

C-Reaktif Protein: Klinik Önem, Ölçüm Yöntemlerindeki Gelişmeler, Preanalitik ve Analitik Değişkenlikler

C-Reactive Protein: Clinical Significance, Improvements in Methodology, Pre-Analytical and Analytical Variations

Ali Rıza Şişman

Tuncay Küme

Pınar Akan

Pınar Tuncel

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, İzmir

ÖZET

C-reaktif proteinin (CRP) klinikte kullanım alanı her geçen gün artmaktadır. Özellikle, sağlıklı kişilerde gelecekteki koroner kalp hastalığı (KKH) ve serebrovasküler hastalığın (SVH) etkin bir habercisi olduğunu gösteren çalışmalar ümit vericidir. Klinik kullanım alanındaki gelişmelerle beraber yöntemde de gelişmeler olmaktadır. Günümüzde bir çok CRP ölçüm yöntemi mevcuttur. Ne yazık ki, yöntemler arası uyumsuzluklar önemli bir sorun olup, klinisyenin sonuçları hatalı yorumlamasına neden olabilmektedir. Standardizasyon sağlanır, preanalitik ve analitik değişkenler kontrol edilirse, CRP testinin etkinliği daha da artacaktır. Bu derlemede, CRP'nin değişik özellikleri; yapısı, işlevi, klinik ilişkisi, ilaç tedavisi ile düzeyinin düşürülmesi, yöntemdeki gelişmeler, preanalitik ve analitik değişkenleri sistematik şekilde gözden geçirilmiştir.

Anahtar Sözcükler: C-reaktif protein, yüksek duyarlıklı C-reaktif protein, yöntem, klinik ilişki, preanalitik değişkenlik, analitik değişkenlik, derleme

ABSTRACT

The use of C-reactive protein (CRP) analyses in different fields of clinical practice is increasing each day. In particular, investigations indicating the potency of C-reactive protein as a marker in predicting future coronary heart disease and cerebrovascular disease in healthy people are promising. In parallel with the increasing interest in clinical practice there have been efforts in improving the methods for CRP measurements. Currently, many different methods are available for determining CRP levels. However, it is a very important issue that inconcordance between methods could cause misinterpretation of CRP results by clinician. When methods are standardized, and pre-analytical and analytical variations are controlled, efficiency of CRP testing will be more increased. In this paper, different aspects of CRP, including its structure, function, clinical relations, lowering serum levels by medical treatment, developments in methodology, analytical and pre-analytical variables, are systematically reviewed.

Key Words: C-reactive protein, high-sensitivity C-reactive protein, methods, clinical relations, analytical variations, preanalytical variations, review

I. Yapı ve Biyolojik Özellikleri

CRP, 120 kDa ağırlığında, non-kovalent bağlı, beş özdeş alt birimden meydana gelen, "pentraxin" ailesinden, bir prototip "akut faz proteini"dir. Bu yapısal düzen, serum amiloid A gibi diğer akut faz proteinlerdeki ile benzerlik göstermektedir (1).

Akut faz yanıtında hızlıca yükselmesi, 24-48 saat içinde binlerce kat artabilmesi, hızlıca eski seviyelerine inmesi, diüurnal varyasyon göstermemesi, yaş ve cinsiyet farkı göstermemesi çarpıcı biyolojik özelliklerindedir (2-5).

II. Genetik

İlgili gen, kromozom 1 üzerinde bulunmakta olup; değişik CRP seviyelerine sahip üç adet polimorfizm tanımlanmıştır (6-8). Henüz tanımlanmamış olsa da, genotip spesifik risk gruplaması, gelecekte kardiyovasküler risk taşıyan kişilerin saptanmasında kullanılabilmesi öne sürülmektedir (9).

III. İşlev

Bir infeksiyon ya da inflamasyon belirtici olmasının yanısıra, çok geniş biyolojik özelliğe ve işleve sahiptir. Biyolojik özellikleri, onun bağlanma kapasitesi ve farklılığından kaynaklanmaktadır (10). Bir çok mikroorganizmanın kapsüler polisakkaridi ve çoğu biyolojik zarrın yapısal bileşeni olan fosfokolin (PCh) ile kalsiyum aracılı bağlanma kapasitesine sahiptir (11,12). Kalsiyum aracılı bağlanma ile "CRP-Ca-PCh" kompleksi oluşur. Ligand bağlı CRP kompleksinin C1q tarafından tanınması, C3 konvertaz oluşumunu sağlar ve böylece klasik kompleman yolunu aktive eder (13,14). Klasik yolun aktivasyonu, fosfokolin içeren mikroorganizmaların (15), ölü ve hasarlı konak hücrelerinin fagositozuna yol açar (16-19). CRP'nin patojenleri tanınması, onların klasik kompleman yolu ve fagositik hücreler ile etkisiz hale getirilmesini sağlaması, doğal konak savunmasının ilk hattını oluşturur (20). Son zamanlarda, CRP'nin lipozom ve

lipoproteinlere de bağlandığı, böylece VLDL (çok düşük dansiteli lipoprotein) ve LDL'nin (düşük dansiteli lipoprotein) yapısına girdiği ileri sürülmektedir (21). Yine, CRP'nin okside LDL ve fosfolipidlere bağlandığı, ancak bunların doğal formlarına bağlanmadığı gösterilmiştir (12).

CRP'nin "proaterojenik" özelliğinin olduğu bildirilmektedir. Örneğin, CRP'nin endotel hücrelerini uyararak, adezyon moleküllerinin (adezyon molekülü-1, vasküler adezyon molekülü-1), selektinlerin ve monosit kemotaktik protein-1'in ekspresyonunu artırdığı (22,23); ayrıca endotelial nitrik oksid (NO) sentezini baskıladığı ve NO sentaz mRNA'sını destabilize ettiği bildirilmektedir (24). Nekrotik ve apoptotik doku hücrelerinin temizlenmesini sağlayarak, hasarlı dokunun işlev ve yapısının onarımına katkı sağlamaktadır. Ancak, bağışıklığın diğer elemanları gibi faydalı etkilerinin yanı sıra zararlı etkileri de vardır. Bundan dolayı, CRP, son zamanlarda aterogenez ve miyokard infarktüsünde doku hasarı ile sıkça ilişkilendirilmektedir (25-27).

IV. Klinik İlişki

CRP, KKH ve SVH: Günümüzde, aterosklerozun damarsal bir inflamasyon olduğu görüşü, yaygın olarak kabul görmektedir (28). CRP'nin kardiyometabolik hastalıkların patogeneğinde önemli rol oynadığını gösteren kanıtlar artmaktadır (29). Aterosklerotik damarlarda bulunması, normal damarlarda bulunmaması, CRP'nin yalnızca basit bir inflamasyon belirtici değil; aynı zamanda plak oluşumu, plak olgunlaşması ve yırtılmasını da içeren aterosklerozun tüm basamaklarında aktif bir rol üstlendiğini göstermektedir (25,29). Amerika ve Avrupada yapılan bir çok prospektif çalışmada; dolaşımdaki hs-CRP'nin (yüksek duyarlıklı CRP) sağlıklı kişilerde gelecekte koroner kalp hastalığı (30-35), hipertansiyon (36,37), ani kardiyak ölüm (38) ve serebrovasküler hastalıkların (35,39,40) önemli bir habercisi

olduğu gösterilmiştir. Hatta , CRP'nin KKH risk belirteci olarak geleneksel belirteçlerden daha etkin olduğu ileri sürülmektedir (41,42).

Amerika'daki Hastalık Kontrol ve Önlem Merkezi (Center for Disease Control and Prevention, CDC) ve Amerikan Kalp Birliği (American Heart Association, AHA), CRP'yi kardiyovaskular risk saptanmasında önermektedir: <1, 1-3, >3 mg/L CRP düzeyleri; sırası ile düşük, orta ve yüksek risk gruplarını göstermektedir (43,44). CDC/AHA, gelecekteki KKH riskinin saptanmasında, iki hafta arayla iki ölçüm yapıp bunların ortalamasının kullanılmasını önermektedir. CRP >10 mg/L ise, asemptomatik inflamatuvar cevap veya subklinik enfeksiyon nedeniyle hatalı risk gruplamasına neden olmaması için iki hafta sonra testin tekrarı önerilmektedir (45).

CRP ve hormon replasman tedavisi:

Hormon replasman tedavisinin (tek başına östrojen veya progesterin ile beraber) hs-CRP konsantrasyonlarını artırdığı bildirilmektedir (46,47).

CRP; diyabet, metabolik sendrom ve obezite:

hs-CRP; diyabet (48,49) ve metabolik sendromda (50) klinik olarak prognostik bilgiler vermektedir. Obezitede, hs-CRP'nin artışına adipoz dokudan salgılanan interleukin-6'nın (IL-6) neden olduğu ileri sürülmektedir (51,52). Böylece, kilo verilmesiyle inflamatuvar yanıtın azaltılmasının, KKH riskini azaltacağı düşünülmektedir.

CRP ve böbrek hastalıkları: Glomerüloskleroz, aterosklerozun böbrekte görülen bir özdeşi gibi düşünülmektedir (28). Bu nedenle, CRP ile böbrek işlevlerinde azalma ve erken dönem böbrek hastalığı arasında ilişki olduğunu gösteren çalışmalar (53) artmakla beraber, kanıtlar henüz yeterli değildir.

V. Serum CRP Düzeyleri Nasıl Düşürülebilir ?

Statin tedavisi, CRP seviyelerinin düşürülmesinde bir hayli etkilidir. Büyük ölçekli,

randomize-kontrollü statin tedavisi çalışmalarında; statinlerin kolesterolü düşürmelerinin yanı sıra CRP'yi de düşürdüğü gösterilmiştir (54-58). Ayrıca, statin tedavisinde, CRP'deki düşüşün LDL'deki düşüş ile ilişkili olmadığı; başka mekanizmalardan kaynaklandığı ileri sürülmektedir (59-61).

Aspirinin CRP düzeylerini düşürdüğüne ilişkin çalışmalar mevcuttur. Örneğin, bir randomize prospektif çalışmada (35); günde 350 mg aspirin kullanımının, CRP'si en yüksek kuartilde olanlarda CRP'yi %55.7 düşürdüğü, ancak düşük CRP kuartillerinde daha az etkili olduğu gösterilmiştir.

Fiziksel egzersiz bir çok inflamatuvar belirteç konsantrasyonunun düşürülmesinde faydalı olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (62,63). Bu nedenle, rutin egzersizin antiinflamatuvar etki ile KKH riskini azaltabileceği düşünülmektedir (64).

CRP konsantrasyonu, sigara tüketimine bağlı olarak yükselmektedir (35,65). Ayrıca, sigara kesilmiş olsa bile, geçmişte kullanılan süreyle paralel olarak yüksekliğin hala devam ettiği saptanmıştır. Bunlara ek olarak, sigaranın kendisinin de bir risk faktörü olduğu düşünülürse, **sigaranın kesilmesinin** , CRP'nin düşürülmesi ve KKH riskinin azaltılmasında etkili olacağı açıktır.

VI. Tarihsel Süreçte Metodolojideki Gelişmeler

CRP, ilk olarak 1930'lu yıllarda nonspesifik bir akut faz reaktanı olarak tanımlanmış, uzun bir süre fazla rağbet görmemiş ve 1970'li yıllara kadar, daha çok semikantitatif lateks aglutinasyon yöntemleri ile analiz edilmiştir. 1970'li yıllardan sonra, klasik kullanım alanı olan enfeksiyon ve inflamatuvar hastalıkların takibinde kullanmak için, daha güvenilir olan nefelometrik ve türbidimetrik yöntemler geliştirilmeye başlanmıştır. 1990'lı yılların başından itibaren, aterosklerozun inflamatuvar bir hastalık olduğu düşünülmeye başlandığında (66-69); gözler tekrar CRP'ye çevrilmiştir. Ne yazık ki, KKH risk sınıflan-

dırılmasında kullanılan düzeyler (4 4), halen kabul edilen referans aralık (0-5 mg/L) içinde bulunmaktadır; daha da önemlisi, bu düzeylerin konvansiyonel CRP yöntemleri ile ölçülememesidir. Bu risk düzeylerini ölçebilmek için, üretici firmalar tarafından son yıllarda bir çok ticari hs-CRP yöntemleri piyasaya sunulmaktadır. hs-CRP yöntemleri hızlıca artarken, bunlar zaman zaman kafa karışıklığına da yol açmaktadırlar. Çünkü, yüksek duyarlılık olduğu öne sürülen bazı yöntemlerin, çeşitli çalışmalarda kabul edilen yüksek duyarlılık olma kriterlerine uymadığı bildirilmektedir (70). Ayrıca, mevcut hs-CRP yöntemlerinin genellikle ölçüm aralığı 0-10 mg/L, konvansiyonel olanların ise saptama limiti >3-5 mg/L'dir (71,72); diğer bir deyişle, birincisinin ölçüm aralığı dar, ikincisinin ise saptama sınırı yüksektir. Bu nedenle, klinik laboratuvarlarda; hem KKH riskini saptayabilmek, hem de enfeksiyöz/inflamatuvar hastalıkların izleminde kullanmak için aynı anda iki farklı CRP yöntemine gereksinim duyulmaktadır. Ancak, aynı anda iki yöntemin de kullanılması hem maliyeti artırmakta, hem de kafa karışıklıklarına neden olmaktadır. Eğer bir laboratuvar, iki yöntemi aynı anda kullanıyorsa, hangisinin hs-CRP olduğu konusunda klinisyenleri bilgilendirmesi gerekmektedir; aksi takdirde hatalı yorumlara yol açabilir. Son zamanlarda, epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen veriler doğrultusunda, yüksek duyarlılık bir CRP yönteminin saptama sınırınının 0.15 mg/L gibi çok düşük seviyelerde (referans bireylerin 2.5 persentili) olması gerektiği ileri sürülmektedir (71,72). Ancak, günümüzde halen CRP için "high sensitivite" kriterleri tam olarak tanımlanamamıştır (73).

Beklentimiz, tek bir CRP yönteminin, hem çok düşük seviyeleri (~0.15 mg/L) hem de yüksek seviyeleri (~1000 mg/L) güvenli şekilde ölçebilmesi ve yöntemler arasında standardizasyonun sağlanmasıdır. CDC, piyasada çok farklı yöntemlerin olması ve kalibrasyonda farklı referans materyallerinin

kullanılması nedeniyle, CRP yöntemlerinin dünya çapında standardizasyonu için yoğun çalışmalar başlatmıştır.

VII. Preanalitik Değişkenlikler

Sigara: CRP'yi yükseltir (35, 65).

Egzersiz: CRP'yi düşürür (64).

Açlık-tokluk: CDC, hem açlık hem de tokluk kanının alınabileceğini açıklamıştır. Ancak, tokluk durumundan kaynaklanan serumdaki türbidite, nefelometrik ve türbidimetrik yöntemleri etkileyebileceğinden açlık kanı daha uygundur (74).

Ömek alınma zamanı: IL-6 gibi sitokinlerin tersine diüurnal (2) ve mevsimsel varyasyon (75,76) göstermediği için her hangi bir zamanda alınabilir. Ancak son zamanlarda yapılan bir çalışmada; CRP düzeylerinin mevsimsel değişkenlik gösterdiği, kış mevsiminde yaza göre daha yüksek olduğu da bildirilmektedir (77). Birey-içi ve bireyler-arası değişkenlikle ilgili çok fazla yayın olmamakla beraber Clark ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada bu değerler sırasıyla, %63 ve % 76 bulunmuştur (78).

Etnisite ve cinsiyet farkı: Irk (79) ve cinsiyet (74) farklılıklar göstermediği için, ırk ve cinsiyetler arasında farklı "cut-off" noktalarının kullanılmasına gerek yoktur.

Ömek tipi: Serum ve plazma kullanılabilir. Ancak, serum ve plazma arasında bazı uyumsuzluklar olduğu değişik çalışmalarda bildirilmiştir. Leude ve ark. (80) yaptıkları bir çalışmada; EDTA (etilen diamin tetra-asetik asid) ve sitratın seruma göre sırası ile %12 ve %16 oranında daha düşük CRP sonuçlarına yol açtığını göstermişlerdir. Her ne kadar CDC/AHA raporunda (44) serum-plazma, heparin-EDTA arasında bir fark olmadığı belirtilse de, bunun aydınlatılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sıcaklık ve saklama koşulları: Örneklerin -20 °C'nin altında dondurularak saklanması gerekmektedir.

VIII. Analitik Değişkenlikler

Kullanılan CRP ölçüm yöntemi: CRP sonuçlarındaki farklılıklar kullanılan yöntemlerden kaynaklanabilir. Mevcut yöntemler üç grupta incelenebilir: Konvansiyonel, hs-CRP ve kardiyak CRP.

Konvansiyonel CRP: Klasik olarak enfeksiyon hastalıkları, doku hasarı ve inflamatuvar hastalıkların izlenmesinde kullanılan; ancak, KKH ve SVH riskinin saptanmasında kullanılamayan, saptama sınırı $>3-5$ mg/L olan yöntemlerdir (71,72).

hs-CRP: Sağlıklı kişilerdeki inflamasyonu gösterebilen ve KKH riskinin gösterilmesinde kullanılabilen, saptama sınırı <1 mg/L olan, duyarlılığı yüksek olan yöntemlerdir (44,71).

Kardiyak CRP: Duyarlılığı hs-CRP gibi olan; ancak, klinik çalışmalar ile kardiyak risk sınıflandırılmasında kullanılabileceği onaylanmış yöntemlerdir (81). Şu ana kadar bu amaçla Amerika'da FDA onayını yalnızca nefelometrik "Dade-Behring BN II" yöntemi almıştır (70).

Saptama sınırı: Bir hs-CRP yönteminin 0.15 mg/L gibi çok düşük seviyeleri ölçebilmesi ve ölçüm aralığı boyunca CV'nin $<10\%$ olması gerektiği ileri sürülmektedir (71,72).

Tekrarlanabilirlik: Antijen ilgisi, dilüsyon, analizör ve kullanıcı performansına bağlı olarak değişir (74).

"Curve-fitting" algoritmaları: Değişik tipte kalibrasyon modellerinin kullanılması farklı sonuçlara yol açabilir (74). Genellikle çok noktalı kalibrasyonlar iki noktalı olanlara göre daha doğru sonuçlar vermektedir (82).

"Antigen excess": Işık-saçılmasına dayanan yöntemlerde, antijen fazlalığı durumunda, yeterince antijen-antikor kompleksi oluşmadığından düşük sinyaller alınmaktadır (74).

Matriks etkisi: Matriks etkisi, yöntemler arasında sabit farka yol açmaktadır. Örneğin, Robert ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada;

dokuz farklı CRP yöntemi arasında 0.5 mg/L düzeylerinde (-) 31% ile (+) 28% arasında değişim saptamışlar ve bunun farklı matrikse sahip kalibratörlerin kullanılmasından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir (70).

Kullanılan referans materyalleri ve transfer protokolleri: hs-CRP yöntemlerinin çoğunluğu; 1986 yılında yayınlanan "WHO 1st International Reference Preparation for C-reactive Protein Immunoassay (85/506)" (83) veya 1993'te yayınlanan Certified Reference Material 470 (CRM 470) (84) transfer protokollerine göre kalibre edilmektedir. CRM 470, WHO IRP 85/506'den yararlanılarak türetilmiştir (85,86).

Son zamanlarda, CDC standardizasyon komitesi, faz II standardizasyon çalışmaları için CRM 470'in uygun bir aday olduğunu kabul etmiştir (87). Böylece, CRM 470'in gelecekte standardizasyon çalışmalarında kullanılarak, CRP yöntemleri arasındaki farkın azalacağı beklenmektedir. CRM 470'in avantajları; dünya çapında yaygın kullanılması, çok stabil olması, romatoid faktör, lipidler ve monoklonal proteinler gibi interferans oluşturmaya maddeleri içermemesidir (88). Dezavantajı ise içerdiği CRP'nin 39 mg/L gibi yüksek düzeylerde olması (87); hs-CRP düzeylerine inebilmek için yapılan dilüsyonların hatalı sonuçlara neden olabilmesidir.

IX. CRP Sonuçlarının Yorumlanması

- o Referans aralığı: <5 mg/L.
- o KKH risk gruplaması: <1 , $1-3$, >3 mg/L; sırası ile düşük, orta ve yüksek risk (43, 44).
- o >10 mg/L: Enfeksiyon, inflamasyon, otoimmün hastalıklar, yanık, sepsis vb. durumlarda (3).
 - o $10-40$ mg/L: Hafif inflamasyon ve viral enfeksiyonlarda,
 - o $40-200$ mg/L: Aktif inflamasyon ve bakteriyel enfeksiyonlarda,
 - o >200 mg/L: Şiddetli bakteriyel enfeksiyonlarda ve yanıklarda görülmektedir.

Özetle, CRP, sıradan bir inflamatuvar belirteç olmaktan ziyade, gelecekteki KKH ve SVH'in habercisi olmaya doğru hızla ilerlemektedir. Bu heyecan verici gelişmeler olurken, yöntemler arası uyumsuzluklar ve mevcut bazı hs-CRP yöntemlerinin istenilen kriterleri karşılayamaması önemli sorunlar yaratabilmektedir. Yöntemler arasında standardizasyon sağlanır, hem KKH risk gruplandırılmasında kullanılan düşük düzeyleri ölçebilecek kadar yüksek duyarlıklılı, hem de inflamasyonlarda görülebilecek düzeyleri ölçebilecek kadar doğrusallığı yüksek yöntemler geliştirilebilirse CRP testinin etkinliği daha da artacaktır.

Standart dışı kısaltmalar : CRP, C-reaktif protein; hs-CRP, yüksek duyarlıklılı C-reaktif protein; KKH, Koroner Kalp Hastalığı; SVH, Serebrovasküler Hastalık; CDC, Centers for Disease Control and Prevention; AHA, American Heart Association.

KAYNAKLAR

1. Pepys MB. C-reactive protein fifty years on. *Lancet* 1981; 1: 653-7.
2. Meier-Ewert HK, Ridker PM, Rifai N, Price N, Dinges DF, Mullington JM. Absence of diurnal variation of C-reactive protein concentrations in healthy human subjects. *Clin Chem* 2001; 47: 426-30.
3. Clyne B, Olshaker JS. The C-reactive protein. *J Emerg Med* 1999; 6: 1019-25.
4. Gabay C., Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999; 340: 448-54.
5. Dong Q, Wright J.R. Expression of C-reactive protein by alveolar macrophages. *J Immunol* 1996; 156: 4815-20.
6. Zee RY, Ridker PM. Polymorphism in the human C-reactive protein (CRP) gene, plasma concentrations of CRP, and the risk of future arterial thrombosis. *Atherosclerosis* 2002; 162: 217-19.
7. Szalai AJ, McCrory MA, Cooper GS, Wu J, Kimberly RP. Association between baseline levels of C-reactive protein (CRP) and a dinucleotide repeat polymorphism in the intron of the CRP gene. *Genes Immun* 2002; 3: 14-19.
8. Brull DJ, Serrano N, Zito F, Jones L, Montgomery HE, Rumley A, et al. Human CRP gene polymorphism influences CRP levels: implications for the prediction and pathogenesis of coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 2063-69.
9. Verma S, Szmitko PE and Ridker PM. C-reactive protein comes of age. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2005; 2: 29-36.
10. Ablij H, Meinders A. C -reactive protein: history and revival. *Eur J Intern Med* 2002;13: 412-22.
11. Volanakis JE, Kaplan MH. Specificity of C-reactive protein for choline phosphate residues of pneumococcal C-polysaccharide. *Proc Soc Exp Biol Med* 1971; 136: 612-14.
12. Chang MK, Binder CJ, Torzewski M, Witztum JL. C-reactive protein binds to both oxidized LDL and apoptotic cells through recognition of a common ligand: Phosphorylcholine of oxidized phospholipids. *PNAS* 2002; 20: 3043-48.
13. Agrawal A, Shrive AK, Greenhough TJ, Volanakis JE. Topology and structure of the C1q-binding site on C-reactive protein. *J Immunol* 2001; 166: 3998-4004.
14. Wolbink GJ, Brouwer MC, Buysmann S, ten Berge IJ Hack CE. CRP-mediated activation of complement in vivo. Assessment by measuring circulating complement-C-reactive protein complexes. *J Immunol* 1996; 157: 473-9.
15. Gershov D, Kim S, Brot N, Elkon KB. C-reactive protein binds to apoptotic cells, protects the cells from assembly of the terminal complement components, and sustain an anti-inflammatory innate immune response: implications for systemic autoimmunity. *J Exp Med* 2000; 192: 1353-63.
16. Marnell LL, Mold C, Volzer MA, Burlingame RW, Du Clos TW. C-reactive protein binds to Fc gamma RI in transfected COS cells. *J Immunol* 1995; 155: 2185-93.
17. Bharadwaj D, Stein MP, Volzer M, Mold C, Du Clos TW. The major receptor for C-reactive protein on leukocytes is Fc gamma receptor II. *J Exp Med* 1999; 190: 585-90.
18. Gewurz H, Zhang XH, Lint TF. Structure and function of the pentraxins. *Curr Opin Immunol* 1995; 7: 54-64.
19. Mold C, Gewurz H, Du Clos TW. Regulation of complement activation by C-reactive protein. *Immunopharmacology* 1999; 42: 23-30.
20. Hoffmann JA, Kafatos FC, Janeway CA, Ezekowitz RA. Phylogenetic perspectives in innate immunity. *Science* 1999; 284: 1313-18.
21. Bienvenu J, Whicher JT, Aguzzi F. C-reactive protein. In: Ritchie RF, Navolotskaia O, eds. *Serum proteins in clinical medicine*. Portland, ME: Maine Printing Group, 1996: 7.01.01-7.01.06.
22. Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation* 2000; 102: 2165-2168.

23. Pasceri V, Cheng JS, Willerson JT, Yeh ET. Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. *Circulation* 2001; 103: 2531-2534.
24. Verma S, Wang CH, Li SH, Dumont AS, Fedak PW, Badiwala MV, et al. A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation* 2002; 106: 913-919.
25. Torzewski M, Rist C, Mortensen RF, Zwaka TP, Bienek M, Waltenberger J, et al. C-reactive protein in the arterial intima: role of C-reactive protein receptor-dependent monocyte recruitment in atherogenesis. *Arterioscler. Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 2094-99.
26. Zwaka TP, Hombach V, Torzewski J. C-reactive protein mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis. *Circulation* 2001; 103: 1194-97.
27. Griselli M, Herbert J, Hutchinson WL, Taylor KM, Sohail M, Krausz T, Pepys MB. C-reactive protein and complement are important mediators of tissue damage in acute myocardial infarction. *J Exp Med* 1999; 190: 1733-39.
28. Ross R. Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-26.
29. Verma S, Szmítko PE, Ridker PM. C-reactive protein comes of age. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2005; 2(1): 29-36.
30. Koenig W, Sund M, Frohlich M, Fischer HG, Lowel H, Doring A, et al. C-reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation* 1999; 99: 237-42.
31. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med* 2002; 347: 1557-65.
32. Van Der Meer IM, De Maat MP, Hak AE, Kiliaan AJ, Del Sol AI, Van Der Kuip DA, et al. C-Reactive Protein Predicts Progression of Atherosclerosis Measured at Various Sites in the Arterial Tree: The Rotterdam Study. *Stroke* 2002; 33: 2750-55.
33. Pai JK, Pischon T, Ma J, Manson JE, Hankinson SE, Joshipura K, et al. Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women. *N Engl J Med* 2004; 351: 2599-610.
34. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med* 2004; 350: 1387-97.
35. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997; 336: 973-79.
36. Blake GJ, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. Blood pressure, C-reactive protein, and risk of future cardiovascular events. *Circulation* 2003; 108: 2993 - 99.
37. Sesso HD, Buring JE, Rifai N, Blake GJ, Gaziano JM, Ridker PM. C-reactive protein and the risk of developing hypertension. *JAMA* 2003; 290: 2945-51.
38. Albert CM, Ma J, Rifai N, Stampfer MJ, Ridker PM. Prospective study of C-reactive protein, homocysteine, and plasma lipid levels as predictors of sudden cardiac death. *Circulation* 2002; 105: 2595-99.
39. Ridker PM, Buring JE, Shih J, Matias M, Hennekens CH. Prospective study of C-reactive protein and the risk of future cardiovascular events among apparently healthy women. *Circulation* 1998; 98: 731-33.
40. Rost NS, Wolf PA, Kase CS, Kelly-Hayes M, Silbershatz H, Massaro JM, et al. Plasma concentration of C-reactive protein and risk of ischemic stroke and transient ischemic attack: the Framingham study. *Stroke* 2001; 32: 2575-79.
41. Ridker PM, Glynn RJ, Hennekens CH. C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. *Circulation* 1998; 97: 2007-11.
42. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-Reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000; 342: 836-43.
43. Yeh ET, Willerson JT. Coming of age of C-reactive protein: using inflammation markers in cardiology. *Circulation* 2003; 107: 370-71.
44. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3rd, Criqui M, Fadl YY, Fortmann SP, Hong Y, Myers GL, Rifai N, Smith SC Jr, Taubert K, Tracy RP, Vinicor F. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and prevention and the American Heart Association. *Circulation* 2003; 107: 499-511.
45. Rifai N, Ridker PM. Proposed cardiovascular risk assessment algorithm using high-sensitivity C-reactive protein. *Clin Chem* 2001; 47: 28-30.
46. Ridker PM, Hennekens CH, Rifai N, Buring JE, Manson JE. Hormone replacement therapy and increased plasma concentration of C-reactive protein. *Circulation* 1999; 100: 713-6.

47. Cushman M, Legault C, Barrett-Connor E, Stefanick ML, Kessler C, Judd HL, et al. Effect of postmenopausal hormones on inflammation-sensitive proteins: the Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Study. *Circulation* 1999; 100: 717-22.
48. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin-6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2001; 286: 327-34.
49. Schram MT, Chaturvedi N, Schalkwijk C, Giorgino F, Ebeling P, Fuller JH, et al. Vascular risk factors and markers of endothelial function as determinants of inflammatory markers in type 1 diabetes: the EURODIAB Prospective Complications Study. *Diabetes Care* 2003; 26: 2165-73.
50. Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14 719 initially healthy American women. *Circulation* 2003; 107: 391-7.
51. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA* 1999; 282: 2131-5.
52. Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, Coppack SW. C-Reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 972-8.
53. Stuveling EM, Bakker SJ, Hillege HL, de Jong PE, Gans RO, de Zeeuw D. Biochemical risk markers: a novel area for better prediction of renal risk? *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 497-508.
54. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks F, Braunwald E. Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. *Circulation* 1999; 100: 230-35.
55. Albert MA, Danielson E, Rifai N, Ridker PM. Effect of statin therapy on C-reactive protein levels: the pravastatin inflammation/CRP evaluation (PRINCE): a randomized trial and cohort study. *JAMA* 2001; 286: 64-70.
56. Kinlay S, Schwartz GG, Olsson AG, Rifai N, Leslie SJ, Sasiela WJ, et al. High-dose atorvastatin enhances the decline in inflammatory markers in patients with acute coronary syndromes in the MIRACL study. *Circulation* 2003; 108: 1560-66.
57. Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Brown BG, Ganz P, Vogel RA, et al; REVERSAL Investigators. Effect of intensive compared with moderate lipid-lowering therapy on progression of coronary atherosclerosis: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 291: 1071-80.
58. Ridker PM; JUPITER Study Group. Rosuvastatin in the primary prevention of cardiovascular disease among patients with low levels of low-density lipoprotein cholesterol and elevated high-sensitivity C-reactive protein: rationale and design of the JUPITER trial. *Circulation* 2003; 108: 2292-97.
59. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks F, Braunwald E. Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. *Circulation* 1999; 100: 230-35.
60. Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Crowe T, Sasiela WJ, Tsai J, Orazem J, et al; Reversal of Atherosclerosis with Aggressive Lipid Lowering (REVERSAL) Investigators. Statin Therapy, LDL Cholesterol, C-Reactive Protein, and Coronary Artery Disease. *N Engl J Med* 2005; 352: 29-38.
61. Plenge JK, Hernandez TL, Weil KM, Poirier P, Grunwald GK, Marcovina SM, Eckel RH. Simvastatin lowers C-reactive protein within 14 days: an effect independent of low-density lipoprotein cholesterol reduction. *Circulation* 2002; 106: 1447-52.
62. Manson JE, Hu FB, Rich-Edwards JW, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, et al. A prospective study of walking as compared with vigorous exercise in the prevention of coronary heart disease in women. *N Engl J Med* 1999; 341: 650-8.
63. Smith JK, Dykes R, Douglas JE, Krishnaswamy G, Berk S. Long-term exercise and atherogenic activity of blood mononuclear cells in persons at risk of developing ischemic heart disease. *JAMA* 1999; 281: 1722-7.
64. Abramson JL, Vaccarino V. Relationship between physical activity and inflammation among apparently healthy middle-aged and older US adults. *Arch Intern Med* 2002; 162: 1286-92.
65. Danesh J, Muir J, Wong YK, Ward M, Gallimore JR, Pepys MB. Risk factors for coronary heart disease and acute-phase proteins. A population-based study. *Eur Heart J* 1999; 20: 954-9.
66. Munro JM, Cotran RS. The pathogenesis of atherosclerosis: atherogenesis and inflammation. *Lab Invest* 1988; 58: 249-61.
67. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362: 801-9.
68. Alexander RW. Inflammation and coronary artery disease. *N Engl J Med* 1994; 331: 468-9.
69. Nieminen MS, Mattila K, Valtonen V. Infection and inflammation as risk factors for myocardial infarction. *Eur Heart J* 1993; 14: Suppl K: 12-6.
70. Roberts WL, Moulton L, Law TC, Farrow G, Cooper-Anderson M, Savory J, Rifai N. Evaluation of nine automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. Part 2. *Clin Chem* 2001; 47: 418-25.

71. Roberts WL, Sedrick R, Moulton L, Spencer A, Rifai N. Evaluation of four automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. *Clin Chem* 2000; 46: 461-468.
72. Rifai N, Tracy RP, Ridker PM. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. *Clin Chem* 1999; 45: 2136-41.
73. Roberts WL. CDC/AHA workshop on markers of inflammation and cardiovascular disease: Application to clinical and public health practice: Laboratory tests available to assess inflammation-performance and standardization: a background paper. *Circulation* 2004; 110: e572-e576.
74. Ledue T, Rifai N. Preanalytic and analytic sources of variations in C-reactive protein measurement: Implications for cardiovascular disease risk assessment. *Clin Chem* 2003;49:1258-71.
75. Frohlich M, Sund M, Russ S, Hoffmeister A, Fischer HG, Hombach V, et al. Seasonal variations of rheological and hemostatic parameters, and acute phase reactants in young, healthy subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 2692-7.
76. Frohlich M, Sund M, Thorand B, Hutchinson WL, Pepys MB, Koenig W. Lack of seasonal variation in C-reactive protein. *Clin Chem* 2002; 48: 575-7.
77. Sung KC. Seasonal variation of C-reactive protein in apparently healthy Koreans. *Int J Cardiol* 2006; 107: 338-42.
78. Clark GH, Fraser CG. Biological variation of acute phase proteins. *Ann Clin Biochem* 1993; 30: 373-6.
79. Ford ES, Giles WH, Myers GL, Mannino DM. Population distribution of high-sensitivity C-reactive protein among US men: findings from National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2000. *Clin Chem* 2003; 49: 686-90.
80. Ledue TB, Rifai N. High sensitivity immunoassays for C-reactive protein: promises and pitfalls. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39: 1171-6.
81. Guidance for Industry and FDA Staff: Review criteria for assessment of C-reactive protein (CRP), high sensitivity C-reactive protein (hsCRP) and cardiac C-reactive protein (cCRP) assays. September 22, 2005. <http://www.fda.gov/cdrh/oivd/guidance/1246.pdf>
82. Devleeschouwer N, Libeer JC, Chapelle JP, Struway CL, Gyssels C, L'Hoir A, et al. Factors influencing between-laboratory variability of C-reactive protein results as evidenced by the Belgian External Quality Assessment(EQA) Scheme. *Scand J Clin Lab Invest* 1994; 54: 435-40.
83. WHO Expert Committee on Biological Standardization 37th report. WHO Technical Report Series 760. Geneva: WHO, 1987:21-2.
84. Whicher JT, Ritchie RF, Johnson AM, Baudner S, Bienvenu J, Blirup-Jensen S, et al. New international reference preparation for proteins in human serum (RPPHS). *Clin Chem* 1994; 40: 934-8.
85. Baudner S, Bienvenu J, Blirup-Jensen S, Carlström A, Johnson AM, Ward AM, et al. The certification of a matrix reference material for immunochemical measurement of 14 human serum proteins. BCR Publication 92/92. Brussels: BCR, 1992:192 pp.
86. Baudner S, Bienvenu J, Blirup-Jensen S, Carlstrom A, Johnson AM, Ward AM, et al. The certification of a matrix reference material for immunochemical measurement of 14 human serum proteins. CRM 470. Brussels: Community Bureau of Reference, Commission of the European Communities, 1993: 1-172.
87. Kimberly MM, Vesper HW, Caudill SP, Cooper GR, Rifai N, Dati F, et al. Standardization of immunoassays for measurement of high-sensitivity C-reactive protein. Phase I: evaluation of secondary reference materials. *Clin Chem* 2003; 49: 611-6.
88. Baudner S, Haupt H, Hubner R. Manufacture and characterization of a new reference preparation for 14 plasma proteins/CRM 470 = RPPHS lot 5. *J Clin Lab Anal* 1994; 8: 177-90.

Yazışma adresi:

Dr. Ali Rıza Şişman
 Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp fakültesi,
 Biyokimya Anabilim Dalı,
 35340 İnciraltı, İzmir
 Fax: 0 232 259 97 23
 E-posta: aliriza.sisman@deu.edu.tr