

Слюна используется у человека и в ветеринарии в качестве биологической жидкости для анализа различных маркеров, таких как электролиты, гормоны, лекарства, антитела. Сбор образцов слюны – это неинвазивная, безболезненная и удобная для пациентов процедура. Собрать образцы слюны можно в любое время, днем и ночью, эту процедуру можно выполнить в обстоятельствах, когда отбор крови невозможен. Таким образом, слюна может быть альтернативой широко используемой сыворотке. При смешивании образцов слюны, собранных в разное время, можно получить надежные результаты по оценке реальной концентрации гормонов, независимо от их суточных колебаний. Диагностика по слюне может быть востребована в таких областях как спортивная медицина, психология, педиатрия, геронтология, ветеринария и других. Измерение концентрации гормонов в слюне дает информацию об уровне биологически активных «свободных» фракций гормонов. Наборы для измерения стероидов в слюне должны быть очень чувствительными, так как концентрации их свободных фракций значительно ниже, чем концентрации общих аналитов в сыворотке. Компания ЗАО «БиоХимМак» предлагает наборы для определения стероидов в форматах LIA и ELISA.

Физиология слюнных желез

Слюнные железы представляют собой систему слепых каналов, окруженных капиллярами и соединительной тканью. Существует несколько механизмов проникновения компонентов крови через мембранный барьер в слюнные каналы: фильтрация, пассивный транспорт липофильных молекул (например, стероидов), активный транспорт через каналы и др. Мембрана служит барьером для молекул с м.м. > 400 Да. Важное значение имеют также структура и полярность молекулы. Поскольку стероидные гормоны – это липофильные молекулы с массой ~300 Да, они сравнительно легко проникают через мембрану слюнных желез.

Значение скорости выделения слюны

Скорость выделения слюны влияет на концентрацию в ней гормонов. Это относится к случаям, когда гормон имеет большую м.м. или если молекула полярна (ионизирована). Концентрации маленьких и неполярных молекул в слюне не зависят от скорости потока.

В связи с этим, диагностически значимым является определение в слюне только тех аналитов, концентрация которых не зависит от скорости образования слюны.

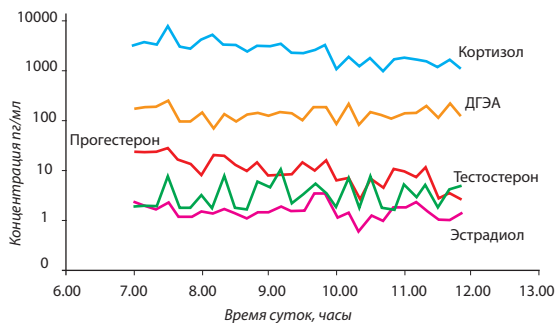
Классический пример – измерение ДГЭА и ДГЭА-С в слюне. Молекулы ДГЭА небольшого размера и неполярные. Вследствие этого свободный ДГЭА беспрепятственно проходит из сосудистой системы в слюну. Поэтому концентрация ДГЭА в слюне отражает уровень именно свободной фракции, присутствующей в крови и, следовательно, активности гормона. ДГЭА-С, напротив, сильно полярно и, таким образом, не может пройти через мембрану. В результате, присутствие в слюне ДГЭА-С чаще всего связано с микрокровотечением (измерение уровней загрязнения образца слюны кровью).

Свободные, связанные и конъюгированные стероиды

Стероиды находятся в крови в конъюгированной и неконъюгированной форме. В конъюгированной форме стероиды могут быть связаны с сульфатами, глюко-

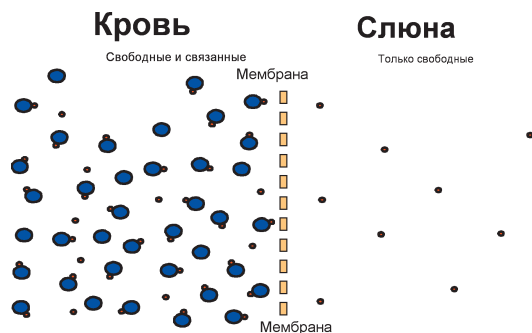
ронидами. Стероиды в неконъюгированной форме чаще всего связаны с различными белками, такими как кортикоидсвязывающий глобулин, SHBG и др. Белок-связанная фракция биологически неактивна и составляет 95-99% от общего количества гормона в плазме или сыворотке. Биологически-активный гормон составляет только 1-5% от общей концентрации. Поэтому любые измерения уровней гормонов в сыворотке или плазме, по сути будут отражать уровни неактивных гормонов.

Суточный профиль стероидных гормонов: женщины, 60 лет



Диффузия свободных стероидных гормонов из крови в слюну

Концентрация свободных гормонов одинакова с обеих сторон мембраны.



Влияние загрязнения кровью

Соотношение концентраций в слюне и сыворотке у стероидов может изменяться от 1:10 у кортизола до 1:100 у тестостерона. Необходимо учитывать, что загрязнение образцов кровью может приводить к ложно позитивным результатам. Очень важно исключить малейшее видимое загрязнение образцов кровью. Следует инструктировать пациентов о непригодности образцов, имеющих малейший красный оттенок. В подобных случаях следует дважды промыть ротовую полость питьевой водой и спустя 10 мин. повторить сбор слюны. В лаборатории образцы подвергаются глубокому замораживанию на сутки, или не менее

чем на 3 ч. Затем их снова размораживают, тщательно перемешивают и 5 мин. центрифугируют до образования прозрачного супернатанта. В противном случае цикл замораживания/размораживания повторяют до тех пор, пока не будет получен необходимый результат, при этом центрифугирование можно продлить до 15 мин. Образовавшийся супернатант внимательно осматривают на белом фоне. Образцы с малейшим красноватым оттенком выбраковываются.

Некоторые преаналитические аспекты

Важно использовать такую систему, которая не разрушала бы исследуемый в слюне аналит и не изменяла бы его концентрацию. В отличие от сыворотки или плазмы уровень аналита в слюне очень низкий. Поэтому его взаимодействие с поверхностью собирающей емкости намного более вероятно. Как упоминалось ранее, исследуемые в слюне аналиты, представляют собой небольшие неполярные молекулы. Такие молекулы могут абсорбироваться пластмассами.

Лучшим материалом является полипропилен, хотя его абсорбционные свойства сильно зависят от чистоты сырья.

Фирмой IBL было внедрено специальное устройство для сбора слюны из сверхчистого полипропилена под названием SaliCap® с абсорбирующей характеристикой ниже 5% даже при низких концентрациях прогестерона в слюне. Система фирмы IBL позволяет пациенту собирать слюну через полипропиленовую соломинку в пробирку SaliCap®. Из-за непродолжительного времени взаимодействия слюны с поверхностью соломинки влияние на исследуемый аналит незначительно.

Собирать образцы можно не ранее, чем через 30 мин. после приема пищи или питья и не ранее 15 мин. после чистки зубов щеткой или полоскания зубным раствором. Образцы слюны стабильны:

- 7 дней при комнатной температуре
- 4 недели при 2-8°C
- длительный период при <-20°C

Такая высокая стабильность делает возможной пересылку образцов слюны обычной почтой.

Спортивная медицина

Диагностика «синдрома перетренированности» остается одной из проблем спортивной медицины. Систематическое наблюдение за текущим состоянием здоровья спортсменов, осуществляемое с помощью стандартных спортивно-медицинских тестов, на сегодняшний день является наиболее чувствительным методом выявления состояния перетренированности.

При использовании в целях диагностики именно слюны свойства самого исследуемого материала способствуют улучшению результатов. В этой ситуации слюна имеет ряд преимуществ. Сбор образцов может быть произведен как в процессе тренировок, так и в периоды отдыха, без участия специального медицинского персонала. Появляется возможность заменить еженедельные или ежемесячные профили на суточные. Есть и множество других веских причин для использования слюны в качестве исследуемого материала при оценке синдрома перетренированности.

Ветеринария

С помощью тест-системы тестостерон-LIA фирмы IBL-Hamburg, без каких-либо дополнительных предварительных обработок или предосторожностей, можно измерить концентрацию стероидных гормонов в слюне любого животного. Этим данный метод выгодно отличается от тех методов, в которых исследуемым материалом является сыворотка. Существует две причины, по которым слюна животных может быть использована для анализа без всяких проблем:

1. Молекулы стероидных гормонов абсолютно идентичны у любого животного.
2. Разница в составе белков в исследуемых образцах слюны незначительна и нет необходимости проводить дополнительную экстракцию.

Приборы для люминесценции

Хемилюминесцентные наборы примерно в 10 раз более чувствительны, чем иммуноферментные. Наборы IBL основаны на использовании метода тлеющей люминесценции, сигнал можно измерять в течение 30 мин. после добавления субстрата. Такая технология позволяет проводить измерения на уровне пикограммов.

На нашем рынке представлены несколько производителей люминометров. Одним из лучших

является компания Anthos Labtec Instruments из Австрии с их комбинированными фотометрами-люминометрами Lucy 2 и Lucy 3, а также новыми многофункциональными детекторами Zenyth 1100 и Zenyth 3100. • Последние совмещают в себя функции оптического ридера, люминометра и флуориметра. Более подробная информация о приборах размещена на сайте www.anthos-labtec.com

Информация о имеющихся наборах для определения стероидов в слюне приведена в соответствующих главах каталога: тестостерон в главе «Андрогенные гормоны», кортизол – «Гормоны коры надпочечников», прогестерон – «Фертильность и репродукция», мелатонин – «Маркеры повреждения мозговой ткани». Подробно об исследовании гормонов в образцах слюны можно прочитать в соответствующей брошюре.

Антимикробные пептиды в слюне

Слюна человека содержит большое количество соединений, которые защищают ткани ротовой полости от различных микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности. Стабильное и постоянное поступление слюны, которая осуществляет интеграцию мягких и твердых тканей в полости рта, обеспечивает не только поддержание орального гомеостаза и эффективное удаление эндо- и экзогенных микроорганизмов и их метаболитов, но и постоянное присутствие в полости рта различных защитных факторов.

α-дефензины

Дефензины представляют собой небольшие богатые цистеином пептиды, обладающие антимикробной активностью. В слюне здоровых лиц можно обнаружить HNP1-3. При различных

NEW

Антимикробные пептиды в слюне

Пептид	Происхождение	Роль/комментарий	Микроорганизмы-мишени
α-дефензины HNP 1-4	Нейтрофилы, десневая борозда, сайты воспаления, клетки слюнных протоков	Антибактериальная, противовирусная, антигрибковая активность. Присутствуют в гингивальной кревikuлярной жидкости	<i>C. albicans</i> , ВИЧ, <i>S. mutans</i>
LL-37	Нейтрофилы, десневая борозда, слюнные железы и протоки	Преимущественно антибактериальная активность	<i>S. mutans</i> , <i>F. nucleatum</i> , <i>A. actinomycetemcomitans</i> , <i>Capnocytophaga sputigena</i>
β-дефензины hBD1, hBD2, hBD3	Эпителий, слюнные протоки	Антибактериальная, противовирусная, антигрибковая активность. Элемент защитной барьерной функции эпителия	hBD1: антибактериальная активность; hBD2, hBD3: <i>S. mutans</i> , <i>F. nucleatum</i> , <i>S. sanguis</i> , <i>P. gingivalis</i> , <i>C. albicans</i> , ВИЧ
гистатины	слюнные железы/протоки	Антигрибковая активность	<i>C. albicans</i>

• см. также: главу «Оборудование для ИФА», стр. 466

заболеваниях полости рта (плоский лишай, лейкоплакия, воспаление, плоскоклеточная карцинома) концентрация этих пептидов в слюне значительно возрастает. Низкий уровень HNP1-3 в слюне расценивают как биологический фактор, который вносит существенный вклад в восприимчивость к кариесу и может быть новым полезным маркером для оценки риска кариеса у детей. Так, показано, что концентрация HNP1-3 в слюне детей, не пораженных кариесом, значительно выше, чем у детей с кариесом. Дефицит α -дефензинов связан с проявлением ранних признаков заболеваний пародонта при синдроме Костманна.

Лактоферрин

NEW

Лактоферрин представляет собой гликопротеин из семейства трансферринов. Этот белок синтезируют лейкоциты, клетки эпителия слизистых и поэтому его можно обнаружить в различных секретах (слюна, слезная жидкость, семенная и вагинальная жидкость и т.п.). Лактоферрин является очень важной составляющей системы неспецифической антимикробной защиты слизистых. Известно, что концентрация лактоферрина в слюне и гингивальной жидкости значительно изменяется в ходе развития воспалительных процессов в ротовой

полости. Содержание этого белка в слюне больных значительно выше по сравнению со здоровыми лицами. У пациентов с прогрессирующим заболеванием пародонта, одной из причин которого был *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, наблюдается отрицательная корреляция между количеством патогенных бактерий и содержанием лактоферрина в слюне. После соответствующего лечения уровень лактоферрина в слюне и гингивальной жидкости значительно снижается. Таким образом, лактоферрин можно использовать в качестве чувствительного маркера для оценки уровня пародонтопатии и эффективности проводимой терапии.

LL-37 (Кателицидины)

NEW

Антимикробный пептид LL-37 можно обнаружить в нейтрофилах, коже, слизистых и т.п., а также в слюне. В оральных тканях присутствие этого пептида подтверждено на языке, слизистой оболочке щек, деснах и в слюнных железах. Описана тесная связь между уровнем LL-37 в слюне и заболеваниями полости рта у пациентов с синдромом Костманна. Снижение концентрации LL-37 в слюне у таких пациентов коррелирует с тяжелыми заболеваниями пародонта.

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА



Кат. №	Производитель	Наименование, количество/упаковка
749-2001	DBC	Кортизол в слюне, 96
749-3801	DBC	Андростендион в слюне, 96
749-3901	DBC	Прогестерон в слюне, 96
749-4001	DBC	Тестостерон в слюне, 96
749-8701	DBC	Эстрон в слюне, 96
EK-DSM	Buhlmann	Мелатонин в слюне, 96
HK317	HBT	Альфа-дефензин 1-3, 192
HK321	HBT	LL-37, 192
HK329	HBT	Лактоферрин, 192
51.1534	Sarstedt	Устройство для отбора проб слюны Salivette, 100 штук
RE69991	IBL	Устройство для отбора проб слюны SaliCaps®, 100 штук
RE62031	IBL	Тестостерон в слюне (LIA), 96
RE62021	IBL	Прогестерон в слюне (LIA), 96
RE62011	IBL	Кортизол в слюне (LIA), 96
RE62041	IBL	Эстрадиол в слюне (LIA), 96
RE62051	IBL	Дегидроэпиандростерон в слюне (LIA), 96
473-8870	BCM Diagnostics	Секреторный IgA, 96