



АПРОБАЦИЯ СПОСОБА ОТБОРА ПОДКОЖНОЙ ИНТЕРСТИЦИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ

**ФБУН «Федеральный научный центр
медико-профилактических
технологий управления рисками здоровью населения»
г. Пермь**

**Звездин В.Н.,
к.м.н. с.н.с отдела биохимических и
цитогенетических методов диагностики**

**Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием
«Актуальные проблемы безопасности и оценки риска здоровью населения при воздействии факторов среды обитания»
21-23 мая 2014 года г. Пермь**

Актуальность:

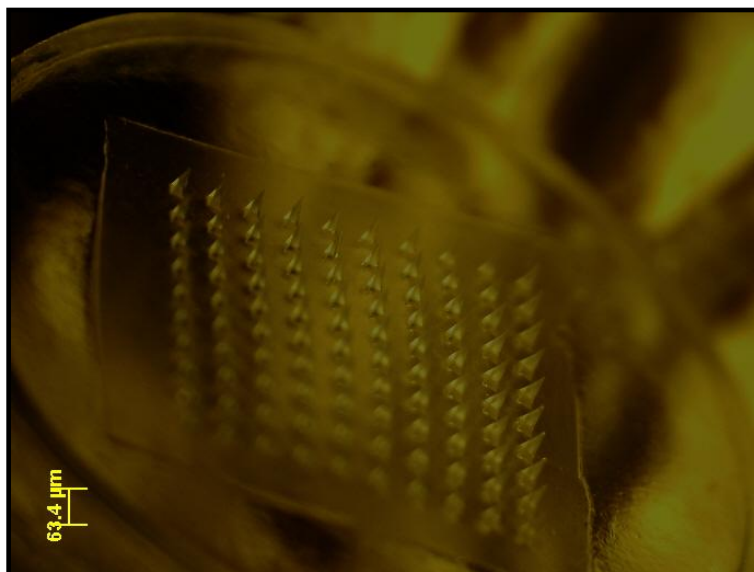
В России для диагностики заболеваний ежегодно выполняется порядка **90 млн.** анализов крови

Традиционные технологии предусматривают отбор биоматериала (крови) для исследований с помощью инъекционных игл, что:

- травматично,
- психологически болезненно,
- несет риск инфицирования,
- приводит к затратам на утилизацию расходных материалов (утилизация шприца ценой 4 руб. составляет 9 руб.)

МИКРОИГОЛЬНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ – БУДУЩЕЕ ДИАГНОСТИКИ

Микроигольный аппликатор – это полимерная пластинка размером 1×1 кв. см, на поверхности которой размещено 100 микроигл



**Предназначено для отбора
У человека высокоинформативного биоматериала
– подкожной интерстициальной жидкости**

Цель исследования:

Обоснование перечня показателей и методов исследования подкожной интерстициальной жидкости, которая в ближайшей перспективе будет отбираться при помощи МИА

Материалы и методы исследования:

1. Разработка способа отбора подкожной интерстициальной жидкости (ПИЖ) in vivo

Биологическая модель - крысы-самцов линии Wistar, массой 190 ± 10 гр.

2. Установление перечня показателей в подкожной интерстициальной жидкости и сыворотке крови

Глюкоза, мочеви́на, АЛАТ, АСАТ, креатинин, билирубин общий, билирубин прямой, кальций, магний, натрий, калий, хлориды

Фотометрический метод
автоматический биохимический анализатор
Konelab-20 (Thermo Scientific, Финляндия)
960 определений

Общий белок, альбумины

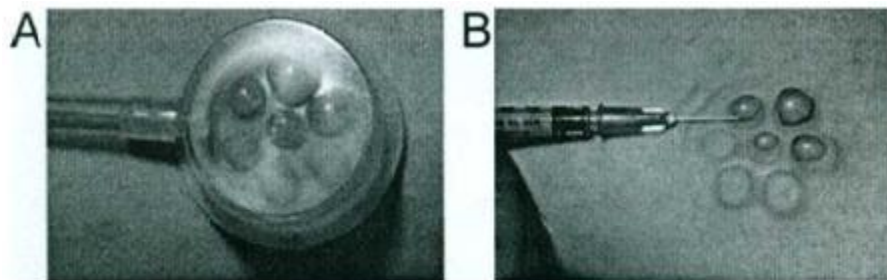
Метод фракционирования
система автоматической аппликации и окрашивания
SAS -1 plus, SAS-2 (Helena, Великобритания)
160 определений

Статистическая обработка
полученных результатов

Стандартные методы параметрической статистики.
Оценку параметров зависимости осуществляли с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.

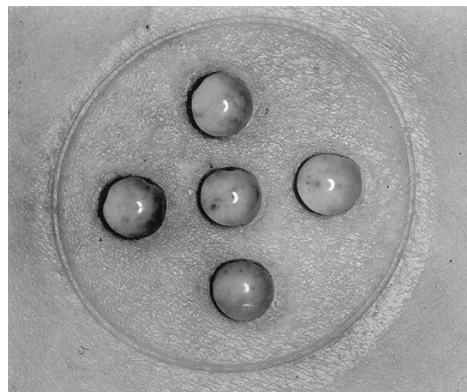
Отбор ПИЖ: Существующие подходы

Arch. Dermatol. Res. 263, 325-334 (1978)



© 2007 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim www.proteom.es-journal.com

Kiistala, U. (1968) Suction blister device for separating viable epidermis from dermis. J. Invest. Dermatol. 50, 129–137.



Отбор ПИЖ: изготовленная насадка



В качестве генератора отрицательного давления использован вакуумный аспиратор Pump-7e (Armed, Россия), позволяющий создавать вакуум с давлением до 600 мм рт. ст;

Отбор ПИЖ: подготовка животных



Участок кожи, подготовленный для выполнения отбора ПИЖ

Отбор ПИЖ: Этапы



Результаты:

Перечень критериев к исследуемым соединениям и методам определения с учетом дальнейшего их отбора при помощи МИА:

- **Водорастворимость;**
- **Низкая молекулярная масса;**
- **Метод анализа должен быть автоматизированным**
- **Содержание в ПИЖ должно достоверно коррелировать с уровнем содержания в сыворотке крови.**

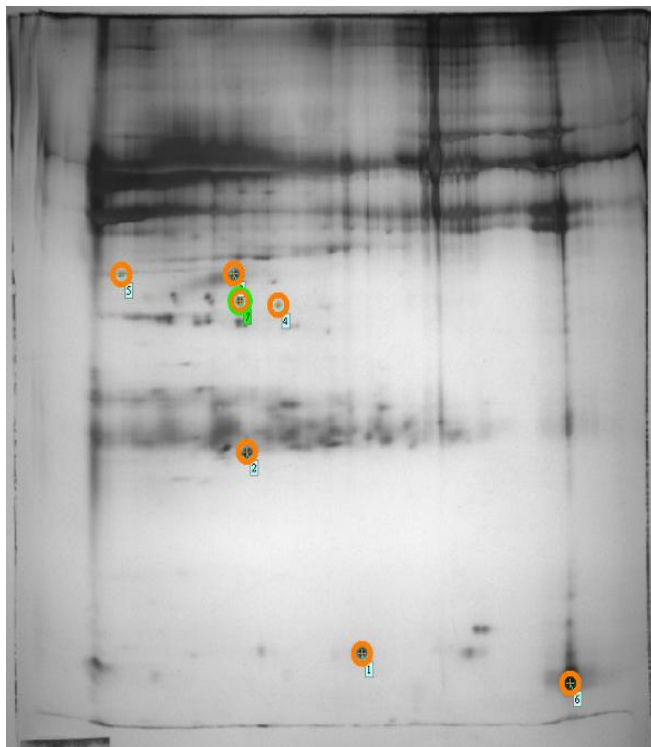
Результаты:

Выполненного сравнительного анализа содержания исследуемых показателей в ПИЖ и сыворотке крови у крыс:

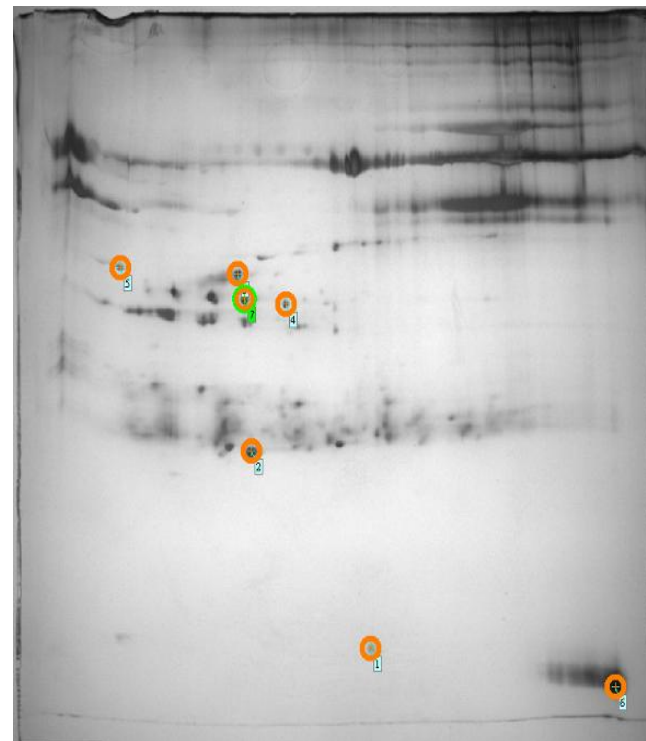
Показатель	ПИЖ (M±m)	Сыв. крови (M±m)	Кратность различий	Достоверность различий (t)	Коэффициент корреляции (r)
Альбумины, г/дм ³	13,3±1,22	31,3±2,1	2,3	< 0,05	0,64
Глюкоза, ммоль/дм ³	6,13±2,24	5,36 ± 1,13	1,0	> 0,05	0,69
Мочевина, ммоль/дм ³	4,25±0,22	4,41±0,23	1,0	> 0,05	0,88
Натрий, ммоль/дм ³	130,0±5,0	135,0±2,0	0,99	> 0,05	0,83
Хлориды, ммоль/дм ³	258,6±13,4	93,6±6,61	2,7	< 0,05	0,75

Результаты:

Возможность использования ПИЖ для протеомного анализа:



ПИЖ



Сыворотка крови

Выводы:

- Установленный перечень показателей может быть использован при реализации клинических исследований микроигольных аппликаторов: мочевины, глюкозы, натрия; исследование уровня альбумина и хлоридов с применением поправочных коэффициентов;
- Уровень натрия может быть использован в качестве стандартного показателя сравнения для исключения погрешностей при сравнительном анализе биохимических показателей в ПИЖ и сыворотке крови
- При совершенствовании метода отбора ПИЖ микроигольными аппликаторами (увеличение объема) позволит использовать данную технологию для пробоотбора для целей протеомного анализа.

Спасибо за внимание!
