

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 613.84:612.313.4.083

Соколов А.В., Костина Д.А., Маринчев С.С., Чаплыгин С.С., Колсанов А.В.

РАЗРАБОТКА ЭКСПРЕСС-ТЕСТА ДЛЯ ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ РОДАНИД-ИОНОВ В СЛЮНЕ

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 443099, Самара

В работе представлены результаты апробации экспресс тест-системы для полуколичественного определения содержания роданид-ионов в слюне как маркеров табакокурения. Устройство представляет собой полую трубку, внутри которой расположен сенсорный элемент, работающий по принципу «сухой химии». При поступлении слюны анализируемый компонент (тиоцианат-ион) взаимодействует с реагентами сенсорного элемента с образованием окрашенного роданидного комплекса. По интенсивности цвета образовавшегося комплекса можно судить о содержании тиоцианатов в слюне, сравнив с эталонной шкалой. Измеряли концентрацию тиоцианат-ионов в ротовой жидкости 100 здоровых людей обоего пола в возрасте от 16 до 45 лет. Проведено анкетирование участников исследования для выявления курящего и некурящего контингента. Среди опрошенных активными курильщиками являлись 30%. Из них 50% составляли ежедневные курильщики, 50% нерегулярные курильщики, выкуривающие несколько сигарет в неделю или месяц. Выявлена достоверная связь между интенсивностью курения и концентрацией тиоцианатов в слюне. В группе ежедневно курящих уровень тиоцианат-ионов в слюне значительно выше (2,5 ммоль/л), чем в слюне некурящих или периодически употребляющих табачные изделия (0,3—0,5 ммоль/л). Повышенные концентрации тиоцианат-ионов в слюне ($\geq 1,5$ ммоль/л) наблюдались у 7% некурящих и, возможно, связаны с употреблением в пищу продуктов, содержащих глюкозинолаты. Тест эффективен для определения курящих от 1 до 10 сигарет в день, однако не может применяться при спорадическом типе курения.

Ключевые слова: слюна; тиоцианат-ион; курение; экспресс-анализ; сухая химия.

Для цитирования: Соколов А.В., Костина Д.А., Маринчев С.С., Чаплыгин С.С., Колсанов А.В. Разработка экспресс-теста для полуколичественного определения роданид-ионов в слюне. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62 (12): 730-734. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-12-730-734>

Sokolov A.V., Kostina D.A., Marinchev S.S., Chaplygin S.S., Kolsanov A.V.

THE DEVELOPMENT OF EXPRESS-TEST FOR SEMIQUANTITATIVE DETECTION OF THIOCYANATE IONS IN SALIVA

The Federal state budget educational institution of higher education "The Samara state medical university" of Minzdrav of Russia, 443099 Samara, Russia

The article presents the results of approbation of the express test-system for semi-quantitative detection of content of thiocyanate ions in saliva as markers of tobacco smoking. The device corresponds to hollow tube with sensory element inside functioning on the principle of "dry chemistry". At saliva intake, the analyzing component (thiocyanate ion) interacts with reagents of sensory element with formation of colored thiocyanate complex. The intensity of color of formed complex permits to judge about content of thiocyanates in saliva by comparison with standard scale. The concentration of thiocyanate ions in oral fluid of 100 health people of both genders aged from 16 to 45 years was analyzed. The questionnaire survey of respondents was carried out to establish smoking and non-smoking contingents. The analysis established that 30% were active tobacco smokers. The everyday smokers made up to 50% out of them, non-regular smokers (several cigarettes per week or month) - 50%. The reliable relationship between intensity of smoking and concentration of thiocyanate ions in saliva is established. The level of thiocyanate ions in saliva is significantly higher (2.5 mmol/l) in the group of everyday smokers than in saliva of non-smokers of periodically using tobacco articles (0.3-0.5 mmol/l) The increased concentrations of thiocyanate ions in saliva ($\geq 1,5$ mmol/l) were established in 7% of non-smokers and are possible related to consumption of food containing glucosinolates. The test is efficient for detecting smokers using from 1 to 10 cigarettes per day. However, it is of no use in case of sporadic type of smoking.

Key words: saliva; thiocyanate ion; smoking; express-analysis; dry chemistry

For citation: Sokolov A.V., Kostina D.A., Marinchev S.S., Chaplygin S.S., Kolsanov A.V. The development of express-test for semiquantitative detection of thiocyanate ions in saliva. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2017; 62 (12): 730-734. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-12-730-734>

For correspondence: Kostina D.A., researcher of the scientific educational center "The medical diagnostic micro-systems" of the Federal state budget educational institution of higher education "The Samara state medical university". e-mail: din.kostina@yandex.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 15.06.2017
Accepted 28.06.2017

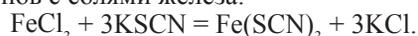
Для корреспонденции: Костина Динара Александровна, науч. сотр. научно-образовательного центра «Медицинские диагностические микросистемы»; e-mail: din.kostina@yandex.ru

Введение. Табакокурение широко распространено во всех странах мира и является одним из главных факторов риска развития сердечно-сосудистых, респираторных, онкологических заболеваний [1—3]. Предупреждение курения, особенно среди подростков, а также форми-

рование мотивации у курильщиков к отказу от курения является основной задачей антитабачных программ, проводимых во многих странах [4]. Для подтверждения активного курения измеряют содержание монооксида углерода (CO) в выдыхаемом воздухе, карбоксигемоглобина в крови, никотина и котинина в моче методом иммунохроматографического анализа (ИХА), однако использование этих тестов ограничено сложностями пробоотбора, аналитическими затратами, обоснованностью проведения теста [5, 6].

Роданиды (тиоцианаты) SCN^- присутствуют в слюне и других биологических жидкостях в небольшом количестве в свободном виде. Их функции до конца не изучены, однако показано, что тиоцианат-ионы обладают антибактериальной активностью [7]. Согласно данным литературы содержание роданидов выше в слюне курильщиков и связано с поступлением в их организм синильной кислоты табачного дыма [8]. Основным механизмом образования тиоцианата в организме человека является ферментативный перенос атома серы из тиосульфата в цианид тиосульфатсульфуртрансферазой (роданазой) [9]. V. Russel и соавт. [10] показали прямую корреляцию между количеством выкуриваемых сигарет и содержанием тиоцианатов в слюне. Период полураспада тиоцианат-ионов составляет 10—14 дней, поэтому они особенно подходят для обнаружения хронического воздействия низких доз цианидов [9]. Таким образом, тиоцианаты, содержащиеся в биологических жидкостях (плазме, слюне, моче), могут использоваться в качестве биомаркера воздействия цианидов или химических веществ, высвобождающих цианиды.

Существует несколько аналитических методов для обнаружения тиоцианатов в слюне, такие как атомно-абсорбционная спектрометрия [11], электрохимия [12], ионная хроматография [13], газовая хроматография [14], капиллярный электрофорез [15]. Однако эти методики являются трудоемкими, дорогостоящими и предполагают использование большого количества реагентов и/или растворителей. Наиболее простой метод определения роданидов основывается на взаимодействии тиоцианат-ионов с солями железа:



Образованный комплекс окрашен в красный цвет ($\lambda = 490$ нм), интенсивность которого пропорциональна концентрации роданидов в растворе [16]. Однако этот способ не подходит для определения тиоцианатов вне лабораторных условий.

Актуальной представляется разработка простого, портативного аналитического экспресс-устройства для диагностики тиоцианат-ионов в слюне. В литературных источниках имеется большое количество обзоров, посвящённых методам производства, а также аналитическим возможностям носителей на основе целлюлозы и хроматографической бумаги [17—19]. Технология «сухой химии» основана на взаимодействии носителей сухих реагентов с метаболитами крови, мочи и других жидкостей с изменением цвета индикаторной зоны. Основным достоинством технологии «сухой химии» является простота и быстрота выполнения теста.

Цель исследования — разработка и апробация экспресс-тест-системы на основе технологии «сухой химии» для полуколичественной оценки содержания тиоцианатов в слюне как маркеров табакокурения.

Материал и методы. Аппаратура. Аналитические весы GH 202 A&D (Япония); фотометр КФК-3-01-

«ЗОМЗ»(Россия); цветной принтер Epson Discproducer PP 100 (Китай); многофункциональное устройство (МФУ) Canon i-sensys MF 211 (Китай).

Реагенты. Нитрат железа (III) ч.д.а., тиоцианат калия ч.д.а., лимонная кислота х.ч. («Вектон», Россия), Brij-35 (Sigma Aldrich). Реагенты растворяли в бидистиллированной воде по ГОСТ 6709—72.

Материалы для изготовления тест-устройств. Хроматографическая бумага Whatman №1 (Sigma Aldrich), прозрачные трубки из полимерного материала (Heroe-Pak, Китай, ПВХ, толщина 0,2 мм, длина 7 см, диаметр 5 мм), абсорбирующий волокнистый материал (Fleissner, Германия, диаметр 5 мм, длина 2 см).

Калибровка экспресс-устройств. Стандартный раствор тиоцианат-иона (6 ммоль/л) готовили в колбе вместимостью 100 мл путём растворения 60 мг KSCN в воде. Рабочие растворы (0,1; 0,5; 1,5; 2,5; 4,0 ммоль/л) готовили разбавлением стандартного раствора бидистиллированной водой. Оптическую плотность калибровочных растворов измеряли при 490 нм в кюветах с $l = 1$ см относительно раствора контрольного опыта, содержащего все компоненты, кроме тиоцианата калия.

В тест-устройстве также вносили калибровочные растворы тиоцианата калия. Через 30 с регистрировали окраску сенсорного элемента. Образцы, содержащие калибровочные растворы, оцифровывали с помощью МФУ в режиме цветного сканирования в формате TIFF при dpi 600. С помощью приложения Adobe Photoshop строили нативную цветовую шкалу, для того чтобы определять визуально наблюдаемую концентрацию роданидов в слюне по методу, описанному в [20] (рис. 1, см.обложку).

На основе цветовой шкалы изготовили шкалу сравнения при помощи цветного принтера (разрешение изображения 5760×1440 dpi, цветокоррекция в режиме ICM) (рис. 2, см.обложку).

Сборка устройства. Устройство сконструировано в соответствии с технологией «сухой химии» и представляет собой полую трубку из прозрачного полимерного материала, внутри которой расположены сенсорный



Рис. 3. Экспресс-устройство для анализа роданидов в слюне.

БИОХИМИЯ

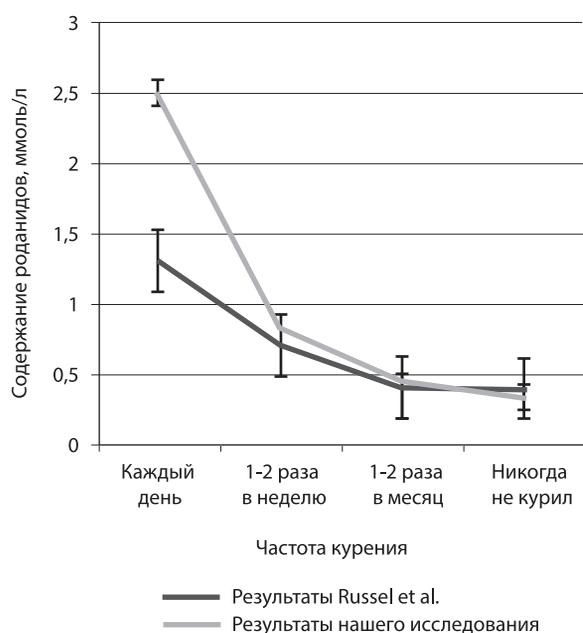


Рис. 4. Сравнение концентраций тиоцианатов в слюне курящих и некурящих.

По оси абсцисс — частота курения; по оси ординат — содержание роданидов, ммоль/л. Верхняя кривая — результаты нашего исследования, нижняя кривая — данные [10].

элемент (аналитическая бумага) и абсорбирующий слой (рис. 3).

На хроматографическую бумагу, предварительно обработанную 10% водным раствором Brij-35, наносили реагенты для обнаружения роданид-ионов — раствор нитрата железа в лимонной кислоте. Бумагу с реагентами высушивали при температуре 70°C в течение 30 мин в вертикальном положении. Готовую аналитическую бумагу разрезали на образцы размером 2,5×2,5 см и помещали в трубку.

Проведение анализа. Тест-устройство помещают в ротовую полость, в отверстие пробоотборника вносят достаточное для анализа количество слюны. Анализи-

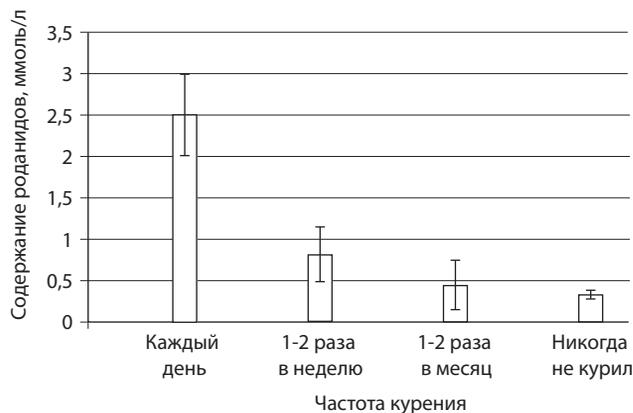


Рис. 5. Концентрация тиоцианат-ионов в слюне в зависимости от частоты курения.

По оси абсцисс — частота курения; по оси ординат — содержание роданидов, ммоль/л.

руемый компонент (тиоцианат-ион) взаимодействует с реагентами сенсорного элемента с образованием окрашенного комплекса, по интенсивности цвета которого можно судить о содержании роданидов в слюне. Для получения полуколичественного результата необходимо сравнить получившийся цвет ячейки с эталонной шкалой. Исследование проводили в течение дня, для анализа использовали неразбавленную слюну. При проведении анализа не учитывали время принятия пищи.

Выборка. В нашем исследовании мы использовали ротовую жидкость здоровых людей — 100 человек обо-его пола в возрасте от 16 до 40 лет. Исследование было добровольным и анонимным.

Перед проведением анализа участникам необходимо было ответить на вопросы в анкете: частота курения, табачные предпочтения, количество выкуриваемых сигарет в день, количество выкуриваемых сигарет за последние 24 ч.

Статистическая обработка материала проведена с помощью офисного пакета «Statistica© 10.0». Достоверность различий рассчитывали с применением *t*-критерия Стьюдента. За достоверный принимался уровень статистической значимости $p < 0,05$ [21].

Данные анкетирования и результаты анализов представлены в табл. 1—3.

Результаты. Для определения соответствия результатов анализа на содержание тиоцианат-ионов в слюне между показаниями прибора и разрабатываемым изделием было отобрано 10 образцов слюны от людей мужского и женского пола в возрасте 30—35 лет (5 курящих и 5 некурящих). Разработанные тест-устройства позволяют получить полуколичественный результат, который коррелирует с данными, полученными инструментальным методом [22].

Среди опрошенных активными курильщиками являлись 30%. Из них 50% — ежедневные курильщики, 50% — нерегулярные курильщики, выкуривающие несколько сигарет в неделю или месяц.

Уровень тиоцианатов в слюне курящих и некурящих в нашем исследовании коррелировал с результатами, представленными в работе V.Russel и соавт., проводивших исследование содержания тиоцианатов в слюне у 1602 студентов в Миннесоте. Так, среднее содержание

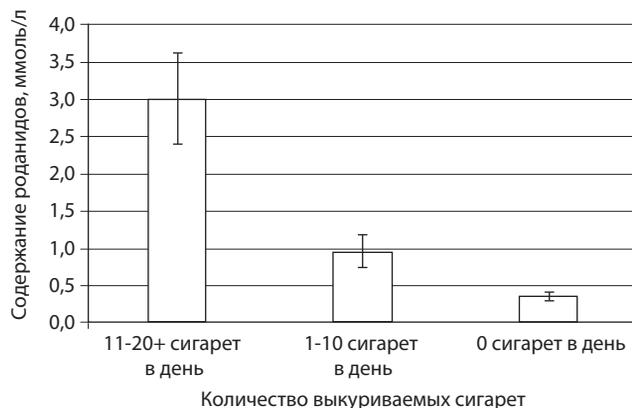


Рис. 6. Концентрация тиоцианат-ионов в слюне в зависимости от количества выкуриваемых сигарет.

По оси абсцисс — количество выкуриваемых сигарет; по оси ординат — содержание роданидов, ммоль/л.

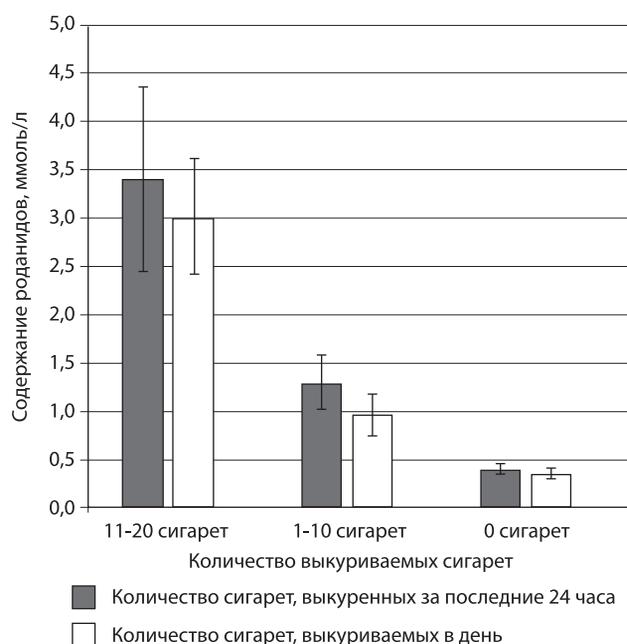


Рис. 7. Сравнение концентраций тиоцианат-ионов в слюне. По оси абсцисс — количество выкуриваемых сигарет; по оси ординат — содержание роданидов, ммоль/л.

роданидов у некурящих составило 0,4 ммоль/л, а у курящих ежедневно (до 10 сигарет) — 1,5 ммоль/л, что соответствует данным, полученным в нашем исследовании [10] (рис.4).

В группе ежедневно курящих уровень тиоцианат-ионов в слюне значительно выше, чем в слюне некурящих или периодически употребляющих табачные изделия и составляет 2,5 ммоль/л (рис. 5).

Уровни тиоцианат-ионов в группах никогда не употреблявших, а также у периодически курящих табачные изделия достоверно не различались, однако в целом наблюдалась тенденция к увеличению уровня роданидов. Количество ложноположительных результатов ($C_{SCN^-} \geq 1,5$ ммоль у некурящих) не превышало 5,5%.

Концентрация тиоцианат-ионов слюны значительно возрастает с увеличением количества выкуриваемых сигарет (рис.6).

Содержание роданидов в слюне участников анализа, выкуривающих в среднем 1—10 сигарет в день на 25% (1 ммоль/л) выше, чем у некурящих (0,4 ммоль/л). Количество тиоцианат-ионов в слюне у лиц, выкуривающих около 20 сигарет в день, в 3 раза выше, чем у выкуривающих до 10 сигарет, и в 7,5 раз выше, чем у некурящих. При регулярном курении сигарет отмечается высокий уровень тиоцианатов в слюне (до 6 ммоль/л). Так, у некурящих людей содержание роданидов не превышает 1,5 ммоль/л. У лиц, выкуривающих от 1 до 10 сигарет в день, концентрация роданидов в слюне составляет 1,5—2,5 ммоль/л. Более высокие уровни (2,5—6 ммоль/л) роданидов наблюдаются у выкуривающих более 10 сигарет в день.

Изучение содержания роданидов в слюне в зависимости от количества выкуриваемых сигарет за последние 24 ч и общего количества выкуриваемых сигарет показало отсутствие статистически значимых различий (рис. 7).

Однако на рис.7 видно, что в целом наблюдается

тенденция к повышению концентраций тиоцианатов (в среднем на 0,3 ммоль/л).

Обсуждение. Точное измерение маркеров табакокурения является важным для контроля курильщиков, особенно подростков, а также для принятия мер, направленных на ослабление тяги к курению или отказ от этой привычки. Химические маркеры, такие как тиоцианаты слюны, позволяют получить количественную информацию о привычках курения. Небольшие концентрации тиоцианат-анионов обнаруживаются в плазме крови (0,1—0,2 ммоль/л) и моче (5—10 мкмоль/л) человека, значительно большее количество концентрируется в ротовой жидкости человека (до 6 ммоль/л), поэтому детектирование роданидов по слюне представляется наиболее удобным и безопасным. В работе F. Pena-Pereira и соавт. [23] описан способ для обнаружения роданидов в человеческой слюне на основе формирования роданида железа (III) на бумажной платформе с последующим анализом изображения с помощью сканера. Устройство представляет собой тест-полоску. В результате проведенных у 11 человек исследований выявлен средний уровень тиоцианатов в слюне в диапазоне 0,28—0,87 ммоль/л и 0,78—4,28 ммоль/л для некурящих и курящих соответственно [23], что также коррелирует с полученными нами данными. Однако тиоцианаты не являются исключительным показателем курения сигарет. Потребление неорганических тиоцианатсодержащих продуктов, таких как молоко и сыр, а также овощей, содержащих глюкозинолаты, способствует увеличению этих анионов в жидкостях организма человека. Также хронически высокий уровень тиоцианата в физиологических жидкостях при отсутствии курения связан с дисбактериозом [24]. Поэтому тиоцианаты из других источников, помимо сигаретного дыма, могут способствовать получению ложноположительных результатов в нашем исследовании. Тем не менее высокие концентрации роданидов в физиологических жидкостях в первую очередь связаны с воздействием синильной кислоты, присутствующей в сигаретном дыме. Тест-устройство неэффективно для обнаружения спорадических курящих, таких которые курят несколько сигарет в месяц, при таком типе куре-

Таблица 1

Уровень тиоцианат-ионов ($\bar{X} \pm m_x$) в слюне в зависимости от частоты курения

Частота курения	Число опрошенных	Концентрация SCN^- , ммоль/л	p
Никогда	68	0,3 ± 0,04	≤ 0,01
1—2 раза в месяц	8	0,5 ± 0,3	≥ 0,05
1—2 раза в неделю	8	0,8 ± 0,33	≥ 0,05
Каждый день	16	2,5 ± 0,49	≤ 0,05

Таблица 2

Уровень тиоцианат-ионов ($\bar{X} \pm m_x$) в слюне в зависимости от количества выкуриваемых сигарет в день

Количество сигарет	Число опрошенных	Концентрация SCN^- , ммоль/л	p
0	75	0,4 ± 0,05	≤ 0,01
1—10	14	1,0 ± 0,2	≤ 0,05
10—20 +	11	3,1 ± 0,61	≤ 0,05

Таблица 3

Уровень тиоцианат-ионов ($\bar{X} \pm m$) в зависимости от количества выкуриваемых сигарет за последние 24 ч

Количество сигарет	Число опрошенных	Концентрация SCN ⁻ , ммоль/л	p
0	77	0,4 ± 0,05	≤ 0,01
1—10	14	1,3 ± 0,27	≤ 0,05
10—20 +	9	3,4 ± 0,96	≤ 0,05

ния концентрации роданидов в слюне не отличаются от концентраций у некурящих (0,3 и 0,5 ммоль/л соответственно). При выкуривании ежедневно от 1 до 10 сигарет концентрация роданидов значительно повышается по сравнению с таковой в группах некурящих и нерегулярно курящих лиц — до 1,5 ммоль/л, что позволяет с высокой степенью достоверности дифференцировать наличие или отсутствие привычки курения.

Заключение. С помощью экспресс устройства можно получить информацию о количестве выкуриваемых сигарет. Анализ удобно проводить в домашних условиях, поскольку не требуется дополнительной пробоподготовки слюны.

Применение тест-устройства неэффективно при спорадическом типе курения, но может использоваться для диагностики легкой и средней степени курения (1—10 сигарет в день), применение этого теста особенно актуально в качестве способа контроля подростков.

Тиоцианат-ион может использоваться в качестве маркера курения, поскольку является конечным продуктом метаболизма цианистого водорода табачного дыма, однако существует риск ложноположительных результатов.

Таким образом, предложенный в работе способ измерения тиоцианат-ионов в слюне как маркеров табакокурения является быстрым, недорогим и может применяться в качестве теста на табакокурение.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1, 2, 5—6, 8—20, 23, 24 см. REFERENCES)

3. Суджаева О.А. Некоторые вопросы сердечно-сосудистой профилактики с учетом новых рекомендаций европейского общества кардиологов. *Медицинские новости*. 2017; 2(269): 39—45.
4. Баторжаргалова Б.Ц., Мизерницкий Ю.Л. Социально-медицинские табакокурения у подростков. *Сибирское медицинское обозрение*. 2012; 4(76): 45—50.
7. Островский О.В., Храмов В.А., Попова Т.А. *Биохимия полости рта: Учебное пособие*. Волгоград: ВолГМУ; 2010.
21. Юнкеров В.И., Григорьев С.Г., Резванцев М.В. *Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований*. 3-е изд. дополн. Ленинград: Издательство Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова; 2002.
22. Соловьев О.Н. Применение сухой химии в лабораторной диагностике. *Лабораторная диагностика*. 2015; 8: 138—7.

REFERENCES

1. Maccani M., Knopik V. Cigarette Smoke Exposure-Associated Alterations to Non-Coding RNA. *Front Genet*. 2012; 3: 53.
2. Quak M., Schayck C., Knaapen A., Schooten F. Implications of gene-drug interactions in smoking cessation for improving the prevention of chronic degenerative diseases. *Mutat Res*. 2009; 667(1—2): 44—57.

3. Sudzhaeva O.A. Some questions of cardiovascular disease prevention taking into account new Guidelines of European society of Cardiology. *Meditsinskie novosti*. 2017; 2(269): 39—45. (in Russian)
4. Batorzharalova B.C., Mizernickiy Yu.L. Socio-medical aspects of smoking in teenagers. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie*. 2012; 4(76): 45—50. (in Russian)
5. Geiser F., Much M., Beyer K. Self-evaluation of tobacco exposure by allied health students in a community college setting. *SAGE Open Medicine*. 2017; 11: 5.
6. Tong E., Strouse R., Hall J. et al. National survey of US health professionals' smoking prevalence cessation practices, and beliefs. *Nicotine Tob. Res*. 2010; 12: 724—33.
7. Ostrovskiy O.V., Khramov V.A., Popova T.A. *Biochemistry of the oral cavity [Biohimiya polosti rta. Uchebnoe posobie]*. Volgograd: VolGMU; 2010. (in Russian)
8. Baldawa P., Kulkarni V., Koshiy A., Shaikh S., Varu R., Srivastava G. Levels of salivary thiocyanate and its relation with occurrence of micronuclei using exfoliative cytology in smokers and nonsmokers. *Indian J. Dent. Res*. 2016; 27 (6): 568—73.
9. Riedel K., Hagedorn H.W., Scherer G. Thiocyanate in plasma and saliva. *Analytical Methods*. 2013; 13: 277—92.
10. Russel V., Luepker M., Terry F. Saliva Thiocyanate: A Chemical Indicator of Cigarette Smoking in Adolescents. *AJPH*. 1981; 71(12): 1320—4.
11. Chattaraj S., Arabinda K. Indirect determination of thiocyanate in biological fluids using atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*. 1992; 47(5): 675—80.
12. Hassan S.M., Mohmoud W.H., Elgazwy A.S., Badawy N.M. A Novel Potentiometric Membrane Sensor Based on Aryl Palladium Complex for Selective Determination of Thiocyanate in the Saliva and Urine of Cigarette Smokers. *Electroanalysis*. 2006; 18(21): 2070—8.
13. Jafari M.T., Javaheri M. Selective Method Based on Negative Electropray Ionization Ion Mobility Spectrometry for Direct Analysis of Salivary Thiocyanate. *Anal. Chem*. 2010; 82(15): 6721—5.
14. Glatz Z., Novakova S., Sterbova H. Analysis of thiocyanate in biological fluids by capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography A*. 2001; 916(1): 273—7.
15. Torano J., Kan J.M. Simultaneous determination of the tobacco smoke uptake parameters nicotine, cotinine and thiocyanate in urine, saliva and hair, using gas chromatography-mass spectrometry for characterisation of smoking status of recently exposed subjects. *Analyst*. 2003; 128(7): 838—43.
16. Joilton J., Junior S., Marcelo A., Valdinete L. et al. Spectrophotometric Determination of Thiocyanate in Human Saliva Employing Micropumping Multicommutation Flow System. *Spectroscopy Letters*. 2010; 43: 213—9.
17. Jie H., Wang S., Wang L. Advances in paper-based point-of-care diagnostics. *Biosensors and Bioelectronics*. 2014; 54(15): 585—97.
18. Mahatoa K., Srivastava A., Chandra P. Paper based diagnostics for personalized health care: Emerging technologies and commercial aspects. *Biosensors and Bioelectronics*. 2017; 96(15): 246—59.
19. Ballerini D.R., Shen Xu L. Patterned paper and alternative materials as substrates for low-cost microfluidic diagnostics. *Microfluidics and Nanofluidics*. 2012; 13(5): 769—87.
20. Kaewarsa P., Laiwattanapaisal W., Palasuwan A., Palasuwan D. A new paper-based analytical device for detection of Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Talanta*. 2017; 1(164): 534—9.
21. Junkerov V.I., Grigor'ev S.G., Rezvancev M.V. *Mathematical and statistical processing of medical research data [Matematiko-statisticheskaya obrabotka dannykh meditsinskikh issledovaniy]*. 3rd ed. Leningrad: Izdatel'stvo Voenno-meditsinskoy ordena Lenina akademii im. S.M. Kirova; 2002. (in Russian)
22. Solov'ev O.N. Application of dry chemistry in laboratory diagnostics. *Laboratornaya diagnostika*. 2015; 8: 138—7. (in Russian)
23. Pena-Pereira F., Lavilla I., Bendicho C. Paper-based analytical device for instrumental-free detection of thiocyanate in saliva as a biomarker of tobacco smoke exposure. *Talanta*. 2016; 147(15): 390—6.
24. Cartea M., Velasco P. Glucosinolates in Brassica foods: bioavailability in food and significance for human health. *Phytochem Rev*. 2008; 7: 213—29.

К ст. *А.В. Соколова* и соавт.



Рис. 1. Нативная цветовая шкала для полуколичественного определения концентрации тиоцианат-ионов в слюне (сканированные образцы).

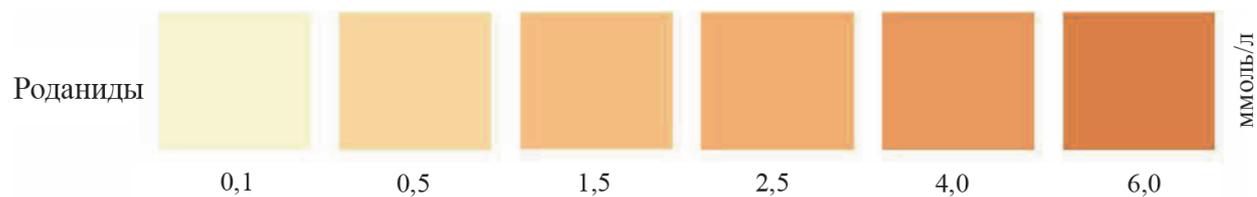


Рис. 2. Цифровая цветовая шкала для полуколичественного определения концентрации тиоцианат-ионов в слюне.

К ст. *М.В. Савостиковой* и соавт.

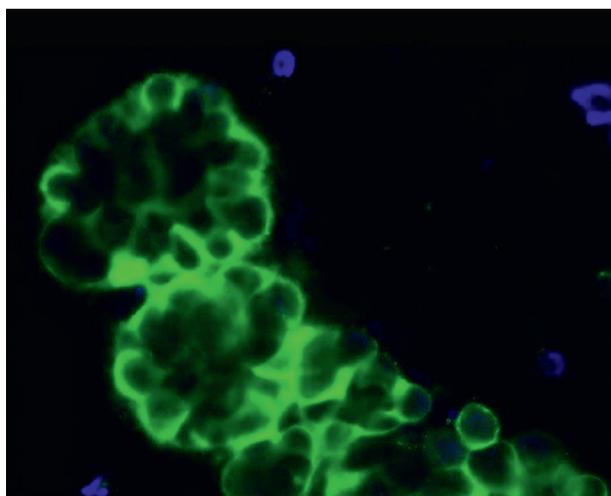


Рис. 1. Асцит, метастаз рака яичников. Положительная экспрессия Ver-EP4-FITC в клетках опухоли. Ув. 200.

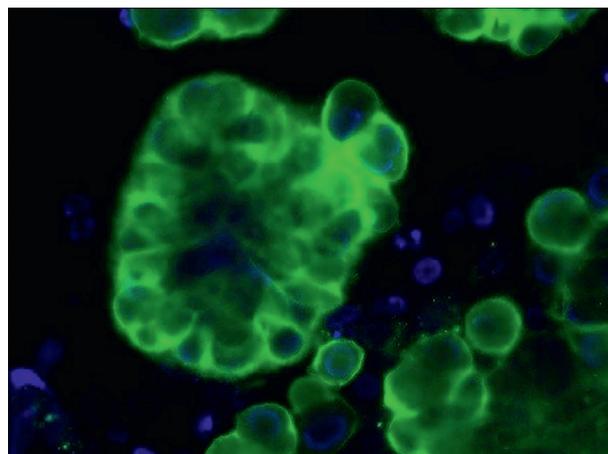


Рис. 2. Асцит, метастаз рака яичников. Положительная экспрессия Ver-EP4-FITC в клетках опухоли. Ув. 200.

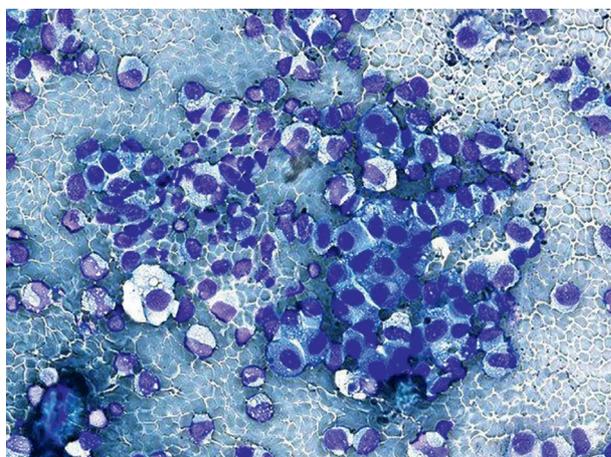


Рис. 3. Плевральный выпот. Реактивная пролиферация клеток мезотелия. Окраска по Лейшману. Ув. 200.

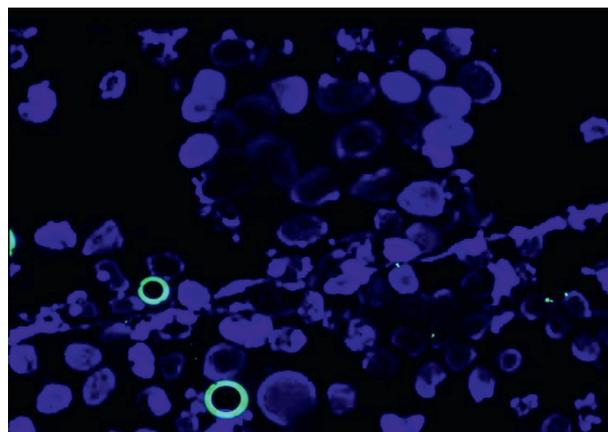


Рис. 4. Отрицательная экспрессия Ver-EP4-FITC. Ув. 400.