

ротової жидкості вище, чем у кареглазых. Содержание гистамина в сыворотке крови и у кареглазых, и у светлоглазых статистически значимо не отличались. Активность триптазы в сыворотке крови у кареглазых пациентов была в 2,16 раза выше, чем у пациентов со светлыми глазами. Данные показатели в слюне статистически значимо не отличались.

В группах пациентов, разделенных по возрасту все показатели биомаркеров в сыворотке крови и ротової жидкості статистически значимо не отличались ($p < 0,05$).

С учетом полученных данных о содержании биомаркеров (адреналина, гистамина, кортизола, триптазы, иммуноглобулина E) в сыворотке крови и слюне, их взаимосвязи с возрастом, полом и фенотипом, необходимо их дальнейшее изучение у стоматологических пациентов для выявления групп риска развития аллергических состояний и профилактики осложнений при данной патологии.

НОВЕ ПОСИЛЕНЕ ЛЮМІНЕСЦЕНТНЕ ОДНОРІДНЕ ІМУНОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ (ALPHALISA) ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ sST2 У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЛЮДИНИ

Настенко Т.А.

Науковий керівник: к.мед.н. Козар В.В.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

Актуальність. В останні роки проводиться активний пошук та вивчення перспективних нових біомаркерів для ранньої діагностики різних хвороб, в тому числі серцево-судинних. Високоінформативний біомаркер дасть можливість персоніфікувати як саму діагностику, так і ризик розвитку ускладнень, а також розробити таргетну терапію.

На сьогодні привертає увагу білок ST2 (Growth stimulation expressed gene 2) – член сімейства рецепторів інтерлейкіну-1 (IL-1), які відіграють центральну роль в регуляції імунної і протизапальної відповідей. Білок ST2 має 2 ізоформи: розчинна форма (sST2), яка циркулює в кровотоці, і мембранозв'язана (ST2L). Функціональним лігандом білка ST2 є IL-33, який продукується, зокрема, фібробластами і має кардіопротекторний ефект. Комплекс ST2 / IL-33, регулює запалення та імунітет. Блокування IL-33 білком ST2 сприяє розвитку ремоделювання, фіброзу та серцевої недостатності. Важливим також є те, що даний маркер підвищується за кілька років до виникнення серцевих нападів, не залежить від функції нирок, корелює із тяжкістю хронічної серцевої недостатності, являється чутливим показником відторгнення трансплантата при пересадці серця, є предиктором несприятливих кардіоваскулярних подій.

Мета роботи. Продемонструвати можливості нового методу визначення розчинної форми білка ST2 в біологічному матеріалі.

Матеріали і методи. Включають дані відкритих публікацій в міжнародних базах даних на інтернет-ресурсі.

Результати і висновки. Сучасними аналітичними методами для визначення sST2 є переважно імуноферментні аналізи (ІФА), серед яких аналіз Presage ST2 (Critical Diagnostics, Сан-Дієго, Каліфорнія, США) є єдиним схваленим FDA та позначеним CE методом, який зараз доступний на ринку. Тим не менше, метод має ряд обмежень, включаючи відсутність узгодженості між платформами, недостатнє захоплення білкових маркерів до прикріплених на поверхні плашок антитіл, відносно великий об'єм проби та тривалий час інкубації, необхідний для утворення комплексу антиген-антитіло. Таким чином, запропонований гетерогенний ІФА вимагає багаторазову та трудомістку інкубацію, кілька циклів промивання, що збільшує час проведення аналізу, впливає на якість результатів та обмежує їх подальше застосування.

Для вирішення цих обмежень розроблено посилений гомогенний імунологічний аналіз люмінесцентного зближення, опосередкованого наночастинками, (AlphaLISA) для кількісного визначення sST2. Це було досягнуто завдяки технології на основі наночастинок європія (Eu), за якої близькість (<200 нм) 2-х типів гранул може призвести до випромінювання світла через хемілюмінесценцію.

AlphaLISA, розроблена на основі люмінесцентного кисневого імунологічного аналізу (LOCI), спрощує процес аналізу та безпосередньо генерує сигнали виявлення, не вдаючись до етапів розділення специфічно зв'язаних мічених елементів.

Технологія AlphaLISA — це метод на основі полімерних кульок з простими, надчутливими та високопродуктивними скринінговими характеристиками. Для аналізу потрібно два типи полімерних кульок: одні з них є донорами, які містять фотосенсибілізатор фталоціанін, інші — акцепторами. Акцепторна частинка містить хемілюмінесцентну сполуку (похідне тіоксена), яка характеризується тим, що ця сполука генерує люмінесцентний сигнал, коли фотосенсибілізатор активований, і донорна і акцепторна частки знаходяться в безпосередній близькості. Отже, донорські кульки містять фотосенсибілізатор фталоціанін, який перетворює навколишній кисень в синглетний кисень при освітленні довжиною хвилі 680 нм. Гранула акцептора знаходиться в цій близькості, енергія передається від синглетного кисню до похідних тіоксена в гранулі акцептора, згодом кульмінацією якої є світлопродукція при 615 нм. За відсутності гранул акцептора синглетний кисень падає до основного стану, і сигнал не виробляється. Коли дві наносфери знаходяться близько один до одного завдяки біологічній взаємодії антиген-антитіло та біотин-стрептавідин, молекули синглетного кисню переносяться на поверхню хемікулів на відстані 200 нм, а потім реагують з похідними тіоксену та Eu посилюючи генерацію випромінювання світла при довжині хвилі 520–620 нм.

Суть проведення дослідження, потрібно суміш із 20 мкл зразка сироватки або стандартів sST2, 20 мкл біотинільованих антитіл та 25 мкл суспензії кон'югованих з антитілами хемікул було додано в планшет із лункою з 96 титрами. Потім планшет інкубували при перемішуванні при 37 °C протягом 15 хв, утворюючи сендвіч з імунокомплексів. Потім додавали 150 мкл (100 мкг/мл) сенсіблетів, покритих стрептавідином, та інкубували в темряві при 37 °C, струшуючи ще 10 хв. Потім, була проведена реакція хемілюмінесценції та інтенсивність сигналу визначали як відносні одиниці світла (RLU), використовуючи

зчитувач LISA. Потім концентрацію sST2 в сироватці розраховували на основі стандартної калібрувальної кривої.

Чутливість AlphaLISA sST2 становить 0,176 нг/мл.

Таким чином, посилений гомогенний імунологічний аналіз люмінесцентного зближення є простим у виконанні, високочутливим і високоспецифічним тестом визначення білку sST2 в біологічному матеріалі.

ОКИСЛИТЕЛЬНО-МОДИФИЦИРОВАННЫЕ БЕЛКИ В ТКАНЯХ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ ПРИ ОЖГОВОЙ БОЛЕЗНИ

Нетюхайло Л.Г.

Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава, Украина

Актуальность. В последние годы есть тенденция роста ожогового травматизма не только в быту, но и вследствие увеличения числа разных катастроф, стихийных бедствий и военных действий. На Украине ежегодно регистрируется, по разным литературным данным, 500-700 тыс. ожоговых больных.

Цель исследования — изучение содержания окислительно-модифицированных белков (ОМБ) в тканях слюнных желез при экспериментальной ожоговой болезни (ЭОБ).

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на крысах-самцах, массой 180-220 г. ЭОБ моделировали по методу Довганского путем погружения задней конечности экспериментальных животных в горячую воду (t 70-75⁰С) под легким эфирным наркозом, на протяжении 7 сек. Размер участка повреждения определяли в зависимости от площади кожного покрова, которая в среднем составляла 12-15% поверхности тела животных. Площадь поражения рассчитывали с помощью специальной таблицы Н.И. Кочетыгова. При вышеупомянутых условиях образовывался ожог III А-Б степени, что согласно современным представлениям, является стандартной моделью развития ожоговой болезни в эксперименте. Крыс декапитировали под эфирным наркозом на 1-е, 7-е, 14-е, 21-е, 28-е сутки, которые соответствуют стадиям шока, токсемии и септикотоксемии.

Результаты и выводы. Установлено, что при ЭОБ содержание ОМБ увеличилось по сравнению с контролем в 2 и более раза ($p < 0,05$) во все исследуемые сроки, что свидетельствует о развитии эндотоксемии при ЭОБ. Эндотоксемия — ведущее звено в патогенезе ожоговой болезни, она развивается с первых часов после ожоговой травмы и сопровождает все без исключения стадии болезни, определяя ее результат. В условиях интоксикации и чрезмерного накопления ОМБ процессы их выведения значительно затруднены. ОМБ вызывает следующие изменения белковой молекулы: фрагментацию, агрегацию, протеолиз. Вследствие чего образуются продукты с высокой функциональной активностью, происходит инактивация активных центров ферментов, или модификация белковых молекул.

Таким образом, при экспериментальной ожоговой болезни значительно повышается уровень окислительно-модифицированных белков в слюнных железах, особенно в стадии шока и токсемии.