



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **75643** (13) **U**  
(51) МПК  
**G01N 33/53** (2006.01)

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: <b>u 2012 06028</b>	(72) Винахідник(и): <b>Ковальов Олексій Олексійович (UA), Грудинська Тетяна Вікторівна (UA), Кузнецова Тетяна Павлівна (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>18.05.2012</b>	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.12.2012</b>	(73) Власник(и): <b>ДЕРЖАВНИЙ ЗАКЛАД "ЗАПОРІЗЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ МОЗ УКРАЇНИ", бул. Вінтера, 20, м. Запоріжжя, 69096 (UA), Ковальов Олексій Олексійович, вул. Добролюбова, 12, кв. 30, м. Запоріжжя, 69006 (UA), Грудинська Тетяна Вікторівна, вул. Шевченка, 52, смт Кушугум, Запорізький р-н, Запорізька обл., 70450 (UA), Кузнецова Тетяна Павлівна, вул. Малиновського, 28-а, кв. 93, м. Запоріжжя, 69104 (UA)</b>
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.12.2012, Бюл.№ 23</b>	

## (54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ЦИРКУЛЮЮЧИХ РАКОВИХ КЛІТИН У КРОВІ

### (57) Реферат:

Спосіб визначення циркулюючих ракових клітин у крові, що включає пропускання крові через мікропористий пристрій та візуалізацію клітин, причому як мікропористий пристрій використовують лейкоцитарний фільтр.

UA 75643 U



Корисна модель стосується медицини, а саме онкології та лабораторної діагностики, і може бути використана для підвищення якості обстеження та лікування хворих на рак.

Існує декілька підходів до визначення циркулюючих ракових клітин в крові онкологічних хворих, проте вони досить коштовні та вимагають наявності спеціалізованого обладнання.

Відомий спосіб визначення концентрації циркулюючих ракових клітин в крові шляхом проточної цитофлюометрії. Метод заснований на оцінці деяких фізичних і морфологічних властивостей клітин, що циркулюють в крові при пропущенні через них світлового випромінювання. У кров, попередньо взятую у хворого, додають антитіла до різних CD-антигенів клітинної поверхні, а потім вносять в проточну кварцову кювету. Клітини крові в проточному цитофлюорометрі у вигляді ламінарного потоку автоматизовано перетинають світловий пучок. Джерелом світла можуть бути різні лазери, ультрафіолетова лампа або їх комбінація. Світлові хвилі певної довжини збуджують молекули флуоресцентних барвників, пов'язаних з різними клітинними компонентами. Також в ході аналізу враховується світлова дисперсія цих клітин, що дає можливість виявити їх морфологічні властивості (діаметр ядра, наявність ядерець, розмір клітини, гранулярність). Світлові сигнали фокусуються на фотодетектори, посилюються і реєструються окремо як параметри, причому кожен параметр дозволяє оцінити вміст клітин, які мають відповідну позначку і належать до відповідної субпопуляції. Результати аналізу виражаються у вигляді гістограм, одно- і двопараметричних, що відображають розподіл клітин за інтенсивністю світіння одного або двох флуорохромів (відсоток мічених клітин із середньою інтенсивністю світіння). (Яріліна А.А. Основи імунології. – М.: Медицина, 1999. - С. 543-544).

Спільною суттєвою ознакою аналога і корисної моделі, що заявляється, є пропускання крові через пристрій, що дозволяє виявити клітини певної популяції у кровотоці людини.

Але цей спосіб є недостатньо ефективним, тому що при його використанні потрібне спеціальне обладнання. Крім того, він є достатньо дорогим.

Найбільш близьким за технічною суттю і результатами є спосіб виявлення циркулюючих ракових клітин в крові за допомогою кремнієвої пластини розміром 1 на 2 сантиметри (silicon-papillary array (SiNP)). Для цього у хворого здійснюють забір крові (до 500 мл) і забрану кров пропускають через пластину. Пластина покрита кремнієвими виростами з поперечником в нанометри і завдовжки в мікрметри. Після чого на поверхню пластини наносять антитіла (anti-EpCAM - білок), здатні розпізнавати і захоплювати ракові клітини. Антитіла поєднані з флуоресцентним маркером, який реагує, наносять антитіла (anti-EpCAM - білок), здатні розпізнавати і захоплювати ракові клітини. Антитіла поєднані з флуоресцентним маркером, який реагує з білками на поверхні ракових клітин і вони набувають специфічного світіння. Визначення числа клітин, захоплених пластиною в крові візуалізується при мікроскопічному дослідженні вмісту пластини в темновому полі (Shutao Wang Dr., Hao Wang Dr., Jing Jiao Dr., Angewandte Chemie International Edition, Том 48, випуск 47, сторінки 8970-8973).

Спільною суттєвою ознакою прототипу і корисної моделі є пропускання забраної у людини крові через мікропористий пристрій.

Недоліком даного методу є його дороговизна.

Задачею корисної моделі є створення зручного та дешевого способу визначення циркулюючих ракових клітин у крові.

Поставлена задача вирішується за рахунок того, що кров пропускають через лейкоцитарний фільтр.

Запропонований спосіб здійснюють наступним чином:

Попередньо взятую у хворого кров, ретрансфундують через лейкоцитарний фільтр, підключений до системи для переливання крові.

Фільтр видаляють із системи, прополіскують в фізіологічному розчині (NaCl 0,9 %).

Фільтрат центрифугують, вміст нижніх відділів центрифугата змішують з 5 % оцтовою кислотою в співвідношенні 1:20 (для лізису еритроцитів).

Вміст фільтра повторно центрифугують і знову вміст найбільш нижніх шарів центрифугата наносять у вигляді мазків на предметні стекла.

Мазки фарбують за Романовським-Гімзою або Папаніколау.

Візуалізують клітини в світловому мікроскопі при збільшенні 200, 400, 1000 разів.

Приклад:

У пацієнтки Г. 28 років з низькодиференційованою аденокарциномою шлунка в післяопераційному періоді при проведенні УЗД, комп'ютерної томографії, рентген-діагностики вогнищ метастазів не виявлено. Перед визначенням тактики подальшого лікування, хворій було проведено визначення циркулюючих ракових клітин у крові. В результаті виявлено поодинокі, переважно голоядерні, елементи аденокарциноми. У зв'язку з чим планується проведення більш агресивної ад'ювантної хіміотерапії.

Впровадження способу визначення циркулюючих ракових клітин у крові сприятиме індивідуалізації та вибору найбільш адекватної тактики лікування онкохворих.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5

Спосіб визначення циркулюючих ракових клітин у крові, що включає пропускання крові через мікропористий пристрій та візуалізацію клітин, який **відрізняється** тим, що як мікропористий пристрій використовують лейкоцитарний фільтр.

---

Комп'ютерна верстка В. Мацело

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601