

ІМУНОХІМІЧНІ І НЕІМУНОХІМІЧНІ МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ ГОРМОНІВ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ

Бенарафа Ібрахім Амін

Науковий керівник: доц. Сенюк І.В.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

Aminebenarafa@gmail.com

З метою визначення гормонів у крові на сучасному етапі застосовуються різні методики. Кожна методика має свої недоліки і переваги і використовується з максимальною ефективністю. Так, за допомогою біологічних методик, як правило, можна визначити наявність речовини, але не можна зробити його кількісну оцінку. Таку можливість дають кількісні імунохімічні і неімунохімічні методи аналізу.

Одиним з найпопулярніших на сьогодні в ендокринології та онкології методів – це твердофазний радіоімунологічний аналіз (РІА). За допомогою РІА у біологічних рідинах визначають концентрації гормонів, факторів росту, ферментів, аутоантитіл, маркерів злоякісних новоутворень та інших речовин (наприклад, лікарських засобів і наркотиків).

Принцип, який використовується у РІА, поширюється і на інші імунохімічні і неімунохімічні методи аналізу – принцип конкурентного зв'язування. Так, в імуноферментному аналізі (ІФА) замість радіоактивного ізотопу в якості мітки використовують ферменти, а в імунофлюориметричному – флуоресцентні речовини. У неімунохімічних методах роль антитіл виконують реагенти, які специфічно зв'язують досліджувану речовину. Цими реагентами можуть бути рецептори гормонів або зв'язуючі білки плазми.

В основі РІА покладений феномен конкуренції: зв'язування антитіл з антигеном, міченим радіоактивним ізотопом, який пригнічується у присутності неміченого антигену.

Методика РІА включає наступні основні етапи:

- До антитіл додають мічений антиген і пробу (яка містить невідому кількість неміченого антигену). Концентрацію антитіл в реакційній суміші підбирають так, щоб число місць зв'язування було набагато менше загального числа антигенів. Концентрація міченого антигену повинна перевищувати максимально можливу концентрацію антигену у пробі.
- Реакційну суміш інкубують при певній температурі заданий час. Мічений і немічений антигени конкурентно зв'язуються з антитілами, при цьому утворюються імунні комплекси, що містять або мічений, або немічений антиген. Таким чином, до кінця інкубації у реакційній суміші присутні мічені і немічені імунні комплекси, а також вільні мічені і немічені антигени. Кількість мічених імунних комплексів обернено пропорційно кількості немічених антигену в пробі.
- Щоб оцінити кількість утворених мічених імунних комплексів, їх відділяють від решти непов'язаним вільного міченого антигену.
- Визначають концентрацію антигену у пробі за калібрувальною кривою. Для її побудови використовують декілька стандартних калібрувальних розчинів

з відомими концентраціями немічених антигенів.

Розроблено безліч варіантів РІА. Методика, описана вище, називається твердофазним РІА. Це порівняно молода методика. Раніше застосовувалася більш трудомістка і довга в постановці Рідкофазний РІА (всі реагенти знаходилися у розчиненому стані). Особливий різновид методу – імунорадіометричний аналіз (ІРМА), в якому використовуються мічені антитіла, на відміну від РІА, де використовуються мічені антигени.

Перевагою практично всіх РІА наборів є проведення аналізу без попереднього розведення аналізованих проб. Таким чином, при досить широкому діапазоні концентрацій які визначаються виключається додаткове джерело.

Слід також врахувати, що ферментативна реакція (ІФА) залежить від температури, часу, рН, якості води, ступеня попадання прямого світла. Тому результати з ІФА досягаються при використанні повністю автоматизованих (у більшості закритих) аналізаторів, що виключають можливі неточності у процесі аналізу.

У даний час, порівнюючи якість отриманих методом РІА результатів, поруч гідний стояти лише хемілюмінесцентний або флуоресцентний аналіз. Головним недоліком хемілюмінесцентних систем є їх орієнтація на закриті автоматичні аналізатори.

Переваги РІА порівняно з іншими біологічними і біохімічними методами:

- висока чутливість, що дозволяє визначати малі кількості речовини
- висока специфічність, зумовлена принципом імунологічних (антиген-антитіл) реакцій;
- висока точність і відтворюваність методу;
- простота виконання аналізу і значна пропускна здатність, що дає можливість проводити без особливих труднощів великі кількості проб;
- відсутність променевого навантаження на хворого.

Аналіз імунохімічних показників дозволяє діагностувати цілий ряд можливих патологій і захворювань:

- оцінити гормональну регуляцію обміну кальцію і фосфору;
- проаналізувати дисбаланс обміну речовин в кістковій тканині (діагностика остеопорозу);
- оцінити гормональну регуляцію функції репродуктивної системи;
- вивчити ендокринну функцію підшлункової залози і діагностувати діабет;
- оцінити роботу гіпофізарно-надниркової системи;
- проаналізувати роботу щитовидної залози;
- діагностувати анемії;
- діагностувати внутрішньоутробні інфекції;
- діагностувати алергії.

Таким чином, роль РІА та інших імунохімічних методів у діагностиці захворювань і у фундаментальних медико-біологічних дослідженнях важко переоцінити. Безсумнівно, при плануванні та отриманні результатів імунохімічних досліджень необхідно мати на увазі всі їхні особливості і ставити діагностичні завдання з урахуванням реальних можливостей методу.