Дубовская Л.В.[1], Камышников В.С.[2], Яковлев-Малых Н.Н.[2], Свиридов О.В.[1]

Инновационные технологий клинико-лабораторной диагностики острых форм ишемической болезни сердца

[1]УО «Институт биоорганической химии», г. Минск, Беларусь.
[2]ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», г. Минск, Беларусь.

Патология сердечно-сосудистой системы, по данным Всемирной организации здравоохранения, является основной причиной летальных исходов во всём мире.

Благодаря успехам отечественной медицины за последние 10 лет смертность от болезней системы кровообращения (БСК) существенно снизилось (с 788,3 в 2006 г. до 693,7 в 2016 г. на 100 000 населения). Патология сердечно-сосудистой системы занимает первое место (55,2 %) по смертности и инвализации населения в Республике Беларусь в структуре всех болезней неинфекционного генеза.

Цель исследования. Создание реагентной базы определения плазматического ассоциированного с беременностью белка А в сыворотке крови мужчин и небеременных женщин для высокочувствительной модельной иммунофлуориметрической тест-системы «ЛИФМА-ПАББ-А».

Материалы и методы. У мужчин и небеременных женщин плазматический ассоциированный с беременностью белок А (ПАББ-А) в норме определяется в концентрации ≈ 5 мМЕ/л. При различных формах ишемической болезни сердца содержание данного биохимического маркера в среднем выше в несколько раз. Поэтому задачей представленного исследования является разработка чувствительной тест-системы, позволяющей количественно оценивать уровень ПАББ-А в сыворотке крови человека в диапазоне от 1 до 200 мМЕ/л.

Результаты. Определение концентрации указанного белка проводят в одну стадию методом твердофазного лантанидного иммунофлуориметрического анализа (ЛИФМА-ПАББ-А) с использованием пары мышиных моноклональных антител (МАт), направленных к двум пространственно разобщенным антигенным детерминантам. При этом ПАББ-А взаимодействует по одному из двух эпитопов с МАт, модифицированным биотином (Бт) и биоспецифически адсорбированным на поверхности пластика, а по второму эпитопу – с детектирующим МАт, в структуру которого включен хелат иона Eu^{3+}. В результате происходит образование тройного комплекса Бт-МАт...ПАББ-А...Eu^{3+}-МАт. Несвязавшиеся компоненты удаляются шестикратным промы-

Репозиторий БГМУ

ванием. Последующее внесение усиливающего раствора, способствует высвобождению ионов Eu^{3+} из иммунного комплекса и образованию сильно флуоресцирующих хелатов с компонентами раствора. Интенсивность измеренной флуоресценции прямо пропорциональна количеству ПАББ-А в калибровочной пробе или исследуемой сыворотке. Обсчет полученных результатов производят, откладывая в логарифмическом масштабе по оси ординат полученные значения флуоресценции разрешенной во времени в относительных единицах, а по оси абсцисс – концентрации ПАББ-А мМЕ/л в калибровочных пробах.

Калибровочные пробы, которые поставляются в лиофилизованном виде, изготовлены с использованием ПАББ-А, выделенного методом аффинной хроматографии из ретроплацентарной сыворотки, чистота которого по данным СДС-электрофореза в восстанавливающих условиях составляет не менее 90%.

Оптимальный состав матрикса для калибровочных проб, буферных растворов для разведения конъюгата и промывания подтверждается тестами на линейность и открытие, в которых значения концентрации ПАББ-А, полученные в анализе не превышают теоретически рассчитанные более чем на 15 %. Коэффициент вариации значений содержания ПАББ-А в сыворотках крови с низким, средним и высоким уровнем определяемого белка не превышает 8 %.

Обнаружена высокая степень корреляции результатов, полученных с использованием разработанной модельной тест-системы и электрохемилюминесцентного набора реагентов «PAPP-A» фирмы «Roche» (коэффициент корреляции 0,93, сыворотки 20 пациентов с ИБС).

Выводы. Таким образом, представленная модельная тест-система «ЛИФМА-ПАББ-А» позволяет с высокой воспроизводимостью и точностью измерять концентрацию ПАББ-А в сыворотке крови в норме и при различных патологических состояниях у мужчин и женщин вне беременности с целью исследования содержания данного биохимического маркера и выяснения его прогностической значимости у пациентов с высоким риском развития острых форм ишемической болезни сердца.