

**В. В. Костюшов, Н. В. Костюшова, С. І. Павлович,
Ю. П. Сахно, О. Л. Тимчишин**

Тіолозалежний механізм взаємодії *in vitro* білків гострої фази із серологічно родинними діагностичними моноспецифічними антисироватками

*У доноров и у пациентов с воспалительными процессами по динамике изменения ($\pm\Delta$) содержания SH- и SS-групп в реакционных смесях изучено *in vitro* тиолзависимость механизма иммунной реакции антиген – антитело. Проведен анализ взаимодействия белков острой фазы (С-реактивный белок, орозомукоид и трансферин) сывороток крови доноров и пациентов с диагностическими моноспецифическими антисыворотками. Установлено, что в отличие от доноров, у пациентов с воспалительными процессами эти реакции сопровождаются феноменом высвобождения Ag^+ -чувствительных небелковых SH-групп и они появляются в супернатантах депротенизированных реакционных смесей. Вместе с тем, как у доноров, так и у пациентов, эти реакции сопровождаются модификационными изменениями содержания ($\pm\Delta$) белковых SH-и SS-групп, в реакционных смесях (в который белок не осаждался). Авторы высказали предположение, что воспалительный процесс, очевидно, сопровождается такой перестройкой структурно-функционального состояния белков острой фазы, при которой под действием антисывороток в реакционных смесях происходит лабилизация смешанных дисульфидных связей между ними и низкомолекулярными тиолами. В результате этого происходит высвобождение Ag^+ -чувствительных небелковых SH-групп.*

Предложено использовать этот показатель для оценки функциональной активности белков острой фазы.

Вступ

Для визначення гостроти перебігу захворювань запропоновано імунологічні методи оцінки вмісту білків гострої фази у біологічних рідинах. Однак дотепер невідомі способи оцінки функціонального стану цих білків у імунних реакціях із серологічно родинними діагностичними моноспецифічними сироватками. Тому представляють інтерес літературні дані, які описують феномен вивільнення тіоловмісних сполук — небілкових сульфгідрильних груп (SH-груп) у разі утворення імунних комплексів у реакціях антиген — антитіло [23]. Встановлено, що за їх вмістом можна оцінювати функціональний стан, наприклад, імуноглобулінів і білків системи комплементу.

Ми не знайшли повідомлень про зміну у реалізації тіолозалежного механізму вмісту SH- і SS-груп, які супроводжують реакцію *in vitro* антиген — антитіло при взаємодії білків гострої фази у сироватці крові (СК) із серологічно родинними діагностичними (комплементарними) моноспецифічними сироватками при фізіологічних станах і у разі запалення. Також немає даних щодо використання тіоловмісних реагентів — SH- і SS-груп

© В. В. Костюшов та ін.

для оцінки функціонального стану білків гострої фази. Все це і послужило підставою для проведення нашого дослідження.

Методика

Обстежено сироватки крові у людей двох груп: I (контрольна) — 79 практично здорових донорів і II (дослідна) — 39 хворих з гострими запальними процесами. Захворювання цих пацієнтів супроводжувалося структурно-морфологічними ознаками пошкодження тканин у вигляді альтерації чи ексудації. Про це також свідчили деякі клініко-лабораторні дослідження (загальноклінічні, біохімічні, серологічні та імунологічні).

В обох групах обстежених у реакціях антиген — антитіло вивчали комплементарну взаємодію білків гострої фази СК: С-реактивного протеїну (СК-CRP), орозомукоїду (СК-Oroso) і трансферину (СК-Transf) з їх серологічно родинними моноспецифічними антисироватками (МСС) проти CRP (Anti-CRP), проти Oroso (Anti-Oroso) і проти Transf (Anti-Transf). Зазначені МСС було вибрано з двох діагностичних наборів: Anti-CRP — виробництва фірми «KONE Instruments» (Фінляндія) Anti-Oroso і Anti-Transf — виробництва фірми «Sevac» (Чеська Республіка).

Для постановки реакцій антиген — антитіло готували наступні реакційні суміші: СК-CRP + Anti-CRP; СК-Oroso + Anti-Oroso; СК-Transf + Anti-Transf. Кінцевий вміст білка у діагностикумах при додаванні їх до СК в співвідношенні 1:10 становить у реакційних сумішах Anti-CRP — 1,69 мг, Anti-Oroso — 2,46 мг і Anti-Transf — 1,99 мг відповідно. Дослідження проводили після 60 хв термостатування при 37 °С.

Вміст білкових SH- і SS-груп визначали в нативних СК, у розведених діагностикумах та у реакційних сумішах до осадження в них білків. Вміст небілкових SH-груп визначали в супернатантах депротейнізованих: СК діагностикумів і реакційних сумішей після осадження в них білків 5%-ю метафосфорною кислотою [14].

Детекцію SH-груп здійснювали методом прямого, а SS-груп — методом зворотного (після попереднього розриву дисульфідних зв'язків сульфідом натрію) амперометричного титрування [14, 22], яке проводили у тріс-буфері розчином азотнокислого срібла [8].

Слід зазначити, що з численних хімічних взаємодій тіолів з сульфгідрильними реагентами, ми аналізували лише одну — взаємодію SH-груп з іонами срібла [5]. Тому це повідомлення стосується лише так званих Ag⁺-чутливих SH-груп.

Результати

При дослідженні супернатантів депротейнізованих СК обстежених обох груп встановлено, що в них не виявлено Ag⁺-чутливих небілкових SH-груп, як і не виявлено їх у супернатантах депротейнізованих діагностикумів (табл. 1).

Результати табл. 2 свідчать, що тільки в сироватках пацієнтів з гострим запаленням у супернатантах депротейнізованих реакційних сумішей СК-CRP + Anti-CRP; СК-Oroso + Anti-Oroso; СК-Transf + Anti-Transf виявлено Ag⁺-чутливі небілкові SH-групи. У реакційних сумішах сироваток вони не визначалися. У зазначених реакційних сумішах сироваток після

Таблиця 1. Вміст сумарних SH- і SS-груп (мкмоль/л) у сироватках крові

Показник	Донори	Пацієнти
Небілкові SH-групи	0	0
Білкові SH-групи	448,02±15,03	392,47±10,13*
Білкові SS-групи	171,71±7,36	165,21±4,70

* P<0,01.

Таблиця 2. Вміст SH- і SS-груп (мкмоль/л) у реакційних сумішах

Реакційна суміш	Небілкові SH-групи	Білкові SH-групи	Білкові SS-групи
Донори			
СК+Anti-CRP	0	273,35±12,28*	125,71±9,01*
СК+Anti-Oroso	0	285,47±10,35*	145,18±6,95*
СК+Anti-Transf	0	424,22±8,64	170,25±5,59*
Пацієнти			
СК+Anti-CRP	11,54±1,52	312,79±5,17*	161,08±7,27*
СК+Anti-Oroso	11,94±1,55	319,14±5,73*	145,90±2,74*
СК+Anti-Transf	13,96±3,47	308,97±8,11*	137,26±2,64*

* P < 0,001 порівняно з вихідним вмістом показників у сироватках крові.

видування пацієнтів Ag⁺-чутливі небілкові SH-групи також перестають визначатися.

У реакційних сумішах (до осадження білків) вміст білкових SH- і SS-груп у сироватках донорів і хворих людей істотно відрізняється від аналогічних показників у нативних СК при додаванні до них відповідних МСС (див. табл. 2). Слід зазначити, що динаміка їх вмісту у всіх реакційних сумішах носить модифікаційний характер, тобто вміст цих груп як підвищується, так і знижується (табл. 3).

Таблиця 3. Динаміка вмісту (±Δ) білкових SH- і SS-груп у реакційних сумішах

Реакційна суміш	Варіанти зміни показників (% випадків)			
	+ΔSH	-ΔSH	+ΔSS	-ΔSS
Донори				
СК+Anti-CRP	16,13	83,87	38,71	61,29
СК+Anti-Oroso	17,78	82,22	51,11	48,89
СК+Anti-Transf	16,67	83,33	30,56	69,44
Пацієнти				
СК+Anti-CRP	8,81	91,19	33,33	66,67
СК+Anti-Oroso	11,92	88,08	31,13	68,87
СК+Anti-Transf	9,18	90,82	28,57	71,43

Обговорення

До внесення в СК донорів і пацієнтів антисироваток Anti-CRP, Anti-Oroso і Anti-Transf у супернатантах депротейнізованих СК Ag⁺-чутливі небілкові SH-групи методом амперометричного титрування не визначаються. Не виявлені вони і в супернатантах самих депротейнізованих антисироваток Anti-CRP, Anti-Oroso і Anti-Transf.

Наші результати відрізняються від даних деяких авторів про кількісний вміст низькомолекулярних тіоловмісних сполук у тканинах [7]. Однак є повідомлення з якими збігаються наші результати [3, 20].

З цього приводу виникає низка принципово важливих питань. Чи не зумовлено це низькою чутливістю використовуваного методу амперометричного титрування? Висока реакційна здатність SH-груп і різноманітність їх хімічних реакцій з багатьма тіолозалежними реагентами нині не викликає сумнівів [14, 16, 19]. Тому для їх визначення запропоновано різноманітні методи і велика кількість таких реагентів [15]. Але для того, щоб одержати вичерпну характеристику SH-груп білка і виявити розходження в реакційній здатності, необхідно проводити дослідження їх взаємодії з тіолозалежними реагентами різних типів. Однак здійснити це практично дуже складно. Чутливість застосовуваного нами методу амперометричного титрування, дозволяє аналізувати біоматеріал, який містить 0,1 – 1,0 мкмоль тіолів, що збігається з літературними даними [5]. Крім того його перевага пов'язана з тим, що він дозволяє визначати вміст SH-групи у малих об'ємах біоматеріалу (від 10 мкл) і аналізувати мутні розчини. Причому час на титрування становить кілька секунд, що важливо при дослідженні реакційних сумішей антиген – антитіло. Точність (відтворюваність) результатів, яку оцінювали за коефіцієнтом варіації становила від 0,5 до 2,1 %. Правильність вимірів, яку аналізували за систематичною їх погрішністю була постійною, менше ніж 1,0 S. Висока чутливість застосованого методу амперометричного титрування та специфічність реакцій SH-груп з азотнокислим сріблом були досягнуті таким чином. Ми врахували дані [17, 18, 13] про те, що іони срібла у низьких (особливо еквімолярних) концентраціях вибірково реагують у тріс-буфері з SH-групами, і спорідненість іонів срібла до цих груп набагато більша, ніж до інших функціональних груп білків. Тому для їх титрування використовували 10⁻⁴ моль/л розчин AgNO₃. Тріс-буфер виключає вплив кожної з відомих природних амінокислот на титрування SH-вмісних сполук іонами срібла. Крім того тріс-гідроксиметил-амінометан, утворюючи комплексні сполуки зі сріблом, цілком запобігає неспецифічному зв'язуванню іонів срібла, і тим самим виключає його взаємодію з інтерферуючими речовинами [5, 17, 18]. Було також прийнято до уваги і те, що при визначенні небілкових тіоловмісних сполук багато авторів проводили осадження білків, використовуючи для цього сильні кислоти та впливали сильними відновлювачами. Відомо, що це може сприяти неспецифічній взаємодії тіолозалежних реагентів з іншими функціональними групами білкових молекул [15, 17, 18]. Тому для осадження білків ми використовували 5%-й розчин метафосфорної кислоти, а для відновлення дисульфідних зв'язків у білках застосовували розчин сульфїту натрію (Na₂SO₃) [4].

Слід відповісти також на інше питання, як зіставити отримані нами результати з загальновідомими даними про участь небілкових SH-груп у біохімічних реакціях, що проходять за фізіологічних і патологічних процесів? Згідно з літературними даними у тканинах є три форми глутатіону: відновлений (GSH), окиснений (GSSG), а також кон'югований (GSR) у тому числі і зв'язаний з білками (GSP) [15, 19]. Відомо, що наявність активності вільних SH-груп, як правило, свідчить про порушення упорядкованості макроструктури білків та про їх денатураційні (конформаційні) перетворення [15]. Це підтверджується також і нашими попередніми дослідженнями [5, 8]. Виявлено, що за декілька діб до формування тромбоемболій, ускладнених інфарктом (некрозом) тканин внутрішніх органів (інфаркт міокарда, мозку, нирок, селезінки або легенів, панкреанекроз чи некроз брижі) відбувається спонтанне вивільнення Ag^+ -чутливих небілкових SH-груп і вони з'являються в супернатантах депротейнізованих СК цих пацієнтів. Максимум їх кількості приходить на 3–5-ту добу від моменту виникнення інфаркту. І, якщо надалі не відбувається їх споживання і вміст Ag^+ -чутливих небілкових SH-груп продовжує збільшуватися, то перебіг хвороби завжди летальний.

Отже, спонтанне вивільнення Ag^+ -чутливих небілкових SH-груп і їх поява в супернатантах депротейнізованих СК, навіть у невеликій кількості, є несприятливою ознакою.

На наш погляд, перебування небілкових тіоловмісних з'єднань у депонованому стані внаслідок кон'югації з білками й утворення з ними лабільних змішаних дисульфідних зв'язків [15, 20, 12, 11] більше відповідає їх фізіологічній ролі.

У літературі неодноразово обговорювалося значення кон'югованого глутатіону у регуляції структурно-функціональної організації білкових молекул, при цьому білково-глутатіонові комплекси розглядалися як депо глутатіону [12]. Тому можна зробити припущення, що для вивільнення кон'югованих з білком небілкових SH-груп та їх наступного використання потрібний ефектор. Його вплив може бути зумовлений розривом лабільних змішаних дисульфідних зв'язків, чи, навпаки, тіолозалежним ефектом.

Очевидно тому деякі автори вважають, що явища фізіологічного або патологічного характеру багато у чому залежать від утворення та дестабілізації змішаних дисульфідних зв'язків білків [12].

З цього приводу представляють інтерес отримані нами результати реакції SH- і SS-груп, які супроводжують взаємодію білків гострої фази СК з їх серологічно родинними діагностичними антисироватками. Відомо, що реакція взаємодії антитіла з антигеном проходить у дві фази. Перша (специфічна) фаза полягає в реакції хімічної взаємодії детермінатних груп активних центрів антигену й антитіл. Друга (неспецифічна) фаза супроводжується утворенням сітчастих структур, завдяки яким формуються імунні комплекси антигену з антитілом [24]. Такі процеси призводять до структурно-конформаційних перебудов білкових молекул і завжди проходять зі змінами вмісту SH- і SS-груп [1].

Проте в наших дослідженнях ми спостерігали деякі особливості реак-

ційної спроможності SH- і SS-груп у разі взаємодії білків гострої фази з їх комплементарними МСС.

Так, при дослідженні СК у донорів імунні реакції СК-CRP + Anti-CRP, СК-Oroso + Anti-Oroso, СК-Transf + Anti-Transf не супроводжуються вивільненням Ag⁺-чутливих небілкових SH-груп, і вони не визначаються в супернатантах депротейнізованих реакційних сумішей.

У сироватках пацієнтів, отриманих у гострий період захворювання аналогічні реакції реалізуються через феномен вивільнення Ag⁺-чутливих небілкових SH-груп і їх появи в супернатантах депротейнізованих реакційних сумішей СК-CRP + Anti-CRP, СК-Oroso + Anti-Oroso, СК-Transf + Anti-Transf. Разом з тим, як в сироватках донорів, так і пацієнтів, ці реакції супроводжуються модифікаційними змінами вмісту ($\pm\Delta$) білкових SH- і SS-груп у реакційних сумішах (у яких білок не осаджувався): СК-CRP + Anti-CRP, СК-Oroso + Anti-Oroso, СК-Transf + Anti-Transf відповідно.

Раніше було встановлено, що реакції антиген—антитіло, наприклад, комплементарна взаємодія імуноглобулінів, білків системи комплементу, а також антитіл і антигенів інфекційної природи в реакціях з їх серологічно родинними комплементарними антигенами (антитілами) завжди призводить до вивільнення небілкових Ag⁺-чутливих SH-груп [23]. Аналогічний феномен виявлено і у разі формування імунітету до низькомолекулярних хімічних сполук: цитостатиків у хворих онкологічного профілю [6], алергенів при алергодерматозах [15], і адреналіну при ішемічній хворобі серця [10]. Автори зазначають, що наявність цього феномена завжди свідчить про імунний характер реакції [9].

Слід брати до уваги, що комплементарна взаємодія в реакціях антиген—антитіло взагалі супроводжується структурно-конформаційною перебудовою білкових молекул у реакційних сумішах, що призводить до лабілізації змішаних дисульфідних зв'язків між ними і низькомолекулярними тіолами. Внаслідок цього при дії антигенів відбувається вивільнення небілкових SH-груп.

Небілкові SH-групи можуть ініціювати реакцію обміну між SH- і SS-групами білкових молекул, утягуючи у процес полімеризації нові молекули білків. Це має істотне значення в утворенні сітчастих структур, що зумовлюють формування імунних комплексів [24]. Таке припущення підтверджується наявністю модифікаційних змін вмісту білкових SH- і SS-груп у реакційних сумішах.

Це взагалі можливо, оскільки відомо, що порушення макроструктури білкових молекул і пов'язане з ним підвищення реактивності численних хімічних груп, у тому числі SH- і SS-груп, служать стартом для вторинних «постденатураційних» перетворень. У цьому плані розглядається, наприклад, обмінна реакція між SH- і SS-групами, які перейшли у активний стан при денатурації білка і реагують між собою, змінюючи своє положення [1]. Особливістю реакції є те, що за наявності навіть невеликого вмісту SH-груп перегрупування може поширитися на SS-зв'язки, причому як внутрішньо- так і міжмолекулярно. Таким чином, у процес полімеризації втягуються усе нові й нові молекули білка. Тут SH-групи виконують роль каталізатора,

а перестановка SS-зв'язків набуває характеру ланцюгової реакції, у результаті чого й утворюються, так звані, тривимірні сітчасті структури.

Очевидно вивільнення небілкових SH-груп і модифікаційні зміни вмісту білкових SH- і SS-груп у реакційних сумішах відображають індивідуальні особливості внутрішньої структурно-функціональної організації взаємодіючих між собою антигенів і антитіл, а також імунних комплексів, що утворюються.

Однак важливо зазначити, що феномен вивільнення SH-груп із білків все-таки унікальний у своїх проявах. Так, встановлено, що при одних імунних реакціях антиген – антитіло наявність феномена, а при інших – його відсутність, є необхідною й обов'язковою умовою фізіологічної норми, а в деяких випадках, поява феномену вимагає як обов'язкову умову наявність патологічного процесу (наприклад, гострого запального процесу). Мабуть, це зумовлено тим, що тільки при патологічних процесах відбувається така радикальна перебудова структурно-конформаційного стану білків гострої фази, яка напевно змінює кількість їх антигенних детермінант. Завдяки цьому і змінюється механізм взаємодії з комплементарними МСС. Тому за вивільненням небілкових Ag^+ -чутливих SH-груп можна судити про функціональну активність білків гострої фази.

Можливо саме завдяки цьому низькомолекулярні тіоловімісні сполуки, до складу яких входять SH-групи, впливають на формування ефекторних і регуляторних функцій специфічних білків. Таке припущення правомірне, тому що біологічна активність тіолових з'єднань, різноманіття реакцій, у які вони вступають завдяки SH- і SS-групам, саме і визначають їх виняткову роль у формуванні єдності структури, обміну та функцій білків, до складу яких вони входять у нормі та у разі патології [14].

У світлі отриманих нами результатів актуальним для обговорювання є питання про індивідуальну хімічну природу Ag^+ -чутливих компонентів. Незалежно від того про що йшлося вище (про небілкові SH-групи), ми вважаємо за необхідне уточнити трактування цього феномена. Природно, можна було б розглянути й обговорити весь дуже широкий діапазон речовин, що також як SH-групи тестуються азотнокислим сріблом. Наприклад, не можна виключити десорбцію та появу в супернатантах депротейнізованих реакційних сумішей поліреактивних імуноглобулінів, які містять SH-групи [2]. Відомо, що вони погано осаджуються метафосфорною кислотою, яка використовувалась у дослідженнях. Але проведений нами діаліз зазначених реакційних сумішей з наступною детекцією Ag^+ -чутливих компонентів у супернатантах, дозволив висловити думку на користь низькомолекулярної природи цих компонентів. Тому не можна виключити десорбцію з поверхні білків адсорбованих на них таких Ag^+ -чутливих компонентів, як пурини, піримідини, цукри, тиреостатики, речовини рослинного походження (флавоноїди, алкалоїди) тощо. Але титрування у тріс-буфері практично виключає реакції Ag^+ з більшістю зазначених вище інтерферуючих компонентів [15, 16]. Крім того для багатьох з них необхідні інші методи детекції та умови їх проведення.

Вищеописане трактування виявленого нами феномену не протирічить основним світоглядним уявленням про механізми взаємодії антигенів з ан-

титілами. Ми лише спробували інтерпретувати добре відомі наукові дані про реакції SH- і SS-груп, які супроводжують структурно-конформаційні переутворення антитіл при їх взаємодії з антигенами.

**V. V. Kostyushov, N. V. Kostyushova, S. I. Pavlovich,
U. P. Sachno, O. L. Timchishin**

**THIOL-DEPENDENT OF THE MECHANISM OF INTERPLAY
IN VITRO OF PROTEINS OF AN ACUTE PHASE
WITH SEROLOGY BY RELATED MONOSPECIFIC SERUMS**

For the donors and for the patients with inflammatory processes is thiol-dependent the gear of immune responses in vitro an antigen – antibody on dynamics(changes) of change ($\pm\Delta$) of the contents SH- and S-S-group reaction mixtures. Thus, is conducted the analysis of interplay of proteins of an acute phase (CRP, orosomucoid and transferin) serums of a blood of the donors and patients with serology by related diagnostic (complementary) monospecific serums (MSS) against CRP (Anti-CRP), against Orosomucoid (Anti-Orosomucoid) i against Transferrin (Anti-Transferrin). Is established, that as against the donors, for the patients with inflammatory processes these reacting are accompanied by a phenomenon of a liberation of energy of Ag⁺-sensing non proteins SH-groups and they occur in supernatants of deproteinized of reaction mixtures. At the same time, both for the donors, and for the patients, these reacting are accompanied modification by changes kept in repair ($\pm\Delta$) proteins SH-and S-S-групп, in integral reaction mixtures (in which one protein did not deposit). Such data testify, that the inflammatory process, apparently, can be accompanied by such rearrangement of a structurally functional condition of proteins of an acute phase, that under operating MSS in reaction mixtures descends labilised blended disulfide of communications between them and low molecular weight thiols. As a result of it there is a liberation of energy of Ag⁺-sensing non proteins SH-groups.

This parameter can be used for an estimation of functional activity of proteins of an acute phase.

*411 Central (military) Clinical Hospital, Odesa;
Medical University, Odesa*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Белицер В. А.* Макроструктура и денатурационные превращения белков // Укр. біохім. журн. — 1962. — **34**, № 2. — С. 290-320.
2. *Бобровник С.А., Петрова Ю.И., Ефетов К.А.* Трансформация сывороточных иммуноглобулинов в полиреактивные антитела // Там же. — 1997. — **69**, №3. — С. 36-42.
3. *Капланский С.Я., Азявчик А.В.* Содержание сульфгидрильных групп в отдельных фракциях белков сыворотки у больных с циррозом печени, холециститами и нефритами // Вопр. мед. химии. — 1962. — **8**, № 1. — С. 53-58.
4. *Костюшов В.В.* Феномен спонтанної появи вільних небілкових SH-груп у депротейнізованій сироватці крові та його діагностичне значення // Одес. мед. журн. — 1999. — № 4. — С. 9-11.
5. *Костюшов В.В., Гоцуляк О.Л., Мандриевская Н.М.* Тиолопривные механизмы реакции алерген-антитело при алергодерматозах в условиях нестабильной экологии // Вісн. мор. медицини. — 1998. — №3. — С.58-59.
6. *Кресюн В.Й., Костюшов В.В., Тимчишин О.Л. та ін.* Тиолзалежні механізми селективного зв'язування та внутрішньої активності реакції взаємодії білків сироватки крові з цитостатиками та методи їх оцінки // Клін. фармація. — 1999. — **3**, №2. — С.60-64.

7. Кулинский В.И., Колесниченко М.С. Биологическая роль глутатиона. // Усп. совр. биологии. — 1990. — **110**. — вып. 1 (4). — С. 20-33.
8. Пат. 20935 А UA, МПК 6 А 61 В 10/00, G 01 N 27/26. Спосіб визначення інфаркту та пристрій для його здійснення / Костюшов В.В. — № 96124935; Заявл. 27.12.96; Опубл. 27.02.98.
9. Пат. 22989 А UA, МПК G 01 N 27/26 G 01 N 33/68. Спосіб визначення специфічності біологічної реакції антиген-антитіло / Костюшов В.В. — № 97052536; Заявл. 30.05.97; Опубл. 05.05.98.
10. Пат. 22990 А UA, МПК А 61 N 10/00 G 01 N 33/68. Спосіб діагностики ішемічної хвороби серця / Костюшов В.В. — № 97052535; Заявл. 30.05.97; Опубл. 05.05.98.
11. Романовский И.В., Азатова А.И., Новикова Е.Н. Кинетика изменений сульфид-рильных и дисульфидных групп и белка в процессе развития асцитной опухоли Эрлиха // Вопр. онкологии. — 1973. — **XIX**, № 6. — С. 60-64.
12. Сандалова Т. П., Белобров П. И. Конформационный анализ смешанного дисульфида гемоглобина и глутатиона // Биоорган. Химия. — 1984. — **10**, № 6. — С.780-791.
13. Соколовский В. В. Определение содержания сульфидрильных групп в крови амперметрическим титрованием // Лаб. дело. — 1962. — № 8. — С. 3-6.
14. Соколовский В.В. Тиолдисульфидное соотношение крови как показатель состояния неспецифической резистентности организма. — СПб. — 1996. — 33 с.
15. Торчинский Ю.М. Сера в белках. — М., 1977. — 303 с.
16. Barron E. Thiol groups of biological importance // Adv. Enzymol. and Related Subj. Biochem., 1951. — **11**. — P. 201-226.
17. Benesch R.E., Benesch R. Ampermetric determination of soluble mercapto groups (glutathione) in blood and tissues // Arch. Biochem. — 1950. — **28**, N 8. — P. 43-47.
18. Benesch R.E., Lardi H.A., Benesch R. The sulfhydryl groups of crystalline proteins // The Journal of Biological Chemistry — 1955. — **216**. — N 2. — P. 663-676.
19. Greenberg D. Metabolism of sulfur Compounds. — New York, San Francisco, London: Acad. Press, 1975. — 614 p.
20. Jocelin P.G. Biochemistry SH-group. L: Acad. Press, 1972. — 404 p.
21. Joly M. A physiko-chemical approach to the denaturation of proteins. — L.-N.-Y., 1965. — 327 p.
22. Kolthoff I. M., Harris W. E. Ampermetric Titration of Mercaptan with silver nitrate Using the Rotating Platinum Electrode // Ind. Eng. chem. Anal. — 1946. — № 3. — P. 161-162.
23. Kostyushova L.A., Kutkovets S.L., Baikova S.V The diagnostical value of immunoglobulines' functional state evaluation according to thiol-containing analites. — In.: Congress of Pathology and Laboratory Medicine — XX World — IV MERCOSUL — XXXIII BRAZILIAN. San Paulo, Brazil (17-21 Sep. 1999). — 1999. — P. 17.
24. Marrack J.R., Richards C.B. Light-scattering studies of the formation of aggregates on mixtures of antigen and antibody // Immunology. — 1971. — **20**. — P. 10-19.

411 Центр. військ. клініч. госпіталь, Одеса;
Одес. мед. ун-т

Матеріал надійшов
до редакції 20.06.2000