



УКРАЇНА

(19) UA (11) 62126 (13) A

(51) 7 G01N33/50

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВІНАХІДВидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ SH-ГРУП У ПЛАЗМІ КРОВІ

1

2

(21) 20021210122

(22) 16 12 2002

(24) 15 12 2003

(46) 15 12 2003, Бюл. № 12, 2003 р.

(72) Пішак Василь Павлович, Роговий Юрій Євге-  
нович, Магальс Віктор Миколайович, Циганова  
Альбіна Олександрівна, Оленович Ольга Анатоліївна

(73) Циганова Альбіна Олександрівна

(57) Спосіб визначення концентрації SH-груп у  
плазмі крові шляхом проведення реакції з реакти-

вом Елмана (5,5'-дитіобіс(нітробензойна кислота) в  
лужному середовищі, який **відрізняється** тим, що  
для розширення функціональних можливостей та  
підвищення точності діагностики з виявленням  
прихованих чи повільно реагуючих SH-груп прово-  
дять осадження білків розчином трихлороцтової  
кислоти із подальшим розчиненням відмитого оса-  
ду в розчині сечовини

Винахід належить до галузі медицини, а саме  
до біохімії і може бути використаний для діагно-  
стики концентрації сульфгідрильних груп у плазмі  
крові, які входять до складу багатьох біологічних  
сполук білків, пептидів, ферментів, відновленого  
глутатіону, цистеїну, ліпсової кислоти, гомоцистеї-  
ну тощо і є важливими для прояву функціональної  
активності білків каталітичної, зокрема аденілат-  
циклазної, рецепторної, функціонування мембран-  
них структур, взаємодії із зовнішнім середовищем  
клітини (ефекти гормонів, токсинів), різноманітних  
видів активного транспорту, діяльності цитоскеле-  
ту, поділу клітин

Для дослідження концентрації сульфгідриль-  
них груп у плазмі крові застосовують спосіб діаг-  
ностики, який полягає в тому, що при взаємодії  
сполук з вільними SH-групами з реактивом Елмана  
(5,5'-дитіобіс(нітробензойною кислотою) при pH 8,0  
проходить утворення тіонітрофенільного аніона,  
концентрація якого прямопропорційна кількості  
SH-груп. Визначення концентрації SH-груп прово-  
дять спектрофотометрично з врахуванням коефі-  
цієнту молярної екстинкції тіонітрофенільного аніо-  
ну, який при 412 нм рівний  $1,14 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \times \text{см}^{-1}$   
[Мещишен І.Ф., Григор'єва Н.П. Метод кількісного  
визначення SH-груп у крові// Бук мед. вісник -  
2002 - Т.6, № 2 - С. 190-192]. Водночас, застосуван-  
ня даного способу має істотні недоліки, які поля-  
гають у тому, що даний спосіб не дає можливості  
визначати приховані та повільнореагуючі SH-  
групи, що знижує точність та функціональні мож-  
ливості діагностики

В основу винаходу поставлено задачу розро-

бити спосіб оцінки концентрації SH-груп у плазмі  
крові шляхом розширення можливостей методу із  
визначенням прихованих та повільнореагуючих  
SH-груп в плазмі крові, який відрізняється тим, що  
для підвищення точності діагностики проводять  
осадження білків розчином трихлороцтової кис-  
лоти із подальшим розчиненням відмитого осаду в  
розчині сечовини

За рахунок осадження білків розчином трих-  
лороцтової кислоти із подальшим розчиненням  
відмитого осаду в розчині сечовини забезпечуєть-  
ся точність діагностики щодо визначення концен-  
трації SH-груп в плазмі крові й усунення вищевка-  
заних недоліків

Біохімічні дослідження проводять шляхом до-  
давання до 0,2 мл плазми крові 1,0 мл трихлороц-  
тової кислоти і 1,0 мл Тріс-HCl буферу (pH-8,0).  
Ретельно перемішують скляною паличкою,  
центрифугують впродовж 10 хв при 3000 об/хв.  
Зливають супернатант і до осаду, що залишився,  
додають 4 мл Тріс-HCl буферу (pH-8,0). Знову  
центрифугують при 3000 об/хв 10 хв. Після вида-  
лення супернатанту до денатурованого осаду біл-  
ка додають 2,5 мл 8М розчину сечовини і ретельно  
перемішують скляною паличкою до повного роз-  
чинення осаду. До цього розчину додають 0,1 мл  
реактиву Елмана. Через 10 хв вимірюють на спек-  
трофотометрі СФ-46 інтенсивність поглинання  
утвореного жовтого розчину при 412 нм. Таким  
чином, запропонований спосіб розширює можли-  
вості методу із визначенням прихованих та повільно-  
реагуючих SH-груп у плазмі крові, що підтвер-  
джує ефективність запропонованого способу

(13) A  
(11) 62126  
(19) UA

## діагностики

До істотних ознак, що характеризують винахід відноситься оцінка концентрації SH-груп у плазмі крові шляхом розширення можливостей методу із визначенням прихованих та повільнореагуючих SH-груп у плазмі крові, який відрізняється тим, що для підвищення точності діагностики проводять осадження білків розчином трихлорооцтової кис-

лоти із подальшим розчиненням відмитого осаду в розчині сечовини, за допомогою чого досягається усунення вищевказаних недоліків, на відміну від прототипу, за яким дані позитивні ефекти не спостерігаються. Технічний результат, якого можна досягти при здійсненні винаходу, полягає у підвищенні ефективності визначення концентрації SH-груп у плазмі крові, результати наведені в таблиці

Таблиця

Порівняльна характеристика ефективності визначення концентрації SH-груп у плазмі крові відомим і запропонованим способом

| Способи діагностики   | Кількість хворих | Діагностовано приховані та повільно реагуючі SH-групи | Точність діагностики % |
|-----------------------|------------------|---|------------------------|
| Прототип              | 20               | 2   | 10,0                   |
| Запропонований спосіб | 20               | 20  | 100,0                  |

Таким чином, застосування даного способу забезпечує підвищення ефективності діагностики з 10,0% до 100,0%, що вказує на відповідність даного винаходу критерію "позитивний ефект"

Причинно-наслідковий зв'язок між сукупністю ознак і технічним результатом полягає в тому, що для діагностики концентрації SH-груп у плазмі крові враховується можливість визначення прихованих та повільно-реагуючих SH-груп, за допомогою чого вперше досягнуто високі критерії діагностики вищевказаних змін на відміну від прототипу, що забезпечує виявлення нових технічних властивостей винаходу з підвищенням ефективності діагностики концентрації SH-груп у плазмі крові