



УКРАЇНА

(19) UA (11) 29198 (13) U  
(51) МПК (2006)  
G01N 33/48

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

### (54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ФРАКЦІЙ СУЛЬФАТОВАНИХ ГЕКСОЗАМІНОГЛІКАНІВ

1

2

(21) u200708505

(22) 24.07.2007

(24) 10.01.2008

(72) ЛЕОНТЬЄВА ФРИДА СОЛОМОНІВНА, UA,  
ФІЛІПЕНКО ВОЛОДИМИР АКІМОВИЧ, UA,  
ТИМОШЕНКО ОЛЬГА ПАВЛІВНА, UA, КАРТАШОВ  
МИКОЛА ІВАНОВИЧ, UA, КІБКАПО ДМИТРО  
ВІКТОРОВИЧ, UA, ТУЛЯКОВ ВЛАДИСЛАВ  
ОЛЕКСАНДРОВИЧ, UA, РЯБКОВА ЛЮДМИЛА  
ПЕТРІВНА, UA

(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ  
ПАТОЛОГІЇ ХРЕБТА ТА СУГЛОБІВ ІМ. ПРОФ.

М.І.СИТЕНКА АМНУ", UA, ХАРКІВСЬКА  
ДЕРЖАВНА ЗООВЕТЕРИНАРНА АКАДЕМІЯ, UA  
(56)

(57) Спосіб визначення фракцій сульфатованих  
гексозаміногліканів в сироватці крові шляхом  
використання як осаджувача резорхіну, який  
відрізняється тим, що фракціонування проводять  
1М розчином натрію хлориду, визначають  
концентрацію в г/л хондроїтин-4-сульфатів,  
хондроїтин-6-сульфатів, гепарансульфатів з  
використанням відповідних стандартних розчинів.

Корисна модель відноситься до медицини, а  
саме до біологічних способів діагностики та  
призначена для визначення стану обміну  
сполучної тканини в нормі і при різних  
захворюваннях.

Найбільш близьким та обраним за прототип є  
спосіб визначення глікозаміногліканів в сироватці  
крові шляхом осадження цих речовин резорхіном з  
наступним вимірюванням ступеню помутніння  
проби [Фильчагин Н.М., Мылов Н.М., Агабабова  
Э.Р. К изучению сульфополисахаридов  
синовальной жидкости при инфекционном  
неспецифическом полиартрите для  
характеристики деструктивных процессов в  
суставах // Вопросы ревматизма. - 1969. - №30. -  
С.19-22].

Відомий спосіб не дозволяє визначити  
кількісний (г/л) вміст фракцій сульфатованих  
гексозаміногліканів.

В основу корисної моделі поставлено задачу  
удосконалення способу визначення фракцій  
сульфованих гексозаміногліканів в сироватці  
крові, в якому за рахунок зміни осаджувача,  
досягається визначення кількісного вмісту фракцій  
сульфованих гексозаміногліканів.

Поставлена задача вирішується в способі  
визначення фракцій сульфатованих  
гексозаміногліканів в сироватці крові шляхом  
осадження цих речовин резорхіном з наступним  
вимірюванням ступеню помутніння проби, згідно з

корисною моделлю, фракціонування проводять 1М  
розчином натрію хлориду, визначають  
концентрацію в г/л хондроїтин-4-сульфатів,  
хондроїтин-6-сульфатів, гепарансульфатів з  
використанням відповідних стандартних розчинів.

Завдяки використанню даної методики  
досягається підвищення точності, завдяки  
можливості визначення фракцій сульфатованих  
гексозаміногліканів в г/л.

Спосіб здійснюють таким чином:

Кров для дослідження беруть після 12  
годинної голодної дієти в суху чисту пробірку на  
тщє серце, це є важливою умовою, оскільки метод  
базується на нефелометрії (визначення мутності  
розчину) а хільоз суттєво завищує результати.  
Сироватку отримують методом центрифугування.

Для проведення дослідження використовують  
2 пробірки дослідну та контрольну.

Пробірки Речовини	Контроль
Сироватка крові	0,05мл
Дистильована вода	3,35мл
0,5% розчину резорхіну	1,0мл

Пробірки струшують і витримують при t 25°C  
30 хвилин, після чого вимірюють інтенсивність  
помутніння розчину на фотоелектрокалориметрі з  
властивостями нефелометра (дозволяє визначати

UA (11) 29198 (13) U

мутність розчину) при довжині хвилі 400нм в кюветі з товщиною робочого шару 5мм.

Для визначення хондроїтин-6-сульфатів в дослідну та контрольну пробірки додають по 0,05мл 1М розчину хлориду натрію. Пробірки струшують і витримують при  $t$  25°C 10 хвилин після чого вимірюють інтенсивність помутніння в дослідній та контрольній пробірках на фотоелектрокалориметрі з властивостями нефелометра при довжині хвилі 400нм в кюветі з товщиною робочого шару 5мм. Вираховують різницю в показниках досліді та контролю та за калібрувальною кривою визначають концентрацію хондроїтин-6-сульфату в г/л.

Для визначення вмісту хондроїтин-4-сульфатів в дослідну та контрольну пробірки додають по 0,05мл 1М розчину хлориду натрію. Пробірки струшують і витримують при  $t$  25°C 10 хвилин після чого вимірюють інтенсивність помутніння в дослідній та контрольній пробірках на довжині хвилі 400нм в кюветі з товщиною робочого шару 5мм. Вираховують різницю в показниках досліді та контролю та за калібрувальною кривою визначають концентрацію хондроїтин-4-сульфату в г/л.

Для визначення гепарансульфату в дослідну та контрольну пробірки додають по 0,05мл 1М розчину хлориду натрію. Пробірки струшують і витримують при  $t$  25°C 10 хвилин після чого вимірюють інтенсивність помутніння в дослідній та контрольній пробірках на фотоелектрокалориметрі довжині хвилі 400нм в кюветі з товщиною робочого шару 5мм. Вираховують різницю в показниках досліді та контролю та за калібрувальною кривою визначають концентрацію гепарансульфату.

Для проведення досліджень будують 3 калібрувальних графіки з використанням стандартних розчинів з різним вмістом розчинів (0,2г/л, 0,15г/л, 0,1г/л 0,05г/л, 0,01г/л) хондроїтин-6-сульфату, хондроїтин-4-сульфатів та гепарансульфату, для чого при побудові кожного з 3 графіків дослідження проводять в 5 дослідних пробірках і 1 контрольній в якій замість сироватки крові вносять стандартні розчини з різним вмістом (0,2г/л, 0,15г/л, 0,1г/л 0,05г/л, 0,01г/л) хондроїтин-6-сульфату-1 графік, хондроїтин-4-сульфатів-2 графік та гепарансульфату - 3 графік. Далі дослідження проводяться за вищенаведеною схемою.

При дослідженні 20 клінічно здорових людей встановили що вміст хондроїтин-6-сульфату складає  $0,06 \pm 0,008$ г/л, хондроїтин-4-сульфатів  $0,04 \pm 0,006$ г/л, гепарансульфату  $0,025 \pm 0,004$ г/л.

Таким чином запропонований спосіб дозволяє визначати вміст в г/л хондроїтин-6-сульфату, хондроїтин-4-сульфатів та гепарансульфату в сироватці крові в нормі та при різних патологічних станах.