



«Токсикологиялық химия» курсы  
СӨЖ

*“Жедел уланудың зертханалық диагнозын анықтауда қолданылатын ХТТ әдістерінің заманауи деңгейі және иммуно-химиялық, иммуно-ферменттік және аспапты экспресс әдістерді қолданудың артықшылықтары”*

Тексерген: Алдибекова Г  
Дайындаған: Тұрғынбаева Ж.  
Тобы: ФА12-003-2

Алматы, 2017 ж.

# Жоспары

*I. Кіріспе*

*II. Негізгі бөлім*

*2.1. Гомогенді иммуноферментті анализ (ИФА)*

*2.2. Поляризациянды флуороиммуноанализ (ПФИА)*

*2.3. Гетерогенді иммуноанализ*

*2.4. Радиоммунды тәсіл*

*III. Қорытынды*

*IV. Қолданылған әдебиеттер тізімі*

# Кіріспе

Биологиялық сұйықтықтардағы (қан, зәр, сілекей) наркотикалық, психотроптық, бас айналдыратын заттардың бар немесе жоқ болуын анықтауға көмектесетін иммунохимиялық әдістер (скрининг – тесттер) өте сезімтал болып келеді. Бұл әдістер өте аз уақыт ішінде зерттелінетін үлкен заттар топтарынан қажетті бір немесе бірнеше заттарды анықтауға мүмкіндік береді. Көбінесе скрининг әдістері бейспецификалық болып табылады. Әдістердің ең негізгі артықшылығы, ол нысанадан заттарды оқшаулады және оларды тазалауда арнайы тәсілдерді қолдануды қажет етпейді.

Иммунохимиялық тәсілдердің негізінде арнайы (спецификалық) ақуызды антиденелердің (антисыворотка) және зерттелінетін зат арасындағы өзара әсерлесуі жатыр. Зерттелінетін зат антиген рөлін атқарады (гаптен). Объектіде неғұрлым зат-антигеннің концентрациясы көп болса, соншалықты антиген-антидене комплекстері пайда болады. Алынған нәтижені детектирлеу үшін, реакция компоненттерінің бірін – гаптенді немесе антиденені арнайы маркермен белгілейді.

*Иммунохимиялық тәсілдер қолданылатын белгі және детектирлеу әдісі бойынша классификацияланады.*

<b>Әдістің атауы</b>	<b>Детектирлеу тәсілі</b>
<i>Радиоиммунды анализ (РИА)</i>	Радиоактивтілік
<i>Иммуноферментті анализ (ИФА)</i>	Ферменттік активтілік
<i>Поляризационды флуороиммуноанализ</i>	Флуоресцентті поляризацияның интенсивтілігі
<i>Люминесцентті иммуноанализ</i>	Люминесценцияның интенсивтілігі

# Иммунохимиялық зерттеулер 4 этаптан тұрады:

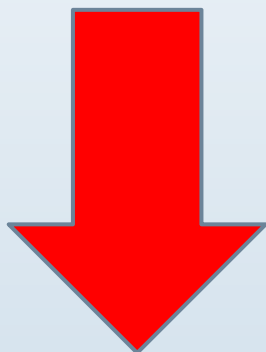
**1 этап.** Препаратқа немесе оның аналогына белгі салу

**2 этап.** Антиденелері бар антисыворотканы қосу, нәтижесінде антидене-белгіленген препарат комплексінің түзілуі.

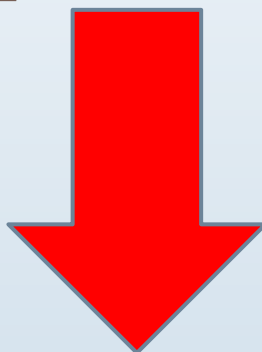
**3 этап.** Зерттелінетін қанды немесе зәрді қосу. Комплекстен білгіленген препарат ығыстырылады, нәтижесінде жаңа комплекс түзіледі. Зерттелінетін зат +антидене

**4 этап.** Радиоактивтіліктің, флуоресценция интенсивтілігі, фермент активтілігін өлшеу.

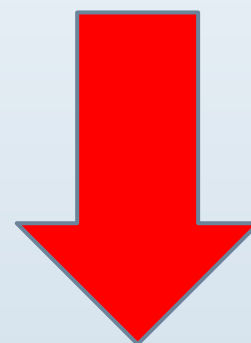
*Токсикологиялық химияда скринингті жүргізу үшін қолданылады:*



*Иммуноферментті анализ*

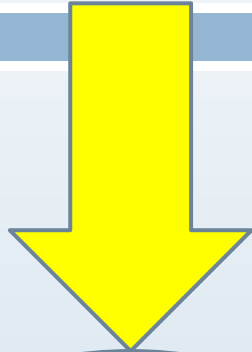


*Радиоиммунды анализ*

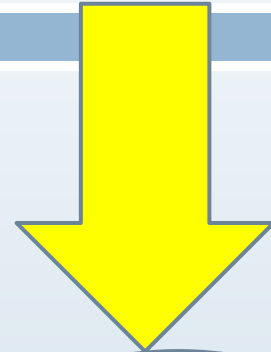


*Поляризонды флуороиммуоанализ*

*Иммунохимиялық анализ әдісінің екі түрі  
қолданылады*



**Гомогенді  
анализ:  
барлық  
компоненттер  
ерітіндіде  
болады**



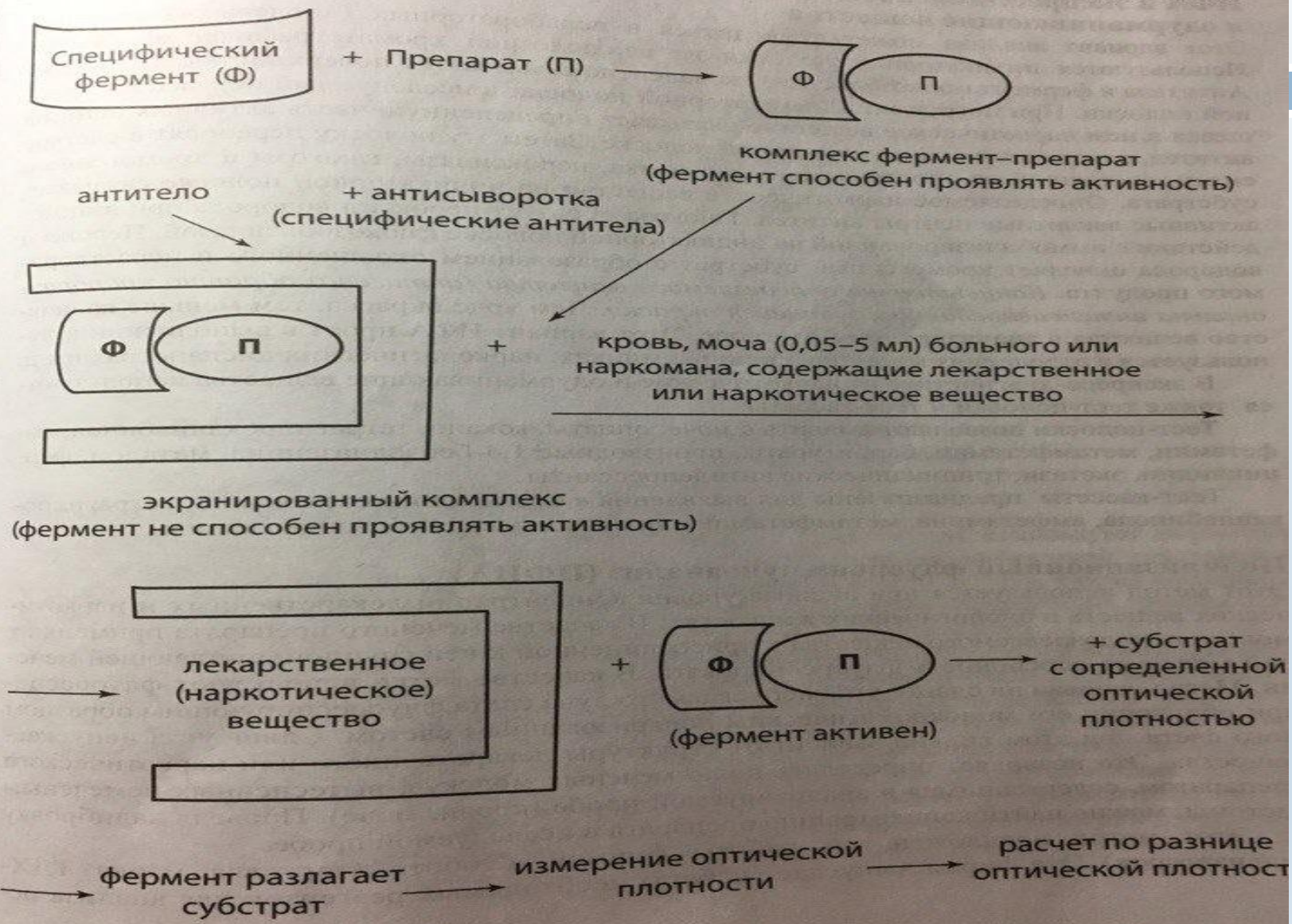
**Гетерогенді  
анализ:  
Барлық  
компоненттер  
центрифугалау  
арқылы  
бөлінеді**



# *Гомогенді иммуноферментті анализ*

- Гомогенді ИФА-да белгі ретінде оксидазаларды қолданады. Олардың арасында ең көп қолданатындары лизоцим, глюкозо -6-фосфатдегидрогеназа, малатдегидрогеназа. Себебі бұл ферменттер хромогенді субстратты тотықтыра алады, нәтижесінде боялған қосылыс пайда болады.
- Биологиялық сұйықтықта ізделінетін заттар жоқ болған жағдайда, боялған қосылыстар түзілмейді. Себебі фермент –препарат антиденемен байланысы үзілмейді де, тотықтыратын қасиеттерді көрсетпейді. Гомогенді анализдің алатын уақыты 1-30 мин. Ізделінетін заттардың  $10^{*}(-4)$  –  $10^{*}(-6)$  г/мл дәрежесіне дейін анықтай алады.

маневры... используемые в анализе антитела – это иммуноглобулины, про-  
дуцируемые лимфоцитами животных (мелкого и крупного рогатого скота) при введении  
им инородных веществ.  
Иммуноферментный метод анализа (ИФА) лекарственных и наркотических веществ  
можно представить следующей схемой:



# *Поляризационды флуороиммуноанализ (ПФИА)*

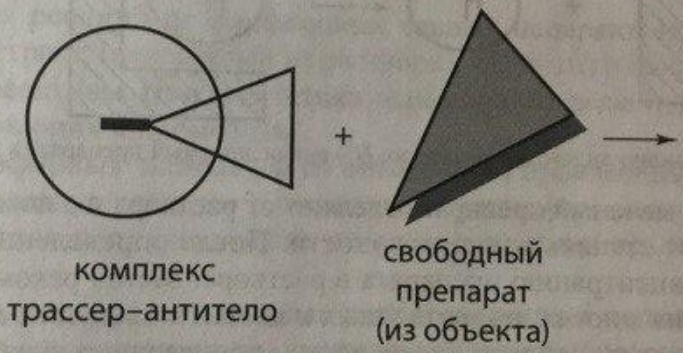
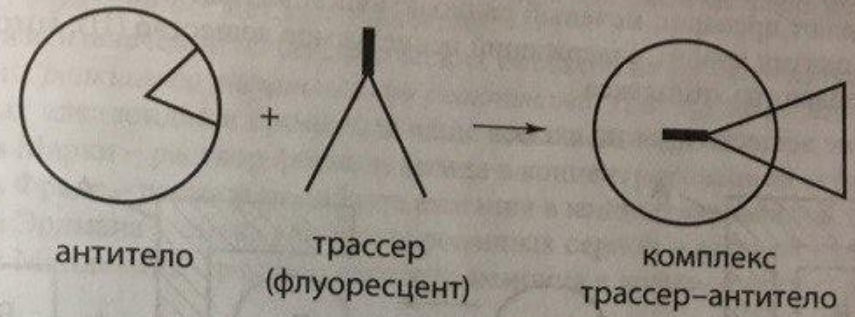
- Бұл әдіс биологиялық сұйықтықтарда ізделінетін дәрілік және наркотикалық препараттардың концентрациясының деңгейін анықтағанда қолданылады.
- Белгіленген препарат ретінде күдік тудыратын молекулаға, белгіленген препаратқа флуоресценция қасиетін беретін топ қосылады. Белгі ретінде флуоресцеин қолданылады. Әдіс бөлінетін сәуленің ығысу бұрышының флуоресцирленетін тәсіліне негізделген, яғни оның монохроматикалық поляризиленген жарықпен сәулелендіру. Бұл кезде ығысу бұрышы дәрілік немесе наркотикалық препараттардың құрамына тікелей байланысты болады.

Сонымен қатар бұл өз кезегінде белгіленбеген препараттармен зерттелінетін сынамада (қан, зәр) белгіленген препараттарды ығыстырған мөлшерін анықтауға мүмкіндік береді. Жүйенің калибровкасын жасау арқылы, зерттелінетін сынамада препараттың концентрациясын анықтауға болады.

Бұл әдіс «Эббот» фирмасымен ұсынылған. Бұл фирма анализ үшін қажетті реагенттер комплектін ұсынады. Реагенттер тырысуға қарсы, антиаритмиялық, наркотикалқ және сонымен қатар опиаттар, барбитураттар, каннабиноидтар, амфетамин, кокаин, эфедриндерді анықтау үшін арналған.

Бұл тәсілдің артықшылықтары : процесс автоматты режимде өтеді, жоғары сезімталдықпен және шамалы спецификалығымен ерекшеленеді.

Поляризационно-флуоресцентный иммуноанализ можно представить следующей схемой:



# *Гетерогенді иммуноанализ*

Бұл әдісте белгі ретінде келесідей ферменттер қолданылады:

- ❖ Пероксидаза
- ❖ В- галактозидазу
- ❖ Фосфатазу

Әдіс жоғары сезімталдықпен ерекшеленеді және зерттелінетін заттардың  $10^{*}(-6) - 10^{*}(-8)$  г/л концентрациясына дейін анықтауға мүмкіндік береді.

Анализға қажетті уақыт 2-4 сағат.

Препарат (антиген) фермент-белгіленген антидененің артық мөлшерімен әсерлеседі. Антиген-антидене комплексінің пайда болуынан кейін, антидененің артық қалған мөлшерін иммуносорбенттің қаттыфазалық түрімен байланыстырып, центрифугалау арқылы жояды. Кейін хромогенді субстратты қосады. Қатты тасушыдағы бекітіліп, антиденемен байланысқан фермент-белгімен өзара әсерлеседі. Егер де зерттелінетін заттың сынамадағы концентрациясы гаптеннің концентрациясынан жоғары болса, центрифугалаудан кейін хромогенді субстрат бояуды түзбейді(оң нәтиже). Бояу түзілген кезінде нәтижемiз терiс болып саналады.

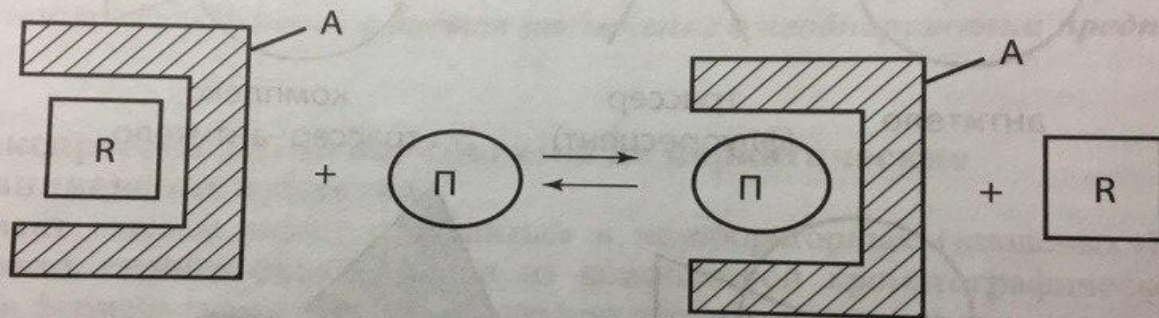
# *Радиоиммунды тәсіл*

Бұл тәсіл гетерогенді әдістерге жатады, себебі антиген-антидене комплексінен белгіленген антигенді ығыстыру үшін бұл комплексті ерітіндіден бөліп алуымыз қажет. Сонымен қатар радиоактивті изотоппен белгіленген препарат қолданылады. Бұл мақсатпен Йод-125, тритий, селенді қолданамыз. Спецификалық антиденеге (А) радиоактивті белгісі бар препаратты (R), кейін комплекстен белгіленген препаратты ығыстыратын, құрамында зерттелінетін затымыз бар зерттелінетін ерітіндіні (зәр, қан, плазма) қосамыз.



теснения меченого антигена из комплекса антиген-антитело необходимо отделить этот комплекс от раствора. В данном методе используют препарат (или его близкую модификацию), меченый радиоактивным изотопом. С этой целью применяют йод-125 ( $^{125}\text{I}$ ) и радиоактивный изотоп водорода – тритий ( $^3\text{H}$ ), иногда селен. К специфическому антителу (А) добавляют препарат, меченый радиоактивной меткой (R), а затем исследуемый раствор (мочу, плазму крови), содержащий исследуемое вещество (П), которое вытесняет меченый препарат из комплекса.

Определение веществ идет по схеме:



*R* – препарат, меченый радионуклидом; *A* – антитело; *П* – анализируемый препарат (в крови, моче).

Освободившийся меченый препарат отделяют от раствора и с помощью специальных приборов определяют степень радиоактивности. После определения радиоактивности можно рассчитать концентрацию препарата в растворе. Метод рекомендуется для обнаружения и определения многих лекарственных и ядовитых веществ в крови и моче (психотропных, гормональных, сердечно-сосудистых, производных барбитуровой кислоты, производных 1,4-бензодиазепина, антидепрессантов, наркотических анальгетиков и др.). Этим методом возможно определение веществ в концентрации в 5–15 раз ниже пороговой.

Босатылып шыққан белгіленген препаратты ерітіндіден бөліп аламыз және арнайы құралдар арқылы радиоактивтіліктің деңгейін тексереміз. Бұдан кейін ерітіндідегі препараттың концентрациясын анықтаймыз. Әдіс қандағы және зәрдегі психотропты, гормональды, жүрек-қан тамырлық, наркотикалық анальгетиктердің, антидепрессанттардың, барбитур қышқылының туындыларын анықтау үшін ұсынылады. Бұл әдіс арқылы сонымен қатар зерттелінетін заттың терапевтикалық дозадан 5-15 есе аз концентрациясын табуға болады.

# *Пайдаланылған әдебиеттер тізімі*

1. М.Д.Швайнов, Токсикологическая химия, «медицина», - М: Москва, 1975 год.
2. Т.Х.Вергейчик, Токсикологическая химия, «МЕДпресс-информ», - М: Москва, 2013 год.
3. Токсикологиялық химия пәні бойынша дәрістер