



СОЮЗ СОВЕТСКИХ  
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ  
РЕСПУБЛИК

(19) SU (11) 1725128 A1

(51)5 G 01 N 33/534

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ  
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ  
ПРИ ГКНТ СССР

# ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

## К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

1

(21) 4762841/14

(22) 22.11.89

(46) 07.04.92. Бюл. № 13

(71) Институт проблем криобиологии и криомедицины АН УССР

(72) В.А.Чуйко, И.Э.Речкиман, Л.Я.Черный, С.Л.Черная, В.Н.Горбенко и И.М.Бондарева

(53) 615.475 (088.8)

(56) Славнов В.Н. Радиоиммунологический анализ в клинической эндокринологии. Киев: Здоровье, 1988, с. 11.

2

(54) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИРОКСИНА В СЛЮНЕ

(57) Изобретение относится к биологии и медицине и может быть использовано в клинической лаборатории. Целью изобретения является упрощение способа и расширение его универсальности за счет использования любой тест-системы для определения тироксина. Слюну подвергают сублимационной сушке при  $(-25) - (30)^{\circ}\text{C}$  до остаточной влажности 0,5%. Сухой остаток растворяют в воде и проводят радиоиммунологический анализ с использованием стандартного набора для определения тироксина в крови.

Изобретение относится к биологии и медицине и может быть использовано в клинике и научно-исследовательских лабораториях.

Целью изобретения является упрощение способа и расширение его универсальности за счет использования любой тест-системы для определения тироксина.

Для этого в способе определения тироксина в слюне, включающем обработку пробы и ее радиоиммунологический анализ, слюну обрабатывают путем сублимационной сушки до остаточной влажности 0,4-0,6 %.

Способ осуществляют следующим образом.

Слюну объемом не менее 4 мл помещают во флаконы и подвергают сублимационной сушке при  $(-25) - (30)^{\circ}\text{C}$  до остаточной влажности 0,4-0,6%. Сухой остаток растворяют в 0,5 мл воды. Определение  $T_4$  производят при помощи стандартного набора реактивов для определения тироксина в крови. Рассчитывают по формуле

$$[T_4] = \frac{V_2 \cdot [T_4]}{V_1},$$

где  $[T_4]$  – содержание тироксина, найденное из калибровочного графика.

$V_2$  – объем, в котором растворен сухой остаток после сублимации;

$V_1$  – объем исследуемой слюны.

Применяемая лиофильная сушка позволяет сократить время подготовки к определению до 8-10 ч по сравнению с 10 неделями в прототипе. Кроме того, определение тироксина в сконцентрированной слюне становится доступным с использованием стандартных наборов.

Сушка проводится до остаточной влажности 0,4-0,6 %.

Аппаратура для сублимационной сушки не позволяет провести упаривание до требуемого объема пробы с точностью, необходимой для радиоиммунологического анализа. Поэтому образец высушивается до сухого остатка.

(19) SU (11) 1725128 A1

В биологических жидкостях тироксин не устойчив, образцы могут храниться не более 2 недель при  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Проведенные исследования показывают, что в данном способе продолжительность хранения проб может быть существенно увеличена и сравнима с таковой для коммерческих препаратов тироксина (L-тироксин 3 г срок хранения), не требуя для сохранности низких температур. Эти факторы позволяют производить накопление материала при массовых обследованиях в полевых и экспедиционных условиях, где нет специализированных изотопных лабораторий.

Приме р. 6 мл слюны, собранной из устья выводного протока околоушной железы с помощью специального устройства помещали в стеклянные флаконы объемом  $45 \times 100$  мл, которые устанавливали в камеры сублимационной сушилки KS - 6 для плазмы крови. Сублимационную сушку проводили в вакууме в интервале температур  $(-25) - (30)^{\circ}\text{C}$  до остаточной влажности 0,5 мас.%. Сухой остаток растворяли в 0,5 мл воды.

Определение тироксина проводили с применением набора РИО-Т - ПГ института биоорганической химии АН БССР следующим образом.

Из растворенного в воде сухого остатка отбирали по 0,25 мл и вносили в аналитические пробирки, входящие в комплект набора РИО-Т<sub>4</sub> - ПГ. Приливали по 0,5 мл раствора антисыворотки, туда же добавляли 0,1 мл раствора  $^{125}\text{I}$ -тироксина и оставляли на 1 ч при комнатной температуре. После этого в пробирки приливали 0,1 мл раствора полиэтиленгликоля и тщательно перемешивали. Пробирки помещали в центрифугу с горизонтальным ротором и центрифугировали в течение 15 мин при ускорении 15000-2000. Надосадочную жидкость сливали в пробирку и помещали в гамма-счетчик для измерения количества импульсов в каждой пробирке в течение 1 мин. По калибровочному графику определяли концентрацию тироксина.

Определение тироксина в слюне проводили у здоровых людей и больных гипертиреозом. Параллельно определяли известным способом.

Результаты приведены в табл. 1.

Из табл. 1 видно, что в обоих способах значения содержания тироксина в слюне согласуются, являясь величинами одного порядка.

Таким образом, предлагаемый способ позволяет определить тироксин в слюне с такой же точностью, как и известный, но при этом он намного проще, что требует меньше затрат труда и времени. Так, в прототипе на приготовление антигена и иммунизацию кроликов требуется 8-10 недель. Процесс же сублимации в данном способе длится 8-10 ч.

В табл. 2 представлена зависимость от открытия тироксина из слюны от остаточной влажности.

Из табл. 2 видно, что процент открытия гормона максимальный при остаточной влажности 0,3-0,6 %, но при 0,3 % влажности ухудшается растворимость осадка, поэтому в качестве оптимального выбран диапазон 0,4-0,6% влажности.

При остаточной влажности выше 0,6% наблюдается уменьшение открытия гормона из слюны, что снижает точность определения.

Положительный эффект изобретения достигается за счет использования сублимационной сушилки для сокращения времени анализа и удлинения срока хранения материала, в известном способе это не достижимо. В прототипе создается новая тест-система, требующая на ее изготовление длительного времени, слюна для исследования не поддается длительному хранению, а должна использоваться сразу после забора.

#### Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Способ определения тироксина в слюне путем добавления специфической антисыворотки к исследуемой пробе с последующей регистрацией реакции антиген-антитело по включению радиоактивной метки, отличающийся тем, что, с целью упрощения способа и расширения его универсальности за счет использования любой тест-системы для определения тироксина, исследуемый материал подвергают сублимационной сушке до остаточной влажности 0,4-0,6%.

Т а б л и ц а 1

Способ	Содержание тироксина, нМ/л		Точность способа (ошибка среднего), %
	Норма	Гипертиреоз	
Предлагаемый n= 10	1,35 + 0,28	10,49 + 1,1	10,4
Известный n= 10	1,10 + 0,07	8,07 + 1,20	14,9

Т а б л и ц а 2

Влажность, %	Открытие тироксина, в % от добавленного
0,7	95,0+ 3
0,6	99,0+ 3
0,5	99,0 +2
0,4	99,2+ 3
0,3	99,0+ 3

Редактор М.Стрельникова      Составитель П.Бонарцев  
 Техред М.Моргентал      Корректор О. Кундрик

Заказ 1172      Тираж      Подписное  
 ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР  
 113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., 4/5

Производственно-издательский комбинат "Патент", г. Ужгород, ул.Гагарина, 101

