УДК 577.083+612.017+616.097

М. В. Горіла

Дніпропетровський національний університет

ПРОТЕЇНОГРАМИ РІДИН ОРГАНІЗМУ ЛЮДИНИ В НОРМІ ТА ПРИ ПАТОЛОГІЇ

Застосування неінвазивних та імунохімічних методів має велике значення в діагностиці, прогнозі розвитку та контролюванні терапії патологічних змін в організмі людини. Досліджено 135 зразків сироватки крові та 40 зразків слини. Виявлено та проаналізовано тенденції розвитку деяких захворювань.

Noninvasive and immunochemical methods using is very important in diagnosis, development forecast and control of pathological changes in human organism. 135 blood serum and 40 saliva simples were investigated. Same diseases tendencies progress were revealed and analyzed.

Вступ

Досить актуальне на сьогодні питання масового обстеження населення та, разом із цим, введення в клінічну практику доступних і простих методів дослідження. Необхідна умова при цьому – висока специфічність і чутливість методів, ступінь відтворення результатів. А з іншого боку, масове обстеження населення передбачає вибір об'єктивного матеріалу для аналізу. Застосування неінвазивних методів відбирання зразків, їх імунохімічне дослідження набагато розширить і полегшить розв'язання завдань ефективної лабораторної діагностики.

Мета даної роботи – розробити адекватну стратегію дослідження білкового складу рідин організму при масовому обстеженні населення, застосувати для цього сучасний методичний арсенал, при цьому намагаючись досягти максимальної простоти й мінімальної вартості запропонованого скринінгу.

Перспективне впровадження та розвиток методів неінвазивної діагностики. Із переліку сучасних методів, заснованих на оцінюванні морфологічних, біохімічних і генетичних параметрів організму, неінвазивні методи (у точному розумінні) в Україні займають все ще порівняно незначне місце [14; 16; 17].

Значення таких методів, особливо в медицині майбутнього, важко переоцінити. Існує декілька факторів, які сприяють виникненню нових неінвазивних методів:

– розвиток методів «домашньої діагностики»;

– у зв'язку з небезпекою ВІЛ-інфікування та будь-якого іншого інфікування, проколювання шкіри для отримання краплі крові вже не здається зовсім невинною маніпуляцією, незважаючи на одноразові інструменти, які майже без болю дають можливість отримати зразок крові;

– технічний прогрес дозволив мінімізувати пристрої, необхідні для «домашньої діагностики»;

– проведення масових профілактичних обстежень також потребує відмови від взяття крові, бо важко переконати людину, що вважає себе здоровою, у необхідності отримання зразка крові.

У зв'язку з цим неінвазивні методи стають досить перспективними, доступними та простими у сучасних дослідженнях. Наприклад, дослідження слини у наукових і практичних цілях завжди залишає можливість проведення повторних аналізів у разі необхідності постійного контролю за станом здоров'я хворого, спостереження за протіканням хвороби в динаміці. Уже розроблено багато специфічних методів і

© М. В. Горіла, 2006

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Visnik Dnipropetrovs'kogo universitetu. Seriâ Biologiâ, ekologiâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.
Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ekol.
2006. 14(1).
ISSN 2310-0842 print ISSN 2312-301X online
www.ecology.dp.ua

тестів, які за певними особливостями біохімічного складу слини визначають наявність захворювання, інфекції чи запального процесу [13; 18; 19]. Але, крім неінвазивних методів відбору зразків для масових обстежень, необхідна присутність високоспецифічних і чутливих методів аналізу (імунохімічні та радіохімічні методи).

Матеріал і методи досліджень

Відбирання крові проводилось натще. При постановці експерименту використані зразки сироватки крові відносно здорових людей (контроль) та сироватки людей із різними патологічними станами (панкреатит, цироз і хронічний гепатит печінки, цукровий діабет тощо). Для дослідження використовували змішану слину, яку збирали зранку натще після чищення зубів та сполоскування ротової порожнини водою. Збирання слини проводили протягом 15 хвилин. За цей час, як правило, виділялося 4–5 мл слини. У випадках чітко вираженої гіпо- чи гіперсалівації пробу для аналізу не брали. Кількість загального білка у сироватці крові та слині визначалася за методом біуретової реакції (мікроваріант) та за методом Бредфорд (мікроваріант). Кількість сироваткового альбуміну у пробах визначали методом ракетного імуноелектрофорезу, наявність інших білків – методом перехресного імуноелектрофорезу [3; 2; 12; 14; 15]. Статистичну обробку проводили за [11].

Результати та їх обговорення

Актуальність вивчення білків сироватки крові обумовлена їх різноманітністю та важливістю біологічних функцій цих сполук. Сироваткові білки – надзвичайно важливий компонент крові. Саме білки надають крові ті найважливіші якості, які перетворюють її із складного розчину різних речовин у спеціалізовану тканину організму, багатофункціональну та надійно стабілізовану за рядом параметрів [9; 10; 12].

Аналіз сечі – обов'язкова складова частина плану обстеження хворого. На основі аналізу сечі діагностують захворювання нирок: як власне ниркову патологію, так і ураження нирок і сечовивідних шляхів при захворюваннях інших органів. Крім того, використовуючи аналіз сечі, можна запідозрити або підтвердити наявність захворювань печінки, серцевого м'яза, підшлункової залози, діагностувати різні види гепатитів, провести диференціальну діагностику цукрового та нецукрового діабету, визначити тип деяких гормональних порушень тощо [7; 16].

Одна з найдоступніших для дослідження біологічних рідин на сьогодні – слина. Інтерес до неї, як до біологічної рідини і як до травного секрету, значно зріс. За хімічним складом слини можна судити про патологічні зміни в слинних залозах, а також і в інших органах [8]. Вважається доведеним взаємозв'язок змін біохімічного складу слини з розвитком захворювань травної системи [13; 17]. Тому використання слини у лабораторній діагностиці збільшує можливості проведення робіт із метою вивчення нормальної фізіології здорових людей без вікових обмежень і дозволяє здійснювати скринінг-обстеження. Останнє передбачає виявлення хворих і осіб групи ризику (із захворюваннями органів травної та інших систем організму).

Використання слини для проведення різних лабораторних тестів – простіший, безпечніший і економічно вигідніший метод порівняно з використанням крові, особливо при проведенні аналізів у дітей і людей літнього віку [4]. Крім того, відбір слини для аналізів може бути єдиним практично здійсненним методом скринінгу населення певного регіону. Очевидно, що процес відбору слини значно дешевший, простіший та безпечніший, ніж відбір крові, яку традиційно використовують для більшості лабораторних аналізів.

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Visnik Dnipropetrovs'kogo universitetu. Seriâ Biologiâ, ekologiâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.
Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ekol.
2006. 14(1).
ISSN 2310-0842 print ISSN 2312-301X online
www.ecology.dp.ua

Звичайно, слина не може повністю замінити кров у лабораторній діагностиці, але в майбутньому вона може бути успішно використана для діагностики ряду захворювань, особливо у випадках, коли рання постановка діагнозу критична для виживання пацієнта. За рахунок швидкого розвитку технологій кількість ідентифікованих білкових компонентів слини буде збільшуватись, хоча, скоріше за все, ніколи не зрівняється з кількістю білків, що визначають у сироватці крові. Використання крові для аналізів уже давно стало загальноприйнятою практикою, тому для того, щоб ввести аналізи слини в лабораторну практику нарівні з аналізами крові, знадобиться ще деякий час.

Слід згадати також ще дві рідини живого організму: піт та сльози, які теж мають певне майбутнє у плані використання з метою діагностики [7].

Дослідження різних білків за допомогою сучасних імунохімічних методів надає можливість виявити особливості їх організації, механізму функціонування, гомології з іншими білками тощо. Точні та чутливі імунологічні методи аналізу, засновані на специфічному зв'язуванні антитілами даного антигену, не мають собі рівних і широко використовуються у біологічних дослідженнях. Чутливість методів складає від 10^{-6} до 10^{-12} г/л. При цьому не потрібні очищені препарати: вони можуть бути змішаними, перебувати у складі багатокомпонентних систем.

У процесі дослідження використано 24 зразки сироватки крові відносно здорових людей (контроль) та 111 – сироватки крові людей із різними патологічними станами. Усі зразки поділені за статтю людей, які брали участь у дослідженні, а також на три вікові групи: перша – 15–25, друга – 26–45, третя – 46–55 років.

Склад білків сироватки крові здорових людей перебуває в межах норми (65,0–79,0 г/л) і коливається залежно від статі та віку. Концентрація білка в сироватці крові хворих людей значно нижча, ніж у здорових – 40,0–69,0 г/л. Ці коливання, перш за все, залежать від типу захворювання. Зниження вмісту білків може бути викликане гіпопротеїнемією або диспротеїнемією.

У результаті досліджень виявили, що концентрація загального білка в сироватці крові залежить від віку і мало залежить від статі. Видно, що найменша концентрація загального білка в сироватці крові відмічається в період з 15 до 25 років, що можна пояснити впливом загальної перебудови організму у період статевого дозрівання. У віці з 26 до 45 років уміст білка помірно зростає, а після 45 років – помірно зменшується. Зміни у групі 46–55 років можуть бути викликані зниженням резервної здатності біосинтетичних систем. У нормі в сироватці крові міститься 65,0–85,0 г/л білка та 50–60 % альбумінів. Потрібні подальші дослідження, вибірка статистично мала для формулювання остаточних висновків.

Велике значення при розвитку зубнощелепної системи чи її захворюваннях надається змінам складу слини. При цьому особливої важливості набуває визначення її складу та властивостей у осіб із здоровими тканинами порожнини рота та загальним задовільним станом здоров'я. У процесі роботи досліджено 40 зразків слини практично здорових осіб. Методами статистичної обробки результатів встановлена різниця вмісту загального білка серед людей різної статі. Порівняльний аналіз вмісту альбуміну відносно загального білка також не виявив значних статевих розбіжностей, хоча найбільший відсоток загального білка та альбуміну виявлено у жінок, але ця різниця не значна. Концентрація альбуміну не виходить за межі нормальних значень (0,2–0,6 мг/мл), тому необхідності в перехресному електрофорезі немає.

У нормі у слині міститься 0,2–0,4 мг/мл загального білка, 7,6 % альбумінів та 92,4 % глобулінів. У пробах слини патологічної групи дані показники значно змінювалися: зростала кількість альбуміну, зменшувалася кількість глобулінів.

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
Visnik Dnipropetrovs'kogo universitetu. Seriâ Biologiâ, ekologiâ
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.
Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ekol.
2006. 14(1).
ISSN 2310-0842 print ISSN 2312-301X online
www.ecology.dp.ua

Висновок

Розроблено та удосконалено методи імунохімічного дослідження деяких білків у нормі та при різних патологічних станах окремих вікових груп населення, які можуть бути рекомендовані до використання у диференціальній діагностиці та практичній терапії захворювань різних типів, запобіганні хвороб організму людини. Імунохімічні методи можуть мати діагностичне значення при виявленні форм та ступеня важкості, контролі результативності лікування багатьох поширених захворювань, що дає широкі практичні перспективи.

Бібліографічні посилання

1. **Бажанов Н. Н**. Стоматология. – М.: Медицина, 1984. – 425 с.
2. **Базарнова М. А.** Руководство по клинической и лабораторной диагностике. Клиническая биохимия / М. А. Базарнова, В. Т. Морозова. – К.: Вища школа, 1986. – 340 с.
3. **Березин В. А.** Иммунохимические методы анализа / В. А. Березин, Г. М. Шевченко. – Д.: Изд-во ДГУ, 1992. – 156 с.
4. **Біденко М. В.** Особливості клініки, профілактики та лікування карієсу і гінгівіту у дітей з дифузним еутиреоїдним волом. – К., 1997. – 198 с.
5. **Боровский Е. В.** Терапевтическая стоматология / Е. В. Боровский, Ю. Д. Барышева, Ю. М. Максимовский. – М.: Медицина, 1989. – 540 с.
6. **Боровский Е. В.** Биология полости рта / Е. В. Боровский, В. К. Леонтьев. – М.: Медицина, 1991. – 254 с.
7. **Бышевский О. Ш.** Биохимия для врача / О. Ш. Бышевский, О. А. Тересков. – Екатеринбург, Урал. рабочий, 1994. – 484 с.
8. **Гилева О. С.** Биохимия слюны, клиника и профилактика заболеваний слизистой оболочки полости рта (в условиях производственного воздействия табака). – М., 1988. – 84 с.
9. **Карапата А. П.** Диагностический справочник стоматолога. – К.: Здоровье, 1979. – 532 с.
10. **Колода Н. А.** Заболевания пародонта, их профилактика. – К.: Здоровье, 1987. – 444 с.
11. **Лакин Г. Ф**. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 320 с.
12. **Меньшикова В. В**. Лабораторные исследования в клинике. – М.: Медицина, 1987. – 556 с.
13. **Овруцкий Г. Д.** Иммунология гингивита. – К.: Здоровье, 1982. – 398 с.
14. **Персицин М. М.** Современные биохимические методы исследования слюны в стоматологии. – К.: Гос. мед. изд. УССР, 1962. – 400 с.
15. **Северин Г. А.** Большой практикум по биохимии / Г. А. Северин, Г. А. Соловьева. – М.: МГУ, 1989. – 480 с.
16. **Томпсон Р. А.** Последние достижения в клинической иммунологии. – М.: Медицина, 1983. – 320 с.
17. **Яковлева В. И.** Диагностика, лечение и профилактика стоматологических заболеваний / В. И. Яковлева, А. А. Трофимова, Г. П. Просверняк. – Минск, 1994. – 380 с.
18. **IgG subclasses** in human periodontal disease / B. F. Mackler, P. M. Famer, P. Schur et al. – Journal of Periodontal Research. – 1978. – Vol. 13. – P. 433–444.
19. **Mann W. V.** The Identification of protein components in fluid from gingival pokets / W. V. Mann, H. R. Stoffer. – Periodontics. – 1964. – N 2. – P. 263–266.

Надійшла до редколегії 21.11.05.