

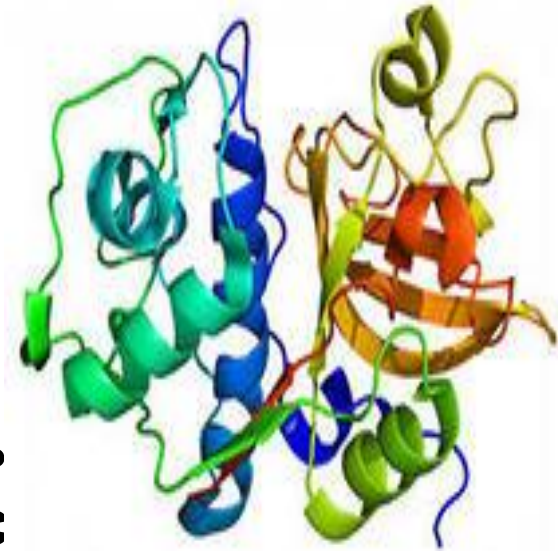
**Инновационные биомаркеры –
новые решения для лабораторной
диагностики.**

Погорецкая Ирина Львовна
Москва, 2013

Proprietary & Confidential

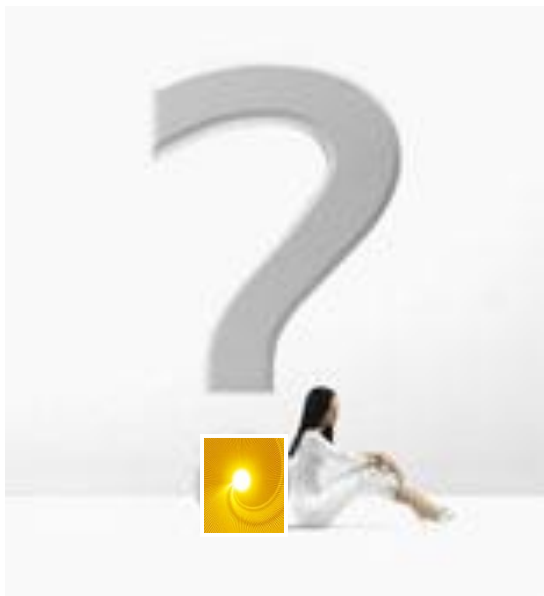
БИОМАРКЕРЫ

- **Биомаркеры – это особые белковые вещества, появляющиеся в крови. По концентрации данных белков можно судить о тяжести или наличии какого-либо заболевания**
- **Биомаркеры – это индикаторы, которые позволяют выявить орган или ткань, с которой не все в порядке.**
- В организме имеются специфические белки, которые присущи определенным органам или тканям. Когда человек начинает болеть, такой белок может попасть в кровь, в результате нарушения целостности клеток органа.



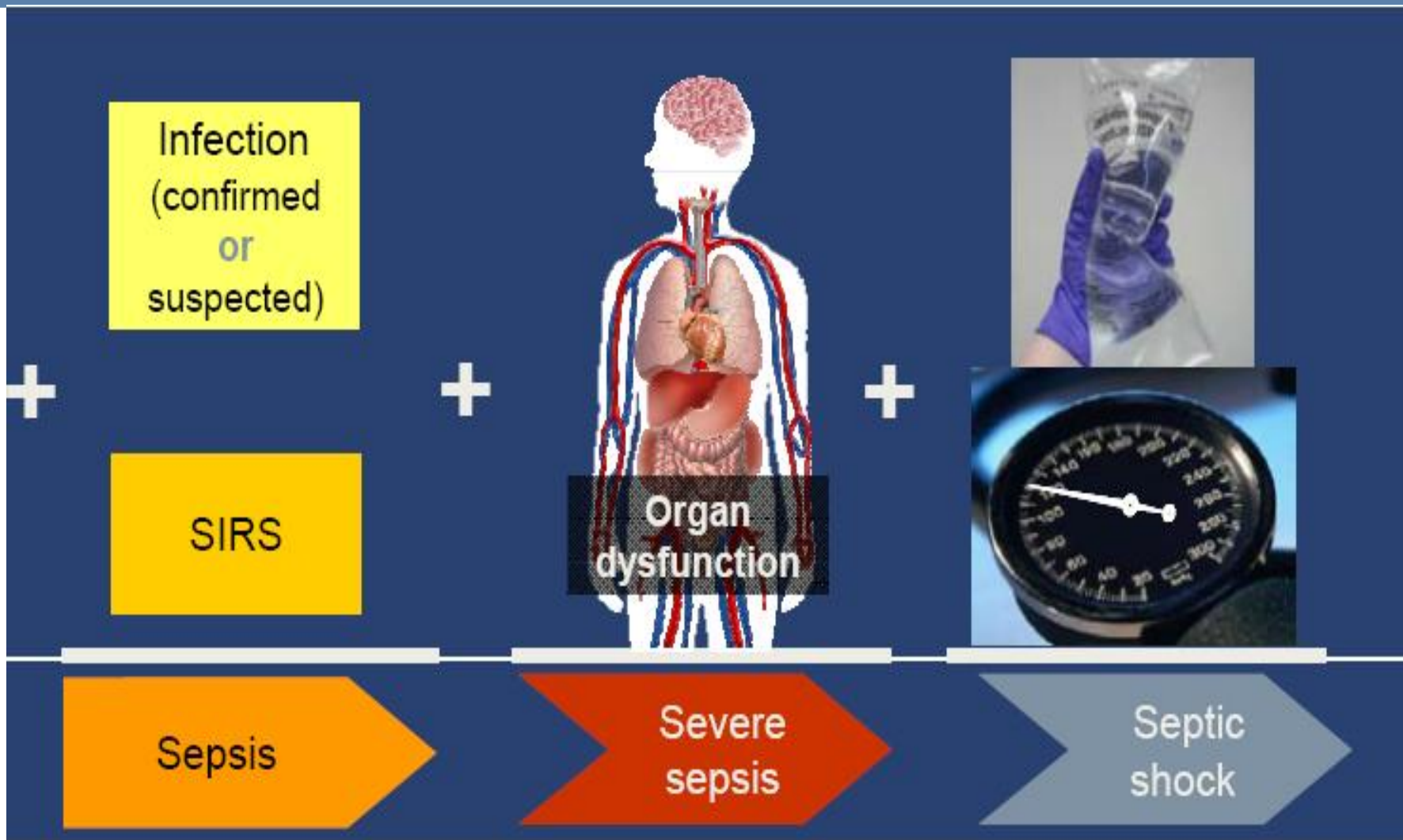
Биомаркеры





- "У человечества три главнейших врага: Лихорадка, голод и война. Из них самый великий, самый ужасный— это лихорадка. (У.Ослер)

Сепсис, тяжелый сепсис, септический шок?



Bone et al. Chest. 1992;101:1644.

Brun-Buisson C. Intensive Care Med. 2000;26:S64.

Wheeler, et al. N Engl J Med. 1999;340:207.

Friedman et al. Crit Care Med. 1998; 26:2078.

Levy et al. Crit Care Med. 2003;31:1250.

Методы определения бактериальной инфекции

Микробиология (культура крови)

- Низкая чувствительность (часто негативный/ >35%)
- Низкая специфичность (проблема дифференцировать между инвазивной инфекцией, колонизацией и контаминацией)
- Медленное по времени получение результата (получение результат отсрочено на 1-3 дня → поздно для начала лечения)

Излучение (x-ray, hr-CT)

- Доступность, затраты, иногда не обнаружен источник

Молекулярно биологические тесты

- Доступность, затраты, время результата

Биопсия

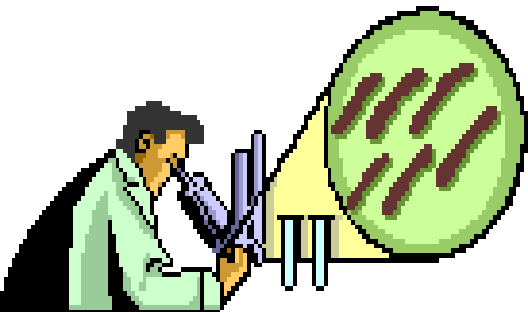
- Инвазивный, относительно дорогой

Биомаркеры – улучшают диагностику сепсиса!

Идеальный биомаркер сепсиса:

- ✓ Легко доступный,
- ✓ Технический легко выполнимый с быстрым выполнением по времени,
- ✓ Недорогой,
- ✓ Высоко специфичный,
- ✓ Очень чувствительный,
- ✓ И предпочтительно с высокой корреляцией в количественном отношении с тяжестью заболевания.

Такой тест обеспечил бы раннюю точную диагностику, прогностическую информацию и определил ответ на терапевтическое вмешательство.

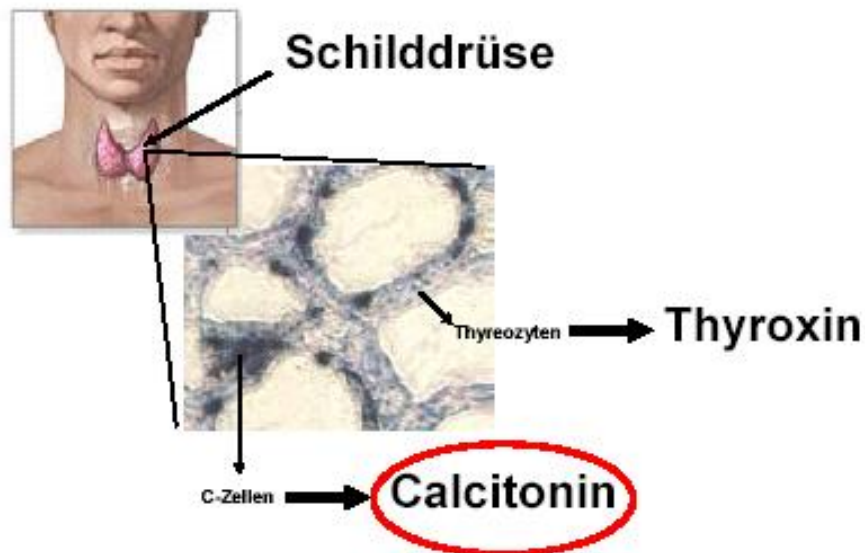


ПКТ в лабораторной диагностике

Что такое Прокальцитонин (ПКТ)?

Предшественник гормона **Кальцитонина**

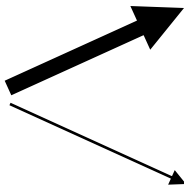
Прокальцитонин – промежуточный продукт в синтезе Кальцитонина.



Низкий уровень ПКТ в крови у здоровых людей
< 0,05 ng/mL (median: 12.7 pg/mL)*

Кальцитонин (КТ) – только ли гормон?

«Здоровый»



- Щит. железа
- White Blood Cells
- Perit. Macrophage
- Spleen
- Легкие
- Liver
- Kidney
- Adrenal
- Brain
- Spine
- Pancreas
- Stomach
- Small Intestine
- Colon
- Heart
- Muscle
- Skin
- Visceral Fat
- Testes

Контроль



Кальцитонин

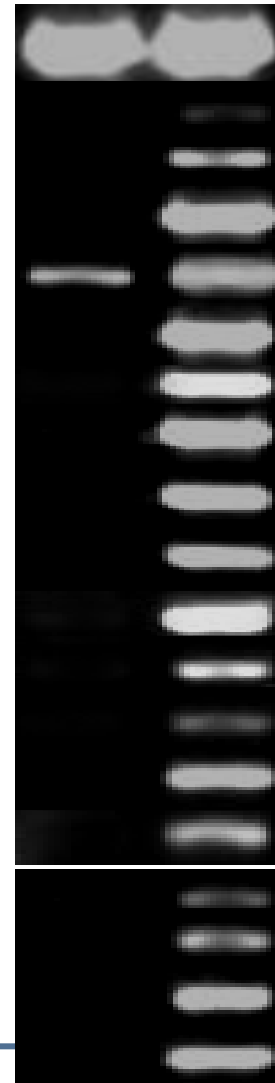
«Гормокины»

Гормоны, экспрессируемые как цитокины

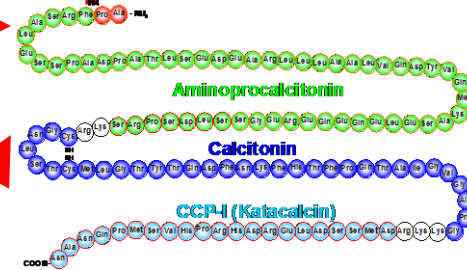
Müller B, et al. J Clin Endocrinol Metab 2001

- Щит. железа
- Лейкоциты
- Макрофаги
- Селезенка
- Легкие
- Печень
- Почки
- Надпочечники
- Головной мозг
- Спинной мозг
- Подж. железа
- Желудок
- Тонкий кишечник
- Толстый кишечник
- Сердце
- Мышцы
- Кожа
- Жировая ткань
- Яички

Контроль Сепсис



проКТ



Инфекция

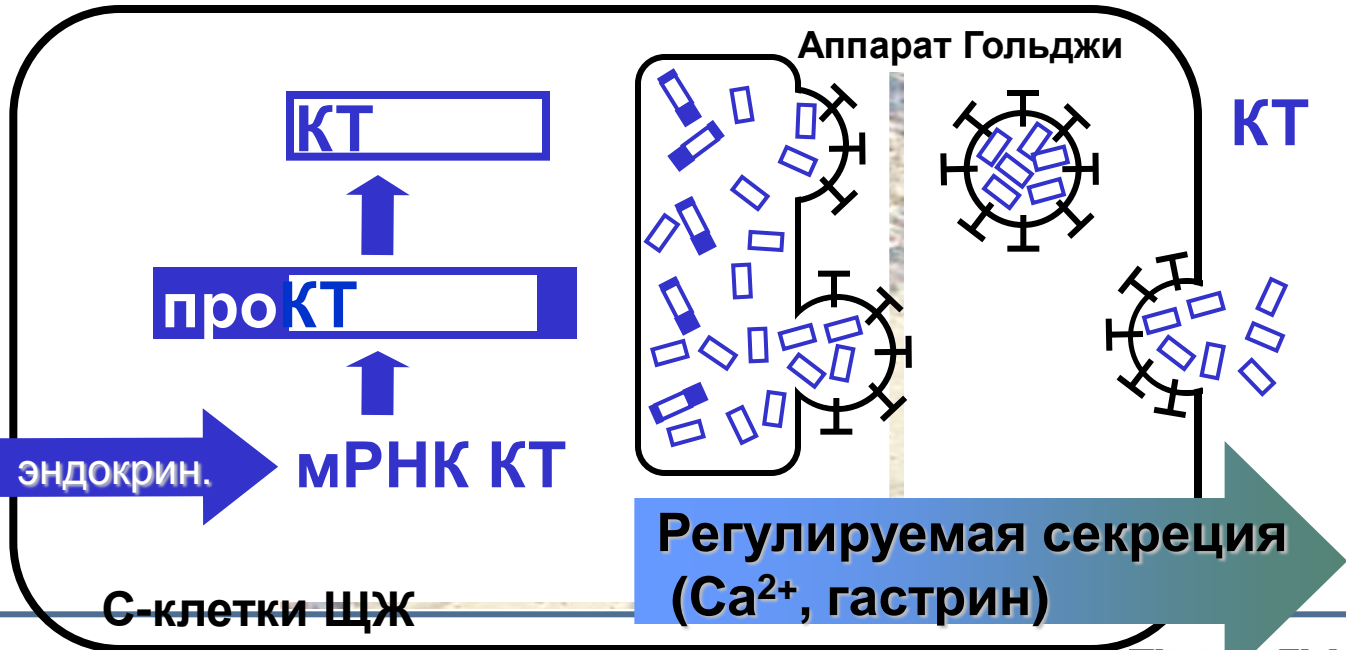
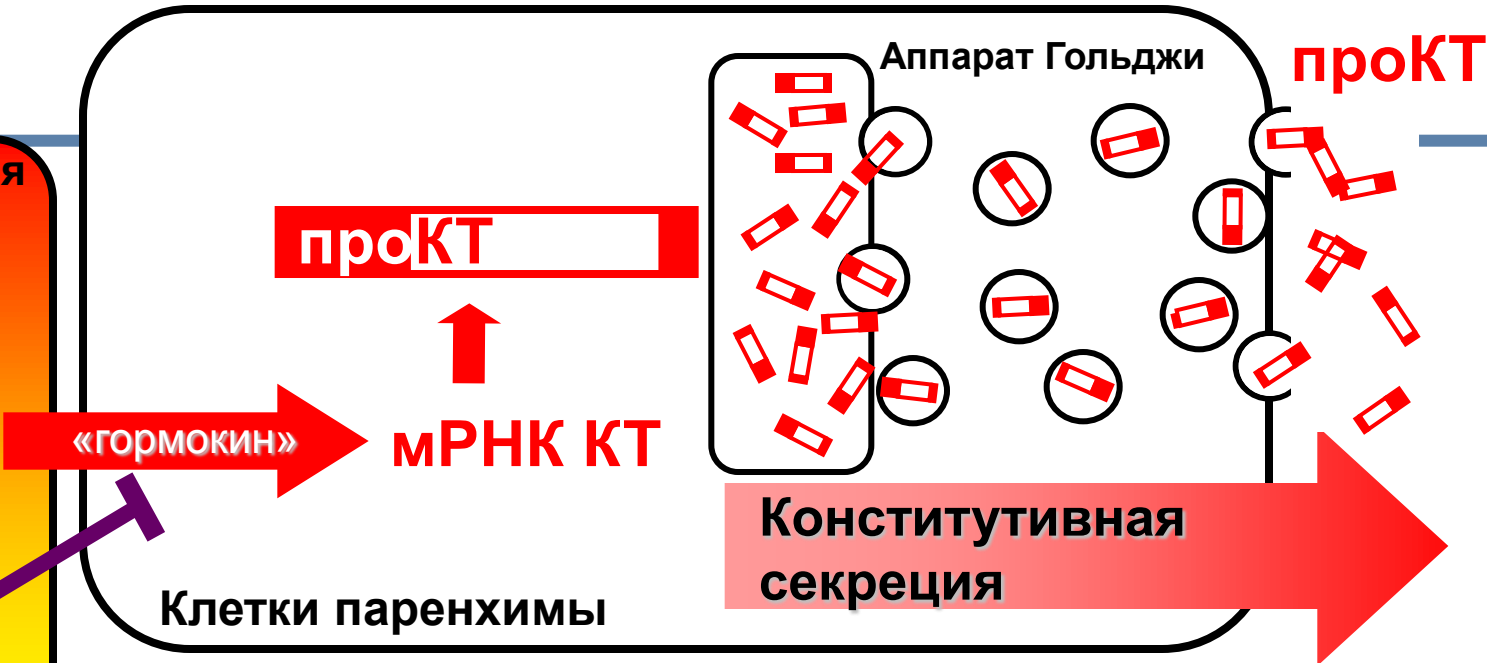


бактериальная инфекция
(например, эндотоксин)

ИЛ-1 β
ФНО- α

ИФН- γ

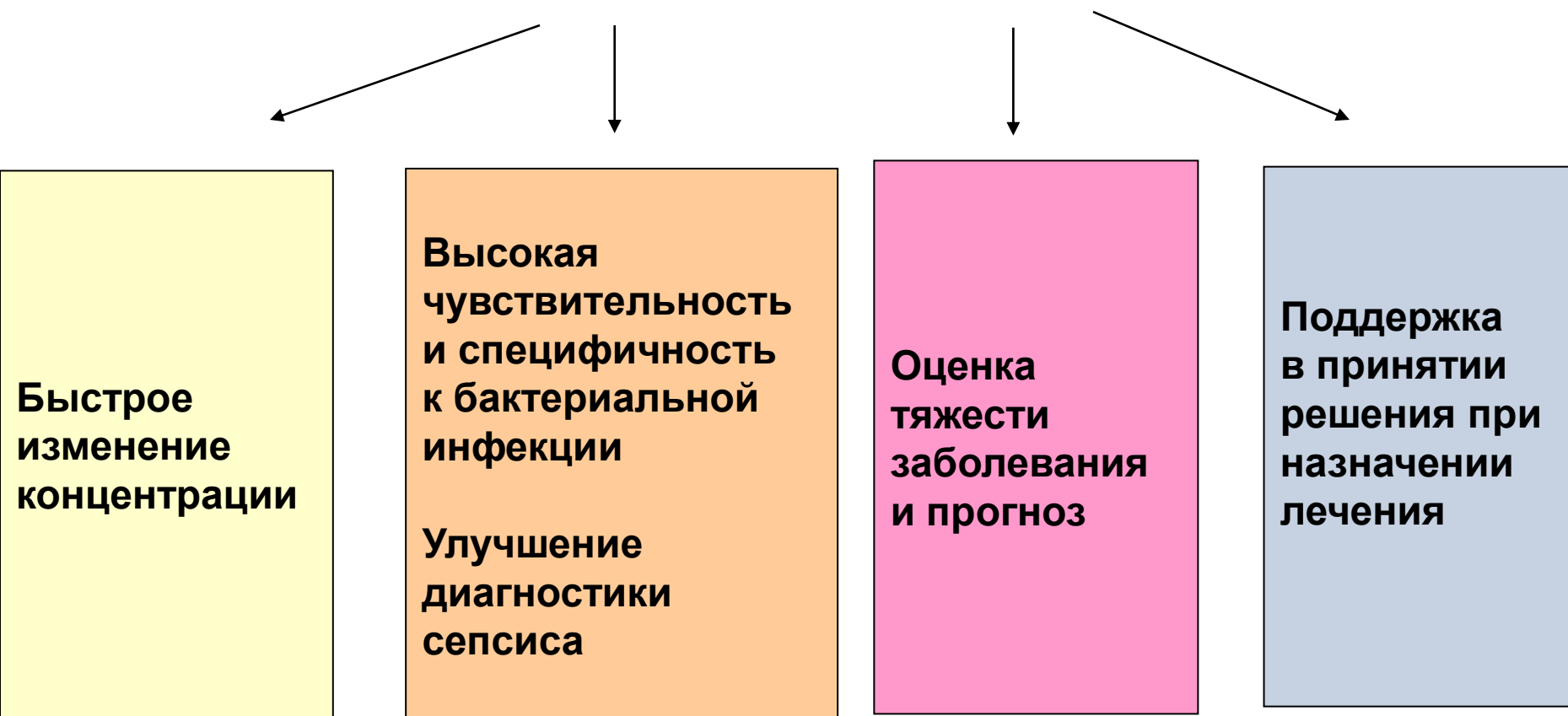
вирусная инфекция



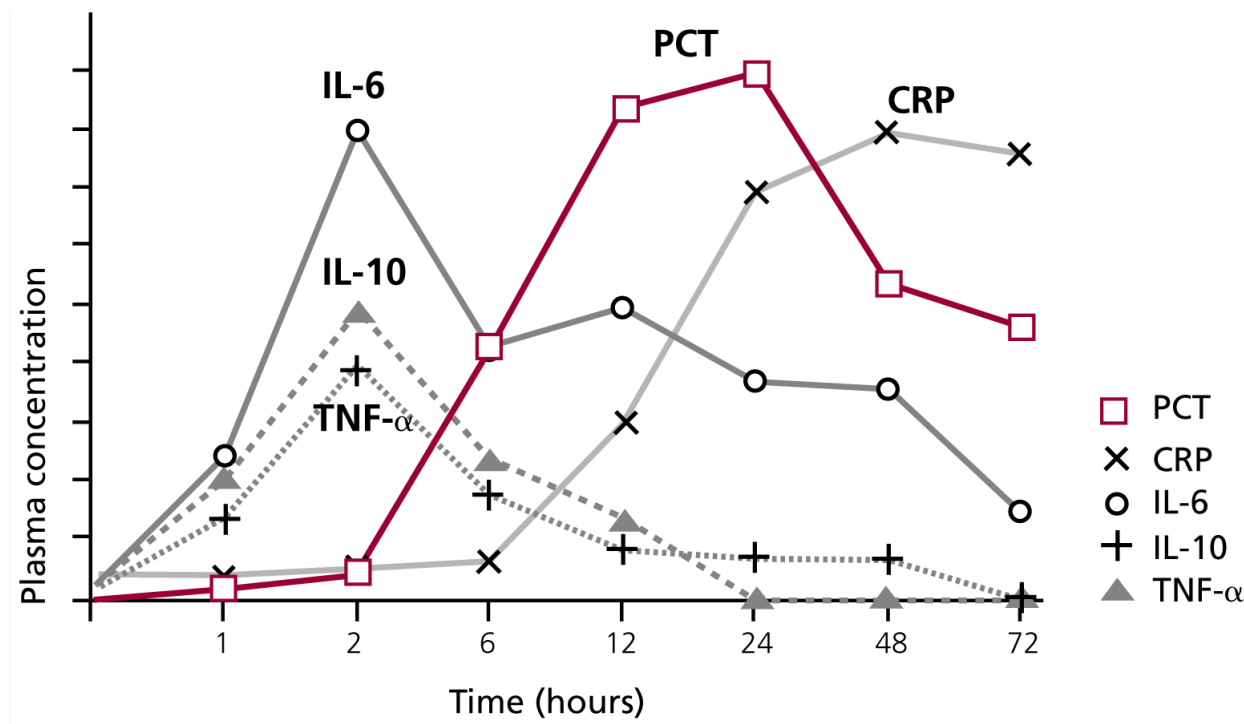
Linscheid P,
Endocrinology 03; 144:
5578-5584 & Crit Care
Med 04: 32: 1715-21

ПОЧЕМУ Прокальцитонин???

Как проверить применимость маркера для клинической диагностики бактериальной инфекции\сепсиса?

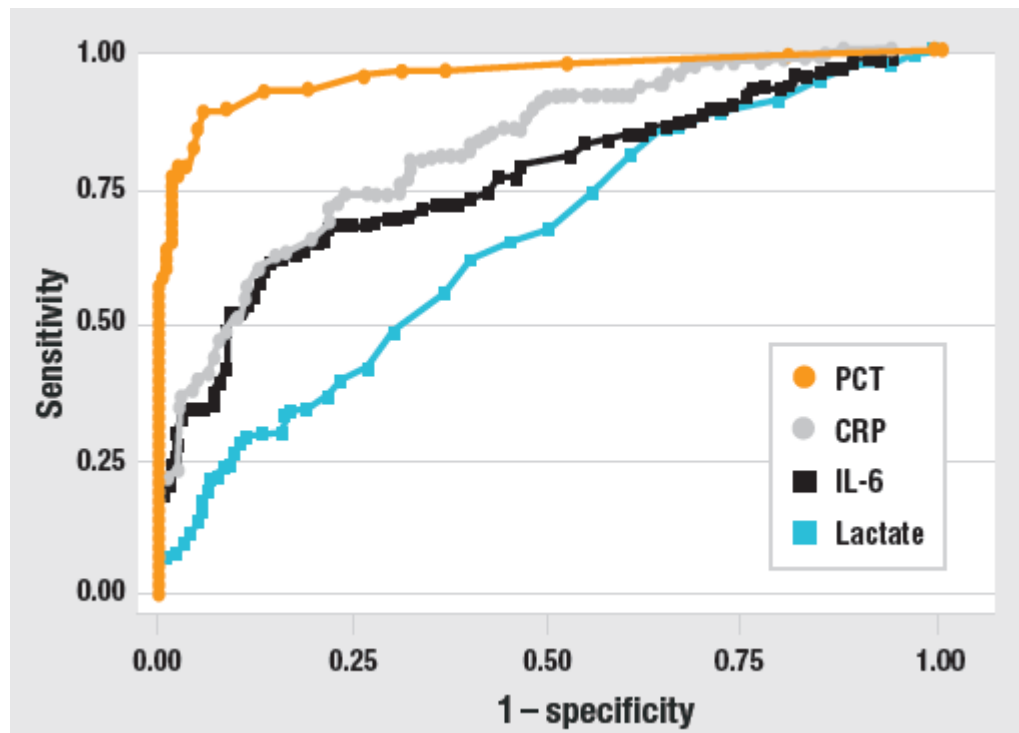


Быстрое повышение уровня ПКТ при бактериальном инфицировании



- Быстрое повышение уровня ПКТ (в теч. 3-4 часов), высокодинамичная зависимость
- Широкий диапазон концентраций от 0.05 нг/мл до 1000 нг/мл
- Короткий полупериод существования (~ 24 ч), независимый от функции почек
- Легкий в определении в плазме и сыворотке крови – стабильный *in vivo* и *in vitro*

ПКТ - высокая чувствительность и специфичность для диагностики сепсиса



Наилучшая чувствительность и специфичность ПКТ по сравнению с другими показателями (даже с ЦРБ)

Müller B, et al. Crit Care Med (2000)

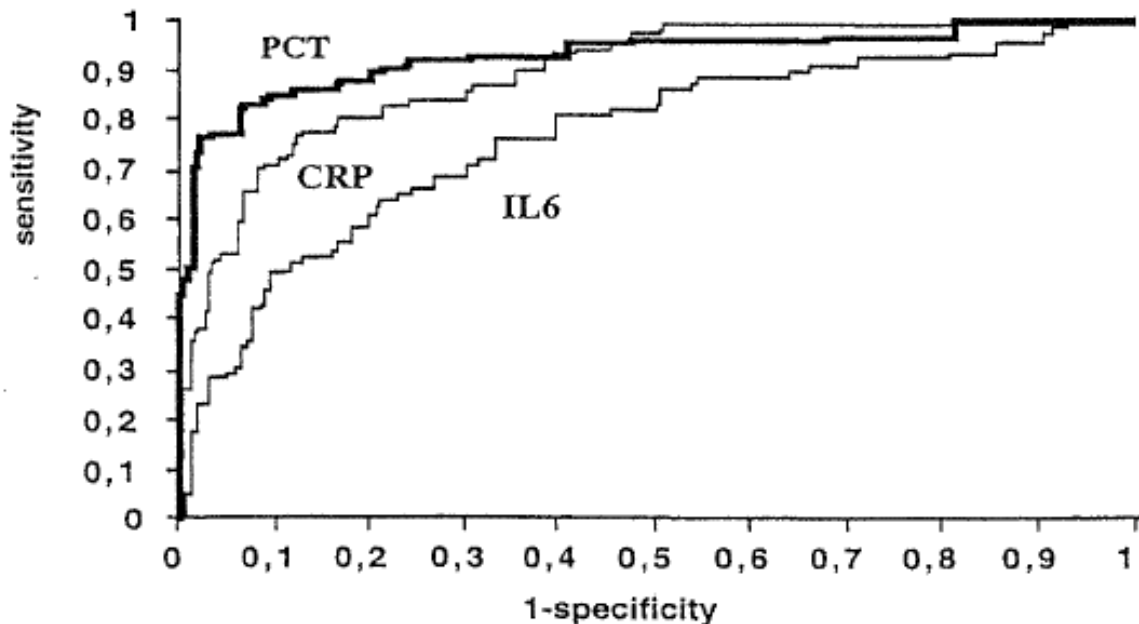
Дифференциация бактериальная vs вирусная инфекция

Сравнение ПКТ и СРБ, IL-6, интерферона альфа для дифференциации бактериальной и вирусной инфекции

Ретроспективное исследование и анализ

360 детей и подростков

46 с бактериальной инфекцией, 78 с локализованной бактериальной инфекцией, 236 с вирусной инфекцией

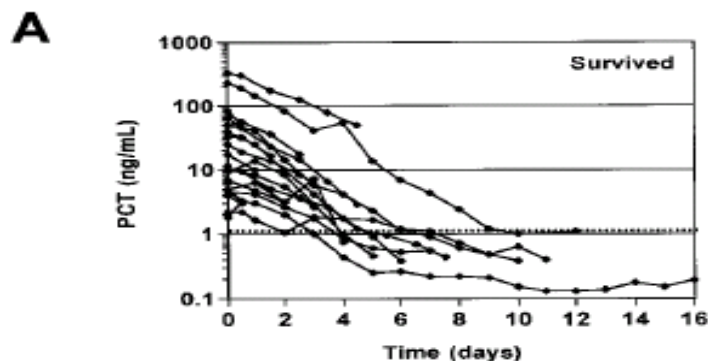


Лучшая точка cut-off для ПКТ: 1 нг\мл
Чувствительность: 83%
Специфичность: 98%

Разница ПКТ vs ЦРБ/IL6
 $P < 0.001$

Gendrel D. et al., *Pediatr Infect Dis J.* 1999;18:87.5-81

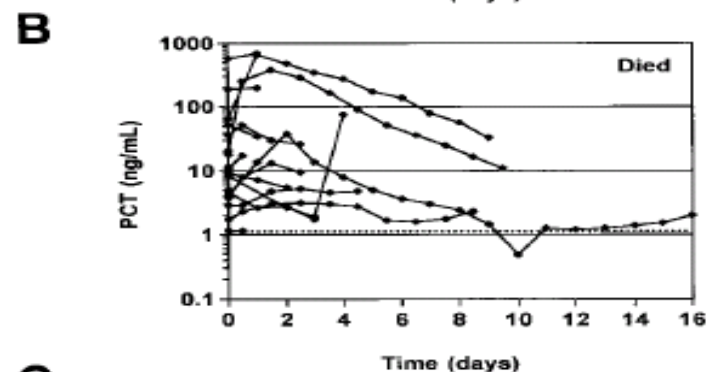
Кинетика ПКТ - важная информация по прогнозу у пациентов с сепсисом



При **сепсисе** начальный уровень ПКТ > 1ng/ml

Быстрое снижение уровня ПКТ < 1 нг/мл

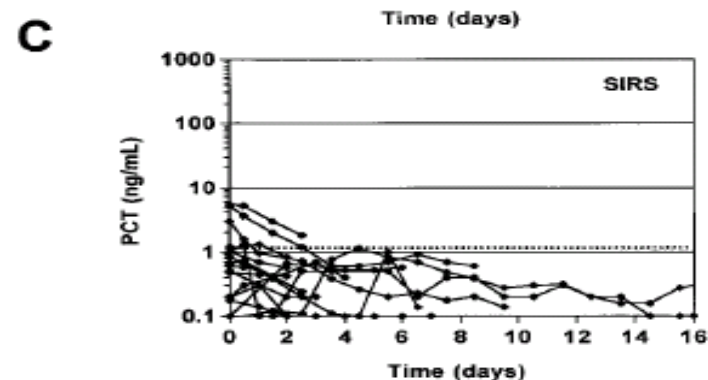
Дает положительный прогноз



Отсутствие или слабое снижение уровня ПКТ,

Не ниже <1нг/мл

Дает отрицательный прогноз



При **ССВР**

Нет или только краткосрочное повышение уровня ПКТ

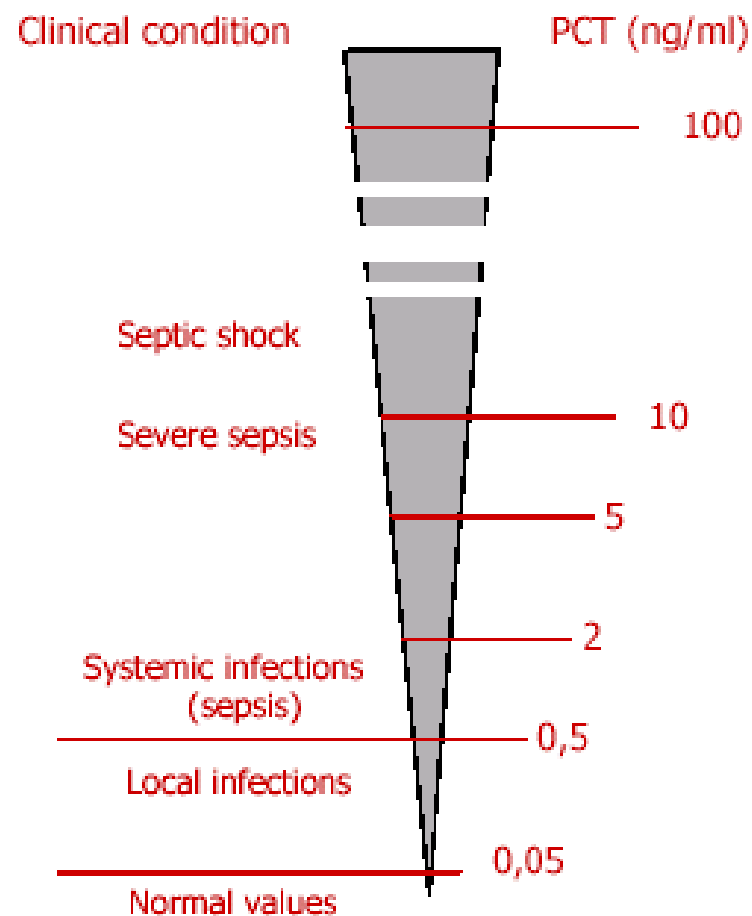
>1нг/мл

Сепсис

ССВР

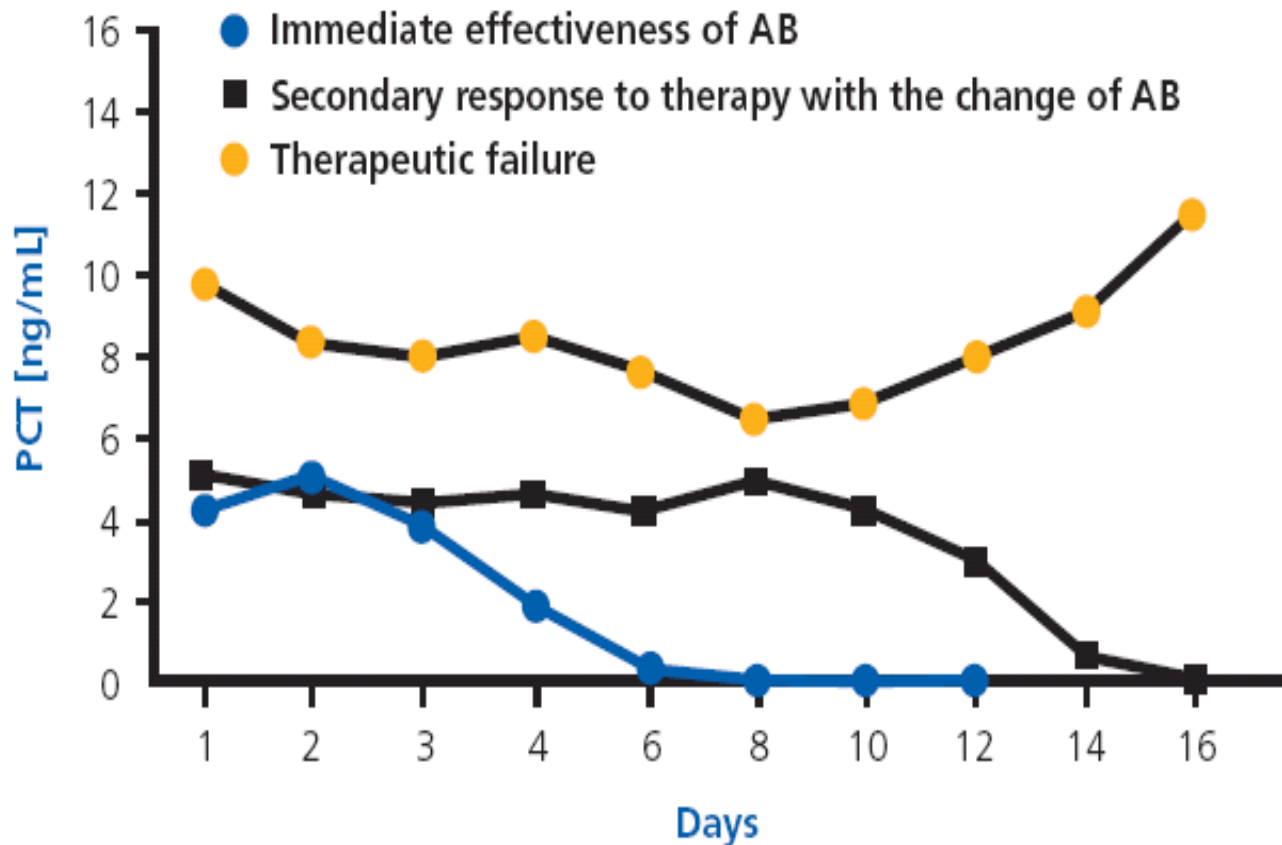
ПКТ увеличивается непрерывно с прогрессированием инфекции

Корреляция между уровнем ПКТ и тяжестью сепсиса (тяжелый сепсис, септический шок)



Ответ на адекватную терапию - в снижении уровня ПКТ

Типичное изменение уровня ПКТ в сыворотке в соответствии с ответом пациента на аб терапию (n=109)



F. Stüber, University Bonn, Lecture at ISICEM, Brussels 2001

ПКТ

- ✓ Лучший маркер для дифференциации ССВР от сепсиса, с высоким диапазоном чувствительности от 64-94 % и высоким диапазоном специфичности от 58-91 %.
- ✓ Является также одним из диагностических критериев сепсиса.
- ✓ Лучший параметр, по сравнению с ЦРБ, для того, чтобы оценить тяжесть прогноз и мониторинг терапии.

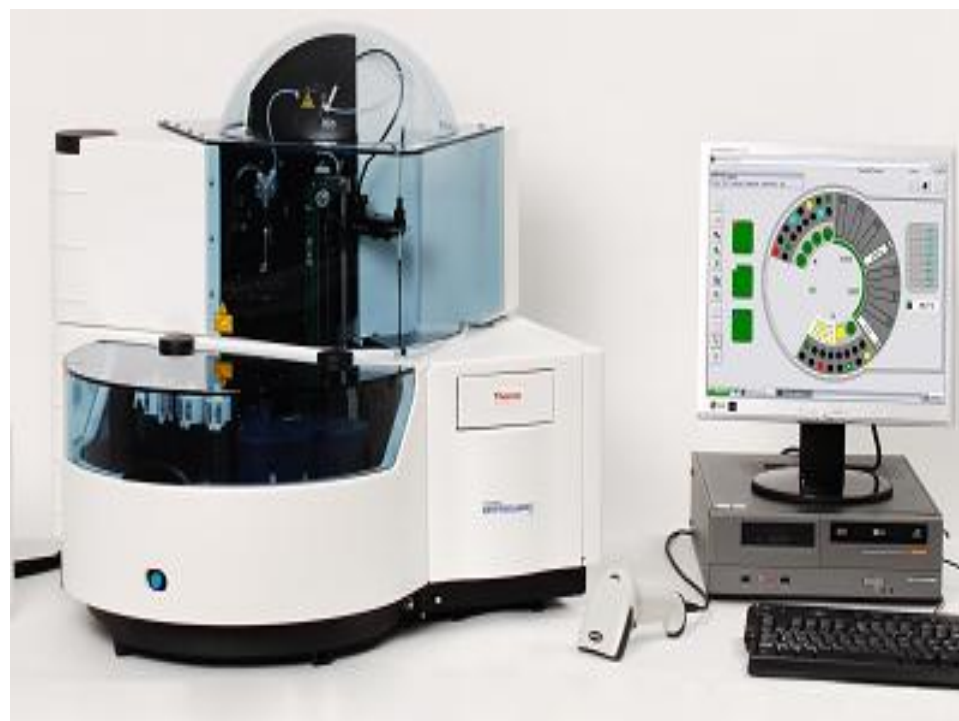
Факторы (кроме бактериальной инфекции) вызывающие индукцию ПКТ

Повышенный уровень ПКТ без соответствующей бактериальной инфекции:

- Новорожденные < 48 ч (физиологическое повышение)
- Первые дни после обширной травмы, обширные ожоги, после обширного хирургического вмешательства (кардиологического, трансплантационного, абдоминального)
- Лечение, которое действует на про-инфламаторный СК каскад (ОКТЗ, инъекционная терапия TNF α , IL-2, глобулинами анти-лимфоцитов)
- Длительный или тяжелый кардиогенный шок, медулярный СТ-клеточный рак щитовидной железы, мелкоклеточная легочная карцинома и бронхиальная карцинома, длительная аномальная тяжелая органная перфузия
- Длительная недостаточность кровообращения (длительный кардиогенный шок, геморрагический шок, тепловой шок)
- Инвазивные грибковые инфекции, малярия (острая стадия)

Прокальцитонин

Лабораторные решения

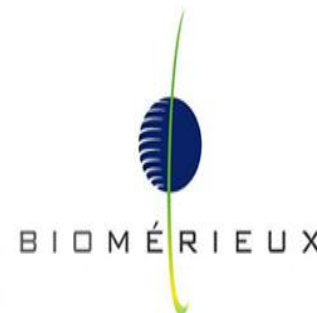


Один параметр – несколько форматов измерения и видов оборудования

- Thermo Scientific B·R·A·H·M·S
 - BRAHMS PCT LIA
 - BRAHMS PCT-Q (полуколичественный)
 - BRAHMS PCT sensitive Kryptor
 -

- Партнеры

- Liaison BRAHMS PCT Diasorin(Диасорин)
- VIDAS BRAHMS PCT Biomerieux (Биомерье)
- Elecsys BRAHMS PCT Roche (РОШ)
- Advia Centaur BRAHMS PCT Siemens (Сименс)



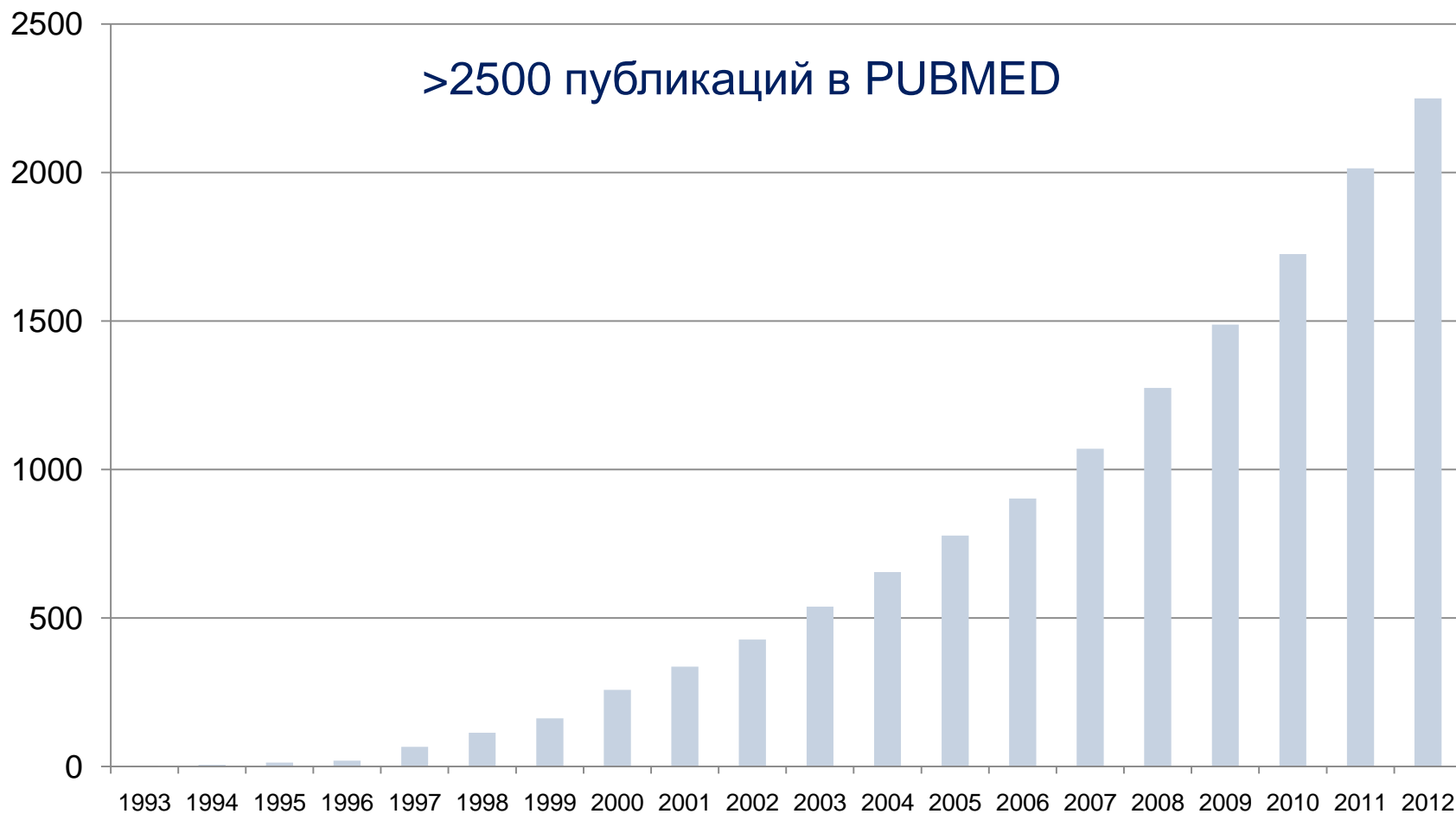
Разнообразные и легкие в использовании тест-системы для анализаторов различных производителей

ПКТ: обзор исследований

Анализ	Время инкубации (мин)	Диапазон измерения	Объем образца	Источник образца	Циклы	Стабильность (ч.)	Лимит детекции
PCT LIA	75	500	40	S,E,H,C	3	24	0,1
PCT Kryptor	19	50 direct 1000 dilution	50	S,E,H	3	24	0,02
PCT sensitive LIA	150	25	100	S,E,H,C	3	24	0,01
PCT Liaison	30	500	75	S,E,H,C	3	24	0,1
PCT Vidas	20	200	200	S,H,	3	48/2-8°C	0,02
PCT Elecsys	18	100	30	S,E,H	1	24/2-8°C	0,01
PCT Centaur	26-29	75	100	S;E;H	5	8/RT 48/2-8°C	0,04

ПКТ: Множественные доказательства клинической достоверности

Рост числа публикаций



РОССИЯ Стандарты

- **N 146** от 13 марта 2006 г. Стандарт медицинской помощи больным с **врожденной пневмонией**
- **N 148** от 13 марта 2006 г. Стандарт медицинской помощи больным **при бактериальном сепсисе новорожденного**
- **N 149** от 13 марта 2006 г. Стандарт медицинской помощи больным **при синдроме дыхательного расстройства у новорожденного**
- **N 382** от 24 мая 2006 г. Стандарт медицинской помощи больным с **доброкачественным новообразованием краниофарингиального протока**
- **N 411** от 8 июня 2007 г. Стандарт медицинской помощи больным с **пневмонией**
- **N 659** от 19 октября 2007 г. Стандарт медицинской помощи больным **стрептококковой септицемией, другой септицемией, кандидозной септицемией**
- **ПРОЕКТ ПРИКАЗА** В соответствии со статьей 37 ФЗ от 21 ноября 2011г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан» Стандарт медицинской помощи больным **гнойно-воспалительными заболеваниями органов репродуктивной системы**
- **A09.05.215** **Определение уровня прокальцитонина в крови**

Страны – включившие ПКТ в стандарты диагностики

Country	Guideline
Germany	Sepsis Guidelines Guidelines for LRTI (specifically CAP and COPD)
France	Practical guidelines for acute bacterial meningitis Guidelines for H1N1 epidemics
Sweden	Sepsis guidelines
Spain	Recommendation for infants with fever without a source
USA	Guideline for evaluation of new fever in critically ill adult Guideline for management of CAP in infants and children
Europe	European guidelines for adult LRTI
China	Shanghai region ER standard guideline (2012) Expert Consensus: PCT in emergency clinical usage (2012) University level local guideline Xi'an province (2012)
Japan	Sepsis guidelines (2012)
International	Surviving Sepsis Campaign guidelines (update 2012)



Новые биомаркеры.

Proprietary & Confidential



The world leader in serving science



REACHING OUR
POTENTIAL

Новые биомаркеры

Применение в диагностике

ПроAVP (= Копептин)

- Определяется при нарушении баланса вазопрессина, приводящем к нарушению баланса электролитов, таких как Diabetes inspidus (несах. диабет)
Гипонатриемия

ПроADM

- Диагностический параметр для определения степени тяжести и прогноза у пациентов с
 - инфекциями нижних дыхательных путей
 - острой сердечной недостаточностью

Копептин

- Вместе с Тропонином играет важную роль в ранней диагностике инфаркта миокарда.

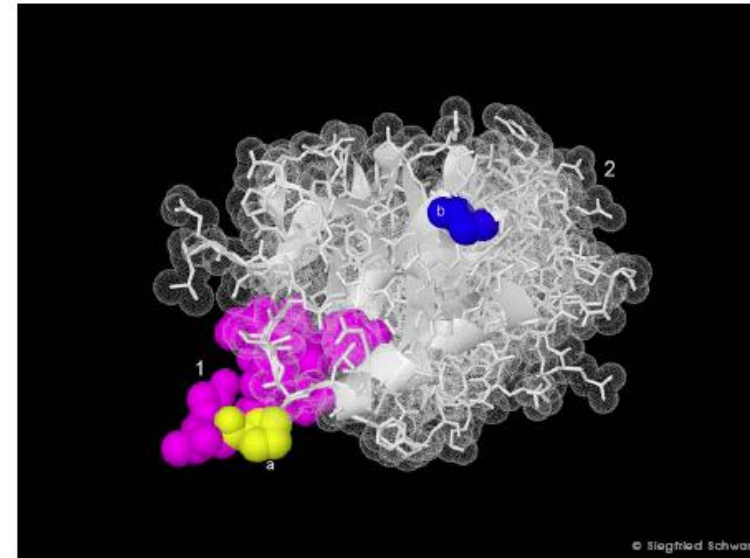
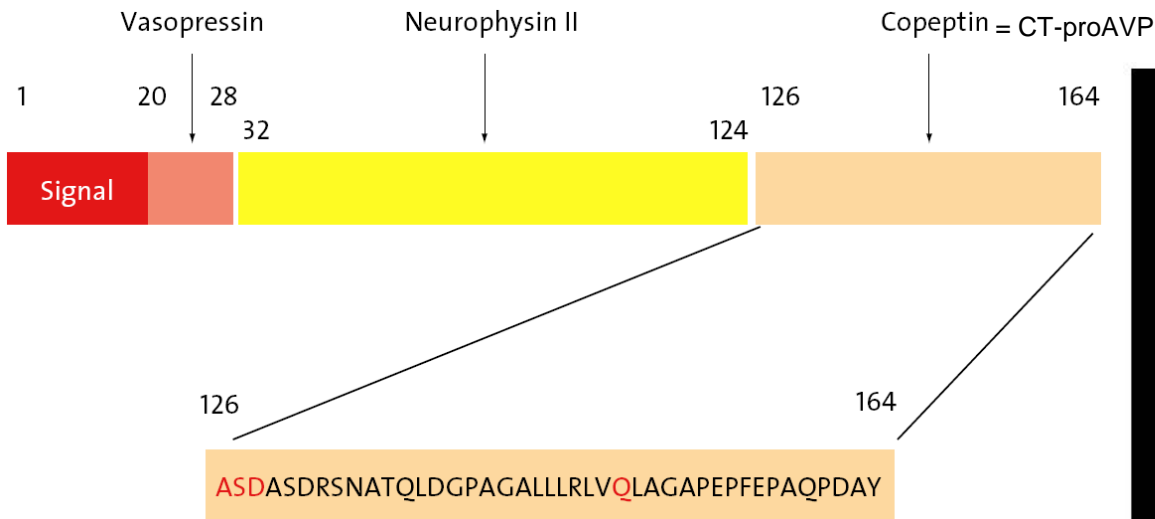
ПроANP

- Эквивалент BNP/NT-proBNP в диагностике острой сердечной недостаточности.

Про-аргинин-вазопрессин ПроAVP

Что такое СТ-проAVP?

- СТ-проAVP = С-терминальный участок Про-аргинин-Вазопрессина
- СТ-проAVP – часть предшественника Вазопрессина
- СТ-proAVP - косвенный маркер Вазопрессина



Вазопрессин – физиологическая роль

Основная задача: Регуляция водного баланса

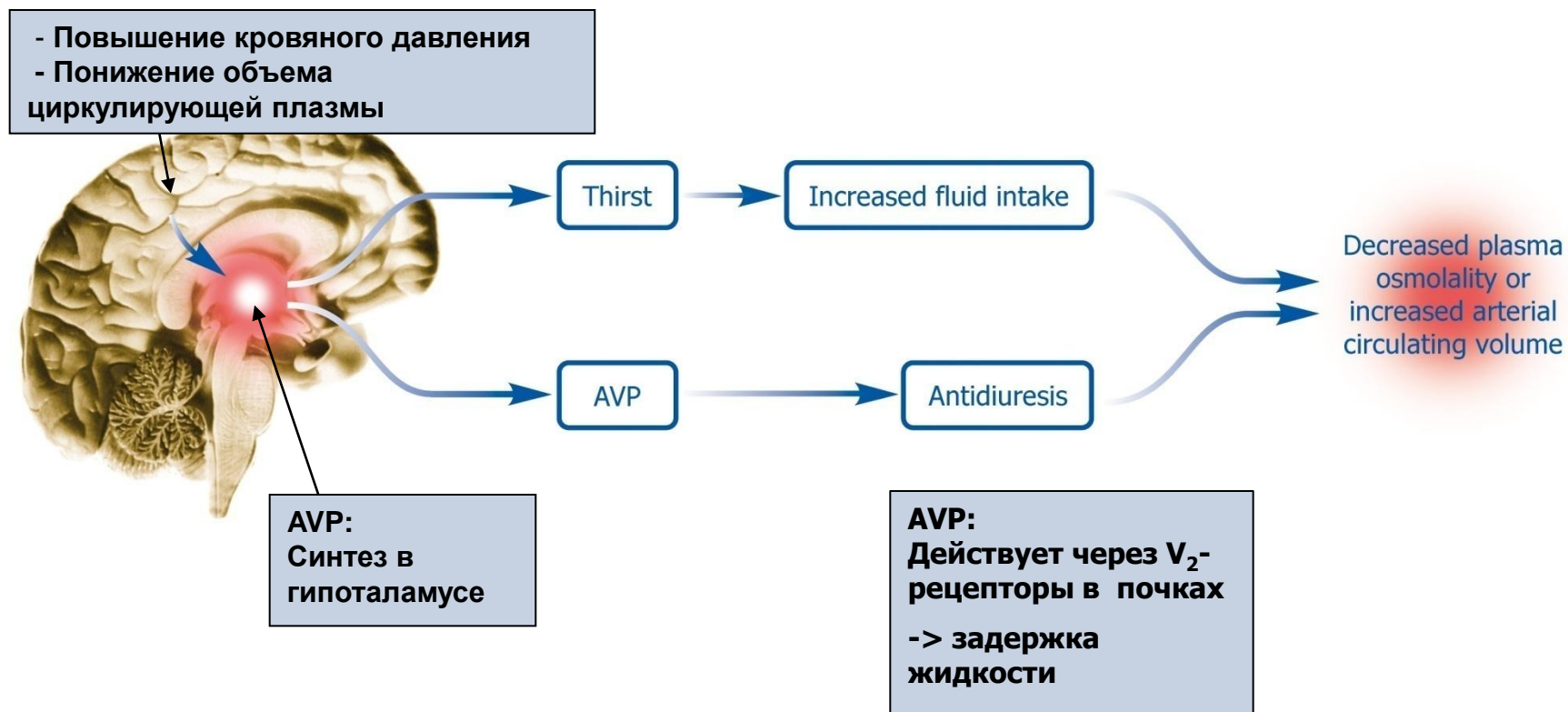
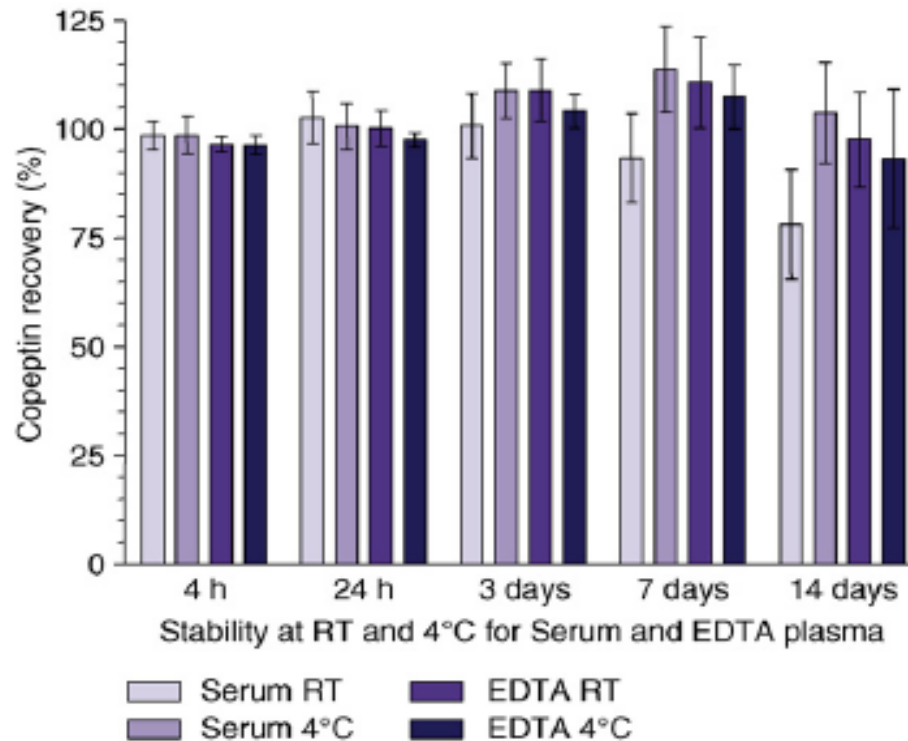


Figure adapted from: Knoers NV N Engl J Med. 2005 May 5;352(18):1847-50

Стабильность ПроAVP

СТ-проAVP (Копептин) очень стабилен в плазме и сыворотке ex vivo.



TRENDS in Endocrinology & Metabolism

СТ-проAVP – Клиническая важность

СТ-проAVP LIA и СТ-проAVP Криптор доступные тесты для косвенного измерения концентрации крайне нестабильного вазопрессина. Концентрация СТ-проAVP измеряется при нарушении баланса вазопрессина, приводящем к нарушению баланса электролитов.

-Несахарный диабет

-Гипонатриемия

СТ-проAVP улучшает дифференциальную диагностику несахарного диабета

	Центральный несахарный диабет	Первичная полидиспия	Нефрогенный несахарный диабет
Объем мочи/ прием жидкости	избыточный	избыточный	избыточный
Осмоляльность мочи	низкая	низкая	низкая
СТ-проAVP базальный(после 8 часов воздержания от воды)	низкий (< 2.6 пмоль/л)	низкий (~3 пмоль/л)	высокий (>20 пмоль/л)

Отличить центральный и первичный несахарный диабет после 8 часов воздержания от воды возможно ориентируясь на уровень СТ-проAVP!

СТ-проAVP улучшает дифференциальную диагностику несахарного диабета

	Центральный несахарный диабет	Первичная полидипсия	Нефрогенный несахарный диабет
Объем мочи/ прием жидкости	избыточный	избыточный	избыточный
Осмоляльность мочи	низкая	низкая	низкая
СТ-проAVP базальный(после 8 часов воздержания от воды)	низкий (< 2.6 пмоль/л)	низкий (~3 пмоль/л)	высокий (>20 пмоль/л)
Повышение уровняСТ- проAVP после продолжительного воздержания от воды (16 часов)	нет	да	мин

→ Отличить центральный и первичный несахарный диабет после 16 часов воздержания от воды возможно ориентируясь на уровень СТ-проAVP!

Преимущества для рутинной практики

- 1.** Существенно более высокая точность диагностики всех видов несахарного диабета и первичной полидипсии.
- 2.** Значительное облегчение и упрощение дифференциальной диагностики синдрома полиурии-полидипсии.
- 3.** Снижение физического и физиологического стресса для пациентов благодаря снижению времени теста водного воздержания и отсутствию необходимости применения десмопрессина.
- 4.** Снижение цены исследования благодаря снижению цены затрат лаборатории и применение теста, исключающего необходимость применения десмопрессина.
- 5.** Адекватная помощь пациенту благодаря терапевтическим решениям, основанным на очень точных лабораторных данных.

Копептин

Исключение инфаркта миокарда

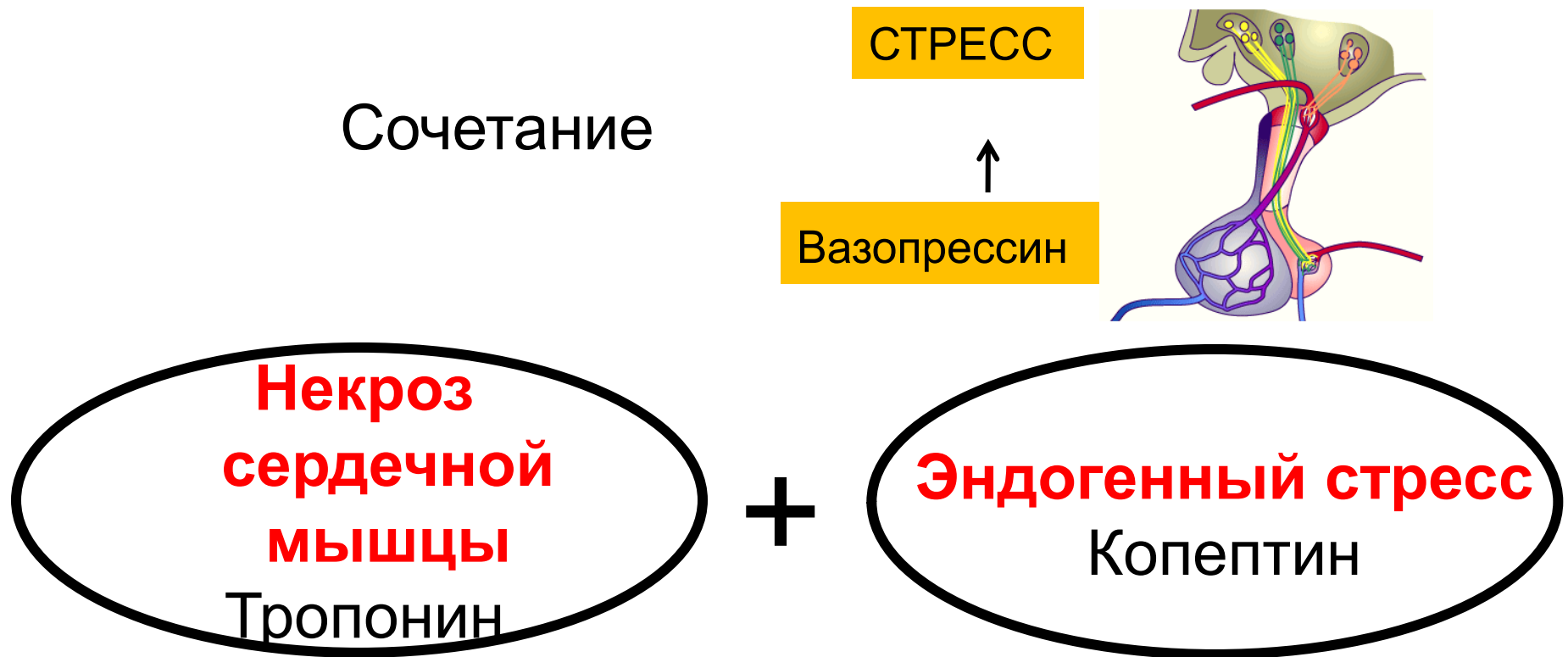
Копептин – клиническое значение.

Копептин - диагностический параметр, который вместе с определением концентрации Тропонина и другими клиническими критериями позволяет проводить раннюю диагностику инфаркта миокарда у пациентов с симптомами острого коронарного синдрома, в том числе и при острой боли.

Отрицательный результат по содержанию Копептина, вместе с аналогичным по содержанию Тропонина и другими клиническими критериями позволяет исключить инфаркт миокарда на ранней стадии.

Пациенты с отрицательными результатами по обоим маркерам могут быть направлены на диагностику и наблюдение.

Гипотеза: („Сначала приходит стресс.....“)



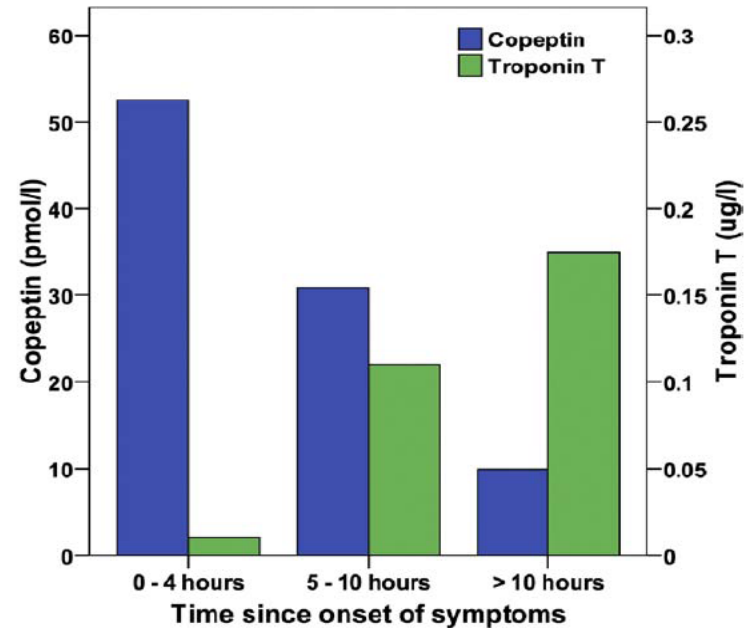
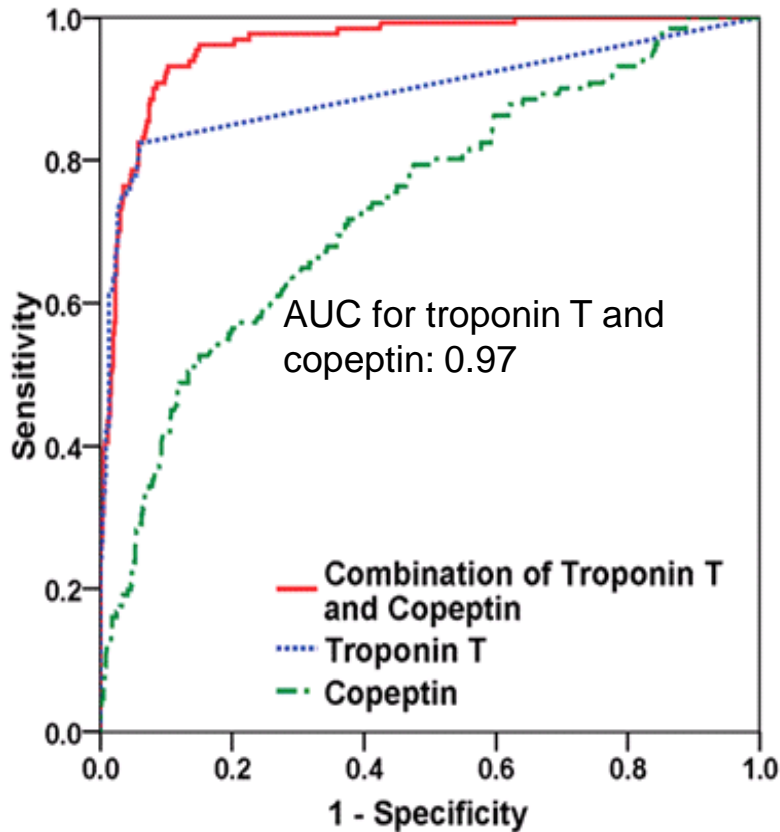
**Быстрое и точное исключение инфаркта
миокарда**

- напрямую
- “нет необходимости ждать 6 часов”

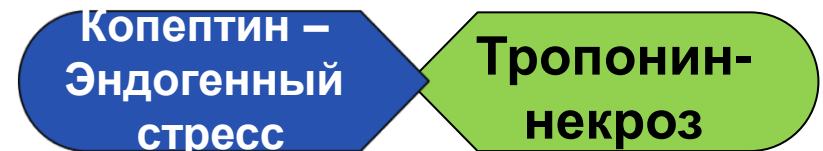
Копептин при ОИМ/ОСН

- Копептин – ранний маркер при диагностике ОИМ (данные 2009):

- Diagnostic performance of combination of Copeptin and Troponin T at presentation (t0)



Взаимное дополнение:

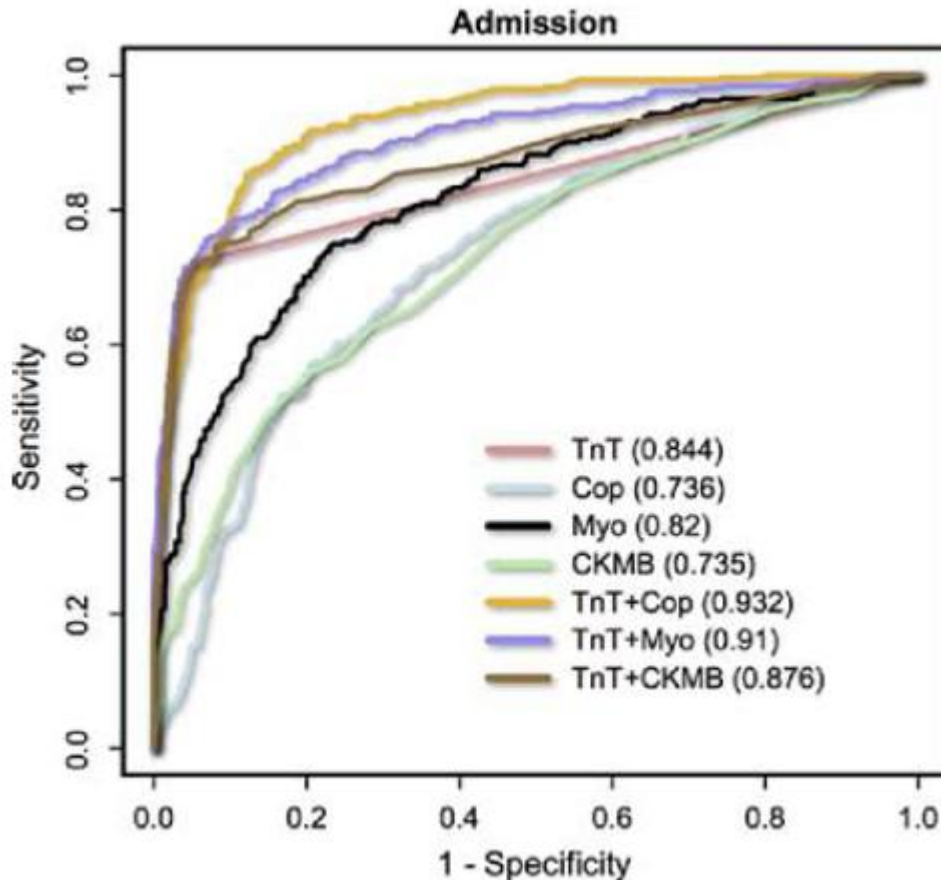


Reichlin et al. J Am Coll Cardiol 2009;54:60-8

Выводы

1. Копептин существенно улучшает раннюю диагностику ОИМ (AUC при комбинации с Тропонином 0.97)
2. Комбинация измерения уровней Копептина с Тропонином Т приводит к исключению ОИМ при чувствительности 98,8%.
3. Использование значений уровня Копептина в комплексе с уровнем Тропонина Т, ЭКГ и другими клиническими данными могут сигнализировать о необходимости пребывания в лечебном учреждении и измерении уровня Тропонина повторно через 6-8 часов у 2\3 пациентов. Подобное изменение клинической практики может привести как к существенному улучшению качества мед. Помощи, так и к выгоде в экономическом аспекте.

Диагностическая ценность Копептина (ROC кривые)



Комбинация концентраций Копептина и Тропонина превосходно сравнима с комбинацией Тропонина с другими маркерами некроза.

Диагностические возможности Копептина, Тропонина и других классических кардио маркеров

Keller T. et al., Copeptin Improves Early Diagnosis of Acute Myocardial Infarction, JACC Vol.55, No. 19, 2010, May 11, 2010:2096-106

Копептин и Тропонин –только вместе при диагностике ОИМ

	Копептин	Тропонин	Исключение ОИМ у пациентов с сердечной болью	ОИМ? Необходимо повторное исследование	ОИМ? ДА!!	Слишком поздно для определения Копептина
Копептин	-	+	+	-	+	-
Тропонин	+	-	+	+	+	+

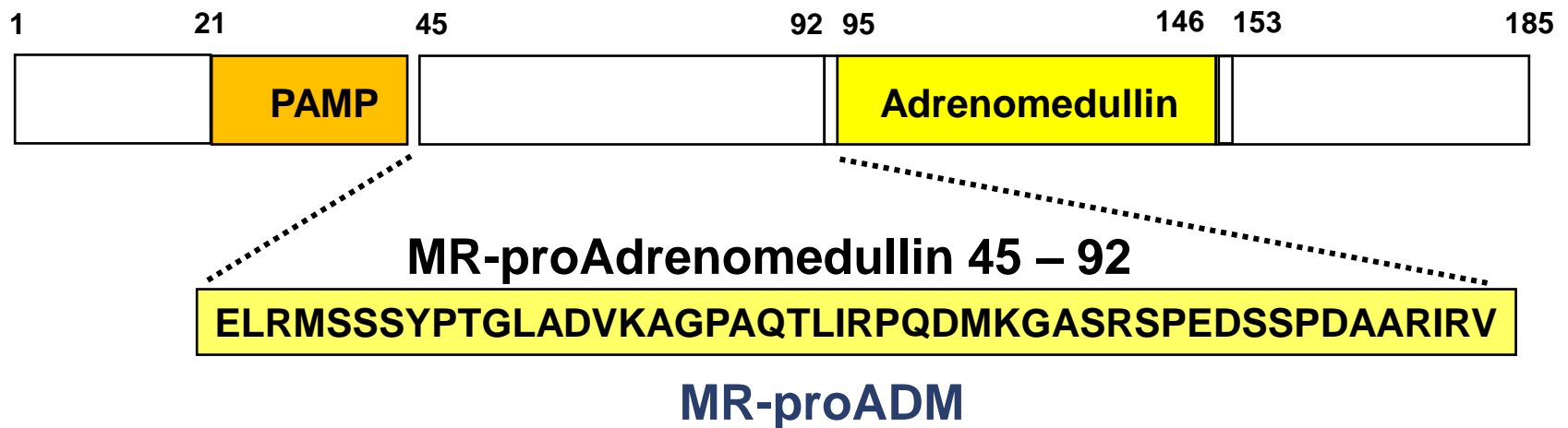
Кому это необходимо.....



Продреномедуллин ПроADM

Что это такое?

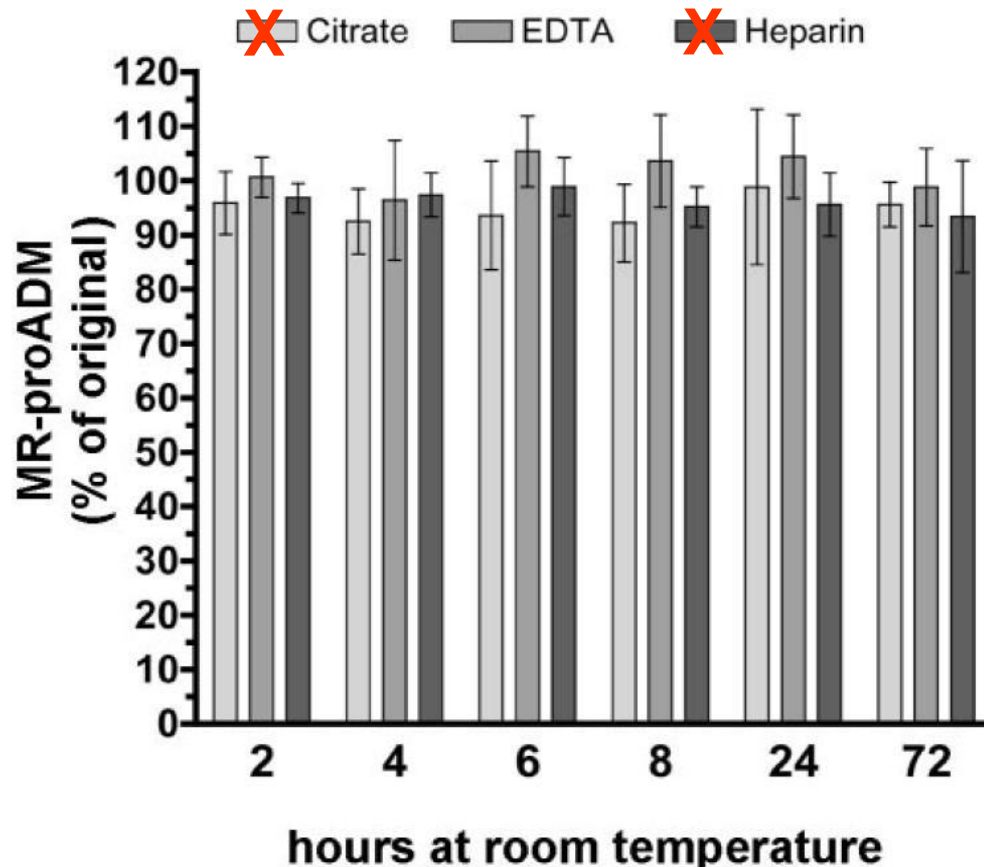
- MR-проADM = среднерегиональный участок молекулы Про-адреномедуллина
- MR-проADM - часть предшественника адреномедуллина
- MR-проADM - косвенный маркер адреномедуллина



Struck J et al., Peptides.2004; Morgenthaler NG et al., Clin Chem. 2005 ; Caruhel P et al., Clin Biochem 2009

Стабильность MR-проADM

MR-проADM очень стабилен
в плазме и сыворотке ex vivo.



X not suitable for use
with KRYPTOR

Morgenthaler NG et al., Clin Chem.
2005

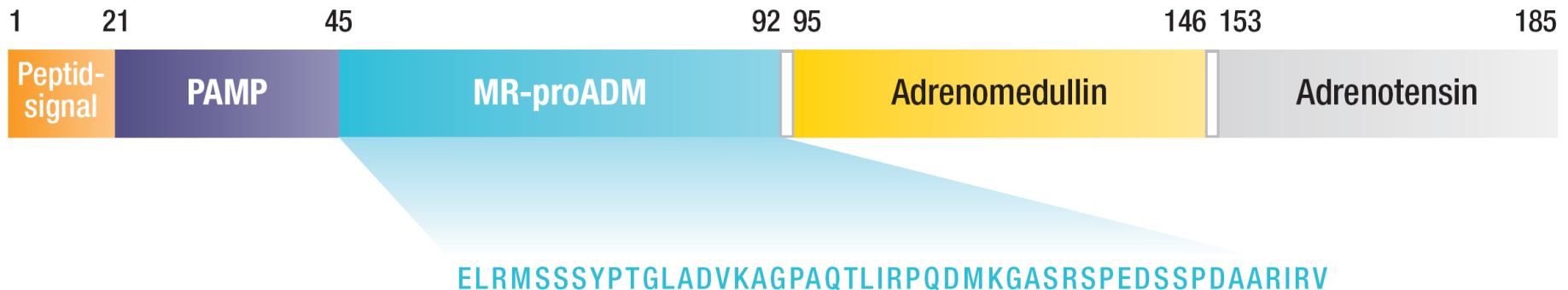
MR-проADM уникальный биомаркер!

- MR-проADM – отличный маркер для оценки риска и прогноза при различных состояниях
- С помощью MR-проADM превосходно, вместе с ПКТ, BNP и другими маркерами и клиническими данными, можно оценить риск летальности и осложнений.

Почему ПроADM? – Адреномедуллин и ИНДП

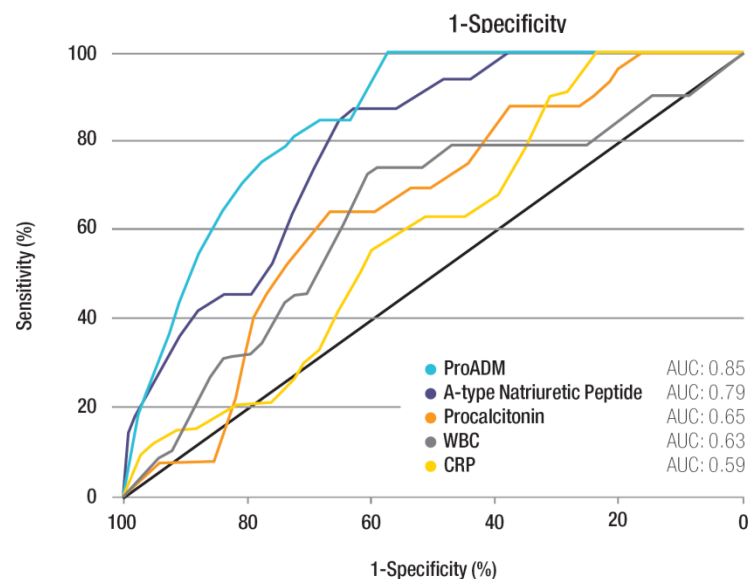
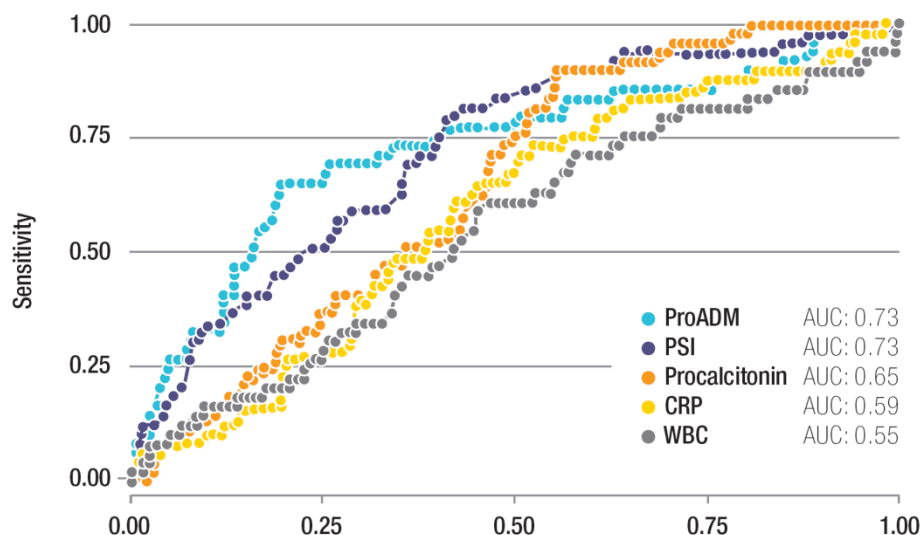
- Адреномедуллин(ADM) играет значительную роль в развитии ИНДП и отражает риски для пациента
- Увеличение уровня ADM не зависит от этиологии заболевания проявляется при различных заболеваниях.
- Уровень ADM строго ассоциирован с риском летальности и различных осложнений → может помочь определить схему лечения.
- Концентрация Про ADM прямо пропорциональна уровню ADM в крови.

Albrich WC 2011, Samson K 1998
 Bello S 2011 Schuetz 2010
 Christ-Crain M 2006 Stolz D 2008
 Kruger S 2010, Struck J 2004
 Maisel A 2011



Sequence of pre-proadrenomedullin (numbers: amino acids) MR: mid-regional; PAMP: N-terminal ProAdrenomedullin fragment
 Caruhel P 2009

ПроADM – исключительная корреляция с тяжестью ИНДП

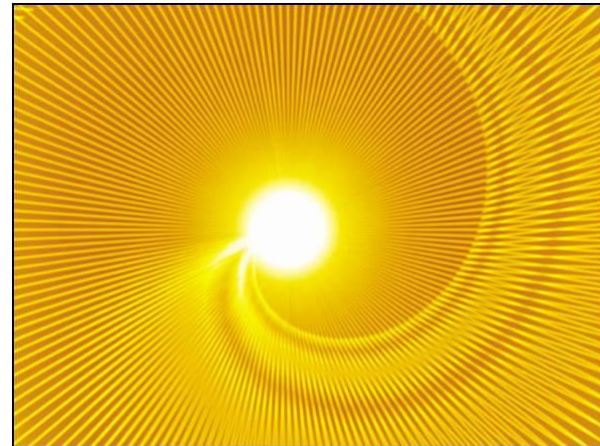
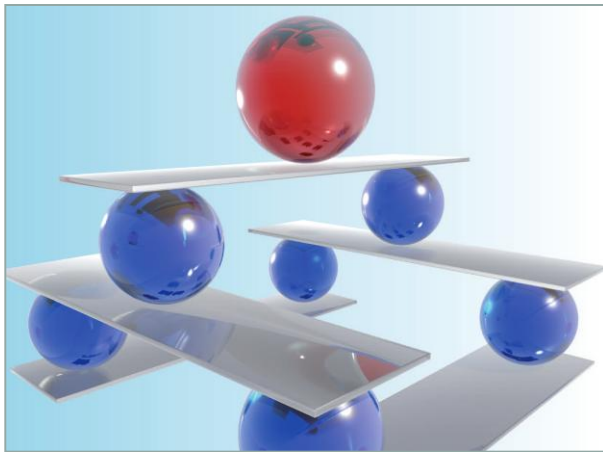


Уровень ПроADM позволяет предсказать осложнения и последствия для пациентов с внебольничной пневмонией и с высокой точностью коррелирует с данными по другим клиническим и лабораторным параметрам (СОЭ, СРБ, ПКТ), (n=306)
Christ-Crain M 2006

По сравнению с другими биомаркерами, проADM проявляет себя с наилучшей стороны в прогнозе смертности, также как и в иных неблагоприятных последствиях в случаях внебольничной пневмонии, ХОБЛ и у пациентов с ИНДП (n=726)
Krüger S 2010

Альянс- ПроADM и ПКТ

«...В ближайшем будущем, новые исследования в области воспалительных процессов и прогностических биомаркеров повлияют на ведение пациентов с ИНДП. Они объединят ПКТ, как биомаркер для прогноза бактериальной инфекции и проADM как лучший прогностический маркер для определения наилучшей адекватной помощи пациентам . Если эти исследования биомаркеров окажутся успешными, а шансы очень велики, то ПКТ и проADM станут стандартом диагностики в области снижения сроков антибиотикотерапии, и ее стоимости, а также снижения затрат на медицинскую помощь.»

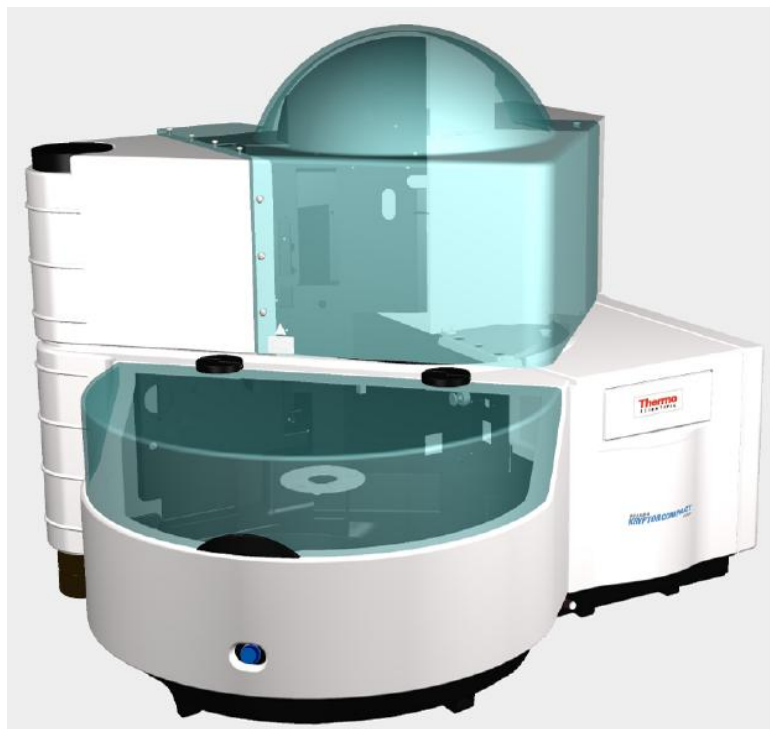


Source: Stefan Krüger, Tobias Welte: Biomarkers in community-acquired pneumonia. Expert Rev Resp Med 2012; 6(2): 203-214. <http://www.medscape.com/viewarticle/761747> (posted: 23 April 2012)

Новые биомаркеры Лабораторные решения



КРИПТОР Компакт Плюс



- ✓ Иммунохимический анализатор нового поколения
- ✓ Реализована TRACE технология
- ✓ Исключительная точность
- ✓ Быстрота
- ✓ Эффективность и легкость

Thermo Scientific B.R.A.H.M.S KRYPTOR
compact PLUS

КРИПТОР Компакт Плюс

Исключительная точность:

- Отличная воспроизводимость внутри- и между- сериями анализов.
- Методика гомогенного анализа исключает этапы промывки и разделения.
- Своевременный сигнал в случае обнаружения пузырей воздуха или частиц в пробе.
-



КРИПТОР Компакт Плюс

Быстрота

- Короткое время инкубации.
- «Умное» разведение проб с концентрациями, лежащими вне диапазона измерений.
- Разведение осуществляется автоматически максимум через пять минут, гарантируя быстрое и эффективное получение результатов, что особенно важно при выполнении «срочных» анализов.
- Режимы «произвольного доступа» и STAT (анализ «срочных» проб).
- Высокая автоматизация: до 800 тестов «на борту».



Спасибо за внимание

Погорецкая Ирина Львовна

Thermo Fisher Scientific

Тел.: (495) 739-7641

Моб.: (926) 532-25-83

Irina.pogoretskaya@thermofisher.com