



УКРАЇНА

(19) UA (11) 52236 (13) U
(51) МПК (2009)
A61B 10/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ГЕКСОЗ ХЛОРНОРОЗЧИННИХ ГЛІКОПРОТЕЇНІВ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ

1

2

(21) u200911085

(22) 02.11.2009

(24) 25.08.2010

(46) 25.08.2010, Бюл.№ 16, 2010 р.

(72) ЛАЗОРЕНКО АНДРІЙ БОРИСОВИЧ, ІЗДЕП-СЬКИЙ ВІТАЛІЙ ЙОСИПОВИЧ, ХАРЕНКО МИКОЛА ІВАНОВИЧ, КРАЄВСЬКИЙ АПОЛЛІНАРІЙ ЙОСИПОВИЧ, ПАРАЩЕНКО ІРИНА ВІКТОРІВНА, СТОЦЬКИЙ ОЛЕКСАНДР ГРИГОРОВИЧ, ЧЕРНЕ-НКО АНДРІЙ АНАТОЛІЙОВИЧ

(73) СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

(57) Спосіб визначення гексоз хлорнорозчинних глікопротеїнів в біологічних рідинах, який відріз-

няється тим, що в отриманій ресуспендованій фракції серомукоїдів при додаванні орцинолового реактиву (7,5 мл сірчаної кислоти (40 мл H_2O та 60 мл H_2SO_4) та 1 мл 1,6 % водного розчину орцину) та інкубації при $80^\circ C$ у водяній бані в реакцію з утворенням фурфуролів вступають тільки вуглеводні залишки хлорнорозчинних глікопротеїнів, які належать до білків гострої фази ($\alpha 1$ -кислий глікопротеїн, $\alpha 1$ -антитрипсин, $\alpha 1$ -глікопротеїн, Gc групо-специфічні компоненти, гаптоглобін, $\beta 1$ -глікопротеїн, $\beta 1$ -глікопротеїн, що не містить сіалової кислоти, $\beta 2$ -глікопротеїни).

Корисна модель відноситься до ветеринарної хірургії, а саме до ветеринарної загальної хірургії і може бути використаний для визначення гексоз хлорнорозчинних глікопротеїнів у плазмі, сироватці крові, синовіальній рідині, тканинних екстрактах, з метою діагностики та моніторингу перебігу асептичної і септичної запальної реакції у м'яких та щільних тканинах. Може бути використаний при проведенні лабораторних досліджень біологічних субстратів з метою діагностики і прогнозування запальних процесів, та моніторингу ефективності лікування.

В ветеринарній хірургії відомі методи визначення серомукоїдів (білків розчинних у хлорній кислоті), в сироватці та плазмі крові.

Метод передбачає додавання до плазми (сироватки) крові хлорної кислоти, при цьому протеїни випадають у осад, а серомукоїди залишаються в розчині з якого вини можуть бути преципітованими фосфорновольфрамовою кислотою. За ступенем помутніння розчину судять про вміст серомукоїдів у пробі. Інтенсивність помутніння визначають на фотоелектроколориметрі при 680нм та довжиною оптичного шляху 10мм. [Лабораторные методы исследования в клинике. / Под ред. В.В. Меншикова. - М.: Медицина, 1987. - С.236-237].

Однак, даний метод дозволяє виявляти весь спектр серомукоїдів, а саме: преальбумін, хлорно-

розчинний альбумін, озоромукоїд ($\alpha 1$ - кислий глікопротеїн), $\alpha 1$ -антитрипсин, $\alpha 1$ -глікопротеїн, Gc (групо специфічні) компоненти, гаптоглобін, $\beta 1$ - глікопротеїн, $\beta 1$ -глікопротеїн, що не містить сіалової кислоти, $\beta 2$ -глікопротеїн, еритропоетин та гонадотропний гормон хоріону. В той же час ряд білків цієї групи не є гострофазними (преальбумін, хлорнорозчинний альбумін, еритропоетин та гонадотропний гормон хоріону) і зростання їх концентрації у рідких біологічних субстратах може спотворювати результати досліджень, спричинюючи хибне уявлення щодо інтенсивності запальної реакції та ступеня деструкції тканин.

Тому визначення їх у складі групи серомукоїдів для діагностики запальної реакції є недоцільним.

В основу корисної моделі поставлена задача створити спосіб виділення у фракції серомукоїдів білків гострої фази, що містять в своєму складі вуглеводний компонент у вигляді гексоз (галактоза та маноза). Ці глікопротеїни можуть бути визначені по їх вуглеводному залишку в орценолової реакції, що перебігає з утворенням фурфуролу, який надає пробам темно-помаранчевого кольору.

Поставлену задачу вирішують створенням способу дослідження гексоз білків розчинних у хлорній кислоті (фракція серомукоїдів).

(13) U

(11) 52236

(19) UA

Запропонований спосіб здійснюється таким чином:

До 0,1мл плазми (сироватки) крові додають 1мл 0,9% розчину натрію хлориду та 0,5мл хлорної кислоти. Суміш витримують 15 хвилин при кімнатній температурі. Проби центрифугують 15 хвилин при 3000об/хв. Після цього надосадову рідину переносять в іншу центрифужну пробірку і додають 0,2мл фосфорновольфрамової кислоти, перемішують і витримують 15хв. при кімнатній температурі. Далі проби вдруге центрифугують 15 хвилин при 3000об/хв. Надосадову рідину виливають геть. Осад ресуспензують 0,1н розчином NaOH (1мл) і додають 8,5мл орцинолового реак-

тиву (7,5мл сірчаної кислоти (40мл H₂O та 60мл H₂SO₄) та 1мл 1,6% водного розчину орцину).

Проби інкубують 15 хвилин при 80°C у водяній бані. Проби остиджують холодною водою 5 хвилин не допускаючи потрапляння на проби прямого сонячного світла. Концентрацію гексоз хлорнорозчинних глікопротеїнів визначають на фотоелектроколориметрі при 540нм та довжиною оптичного шляху 10мм проти контролю (1мл NaOH та 8,5мл орцинолового реактиву). Контроль інкубують аналогічно до дослідних проб.

Кінцеву концентрацію гексоз визначають за калібрувальним графіком, який будують за наступними вихідними даними:

Номер проби	Стандартний розчин галактози та манози, мл (50 мг/50 мг)	0,1 н розчин NaOH, мл	Орциноловий реактив, мл	Концентрація гексоз, г/л
1	0,05	0,95	8,5	0,5
2	0,10	0,90	8,5	1,0
3	0,15	0,85	8,5	1,5
4	0,20	0,80	8,5	2,0
5	0,25	0,75	8,5	2,5
6	0,30	0,70	8,5	3,0