибриногена – необходимый этап предоперационного обследования, пренатальной диагностики, проводится при воспалительных, сердечно-сосудистых заболеваниях.

Также фибриноген отвечает за свёртывание крови.

Содержание фибриногена в крови повышается при возникновении острых воспалительных заболеваний и отмирания тканей. Фибриноген влияет и на скорость оседания эритроцитов (СОЭ).

Норма фибриногена: 2–4 г/л.

Норма фибриногена новорожденных: 1,25–3 г/л.

Нормы фибриногена при беременности несколько выше. В этот период наблюдается постепенное повышение фибриногена и в III триместре беременности уровень фибриногена достигает 6 г/л.

В других случаях повышенный фибриноген в крови человека – симптом следующих заболеваний: острые воспалительные и инфекционные заболевания (грипп, туберкулез), инсульт, инфаркт миокарда, гипотиреоз, амилоидоз, пневмония, злокачественные опухоли (рак легких и др.).

Повышение фибриногена сопровождает ожоги, операционные вмешательства, приём эстрогенов и оральных контрацептивов.

Нормальный уровень фибриногена снижается при таких заболеваниях, как: ДВС-синдром, заболевания печени (гепатит, цирроз), токсикоз беременности, недостаток витамина С и В12, эмболия околоплодными водами (у беременных во время родов или операции кесарево сечение), хронический миелолейкоз, полицитемия.

Уровень фибриногена понижается при отравлениях змеиным ядом, при приёме анаболических гормонов, андрогенов и рыбьего жира.

* Определение Фибриногена



* МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФИБРИНОГЕНА

Фибриноген, фактор 1 свертывания крови, является природным субстратом для протеолитического фермента тромбина. Под воздействием тромбина от фибриногена отщепляются две пары пептидов - фибринопептиды А и В. Расщепленная активированная молекула фибриногена (мономер) быстро полимеризуется, образуя гель, который под воздействием фактора свертывания XIII превращается в нерастворимый полимер фибрина. Ряд протеолитических ферментов некоторых змеиных ядов (*Bothrops atrox*, *Bothrops asper*, *Agkistrodon*, *Crotalus* и др.) катализируют превращение фибриногена в фибрин аналогичным образом. Однако в этом случае отщепляется только фибринопептид А. Общее название змеиных тромбиноподобных ферментов - батроксобин.

Аналитические методы, в которых используется тромбин или батроксобин, относятся к "функциональным" методам определения фибриногена, поскольку они базируются на основных принципах коагуляции крови. В число этих методов входит, например, метод определения по Клауссу, основанный на измерении времени, необходимого для образования нерастворимого фибринполимера в разведенной плазме крови после добавления большого количества тромбина; турбидиметрическая модификация кинетического фотометрического метода или определение при помощи батроксобина. Однако проведению анализа с использованием тромбина мешает присутствие в плазме ингибиторов тромбина (антитромбина III и гепарина). Другая группа исследований относится к нефункциональным. В этих методах принцип коагуляции крови не используется. Это, например, метод измерения мутности после солевой преципитации или тепловой денатурации фибриногена с последующим выделением и взвешиванием волокон фибрина, или фотометрическое определение после растворения фибрина при помощи биуретового реактива, или иммунологический метод.

Помимо классического метода Клаусса, который считается референтным, большое значение имеет и ферментное турбидиметрическое определение фибриногена с использованием батроксобинподобных ферментов. На это определение присутствие ингибиторов тромбина не влияет и оно более пригодно для использования автоматических анализаторов. Различие между действием батроксобина и тромбина заключается в том, что батроксобинподобные ферменты отщепляют от фибриногена только фибринопептид А.

Различные методики, используемые для определения фибриногена, их низкая специфичность и точность, трудоемкость процедуры осложняют интерпретацию результатов. Теперь мы имеем современные и доступные аналитические методы, позволяющие использовать автоматические анализаторы. Фибриноген может быть легко определен и измерена его концентрация. Все это дает основание практически врачам использовать рутинные измерения уровня фибриногена.

Измерение концентрации фибриногена в плазме должно быть включено в список определяемых факторов риска сердечнососудистых заболеваний и показателей острой фазы.

СПАСИБО!!!

ЗА ВНИМАНИЕ!!!!