



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA**

(11) **91461**

(13) **U**

(51) МПК

G01N 33/49 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2013 14977**

(22) Дата подання заявки: **20.12.2013**

(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **10.07.2014**

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **10.07.2014, Бюл.№ 13**

(72) Винахідник(и):

**Мензарар Ганна Олегівна (UA),
Гнилорибов Андрій Михайлович (UA),
Барінов Едуард Федорович (UA),
Сулаєва Оксана Миколаївна (UA),
Століка Олег Ігорович (UA),
Басацький Андрій Володимирович (UA),
Гущина Юлія Юріївна (UA),
Хаустова Анастасія Сергіївна (UA),
Ріджок Вікторія Володимирівна (UA),
Джоджуа Рамаз Анзорович (UA),
Михайліченко Євгенія Сергіївна (UA)**

(73) Власник(и):

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ
НЕВІДКЛАДНОЇ І ВІДНОВНОЇ ХІРУРГІЇ ІМ.
В.К. ГУСАКА НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ
МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ",
пр. Ленінський, 47, м. Донецьк, 83045 (UA)**

(74) Представник:

**Цесаренко Сергій Миколайович, реєстр.
№146**

(54) СПОСІБ ДЕТЕКЦІЇ ТРОМБОЦИТАРНО-МОНОЦИТАРНИХ КОМПЛЕКСІВ

(57) Реферат:

Спосіб детекції тромбоцитарно-моноцитарних комплексів містить гейтування, визначення відносної кількості тромбоцитарно-моноцитарних комплексів методом проточної цитометрії. Відносну кількість тромбоцитарно-моноцитарних комплексів визначають використовуючи імунофенотип клітин.

UA 91461 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а більш конкретно до кардіології та гемостазіології і може переважно бути використана в клінічній лабораторній діагностиці.

Відомий спосіб детекції тромбоцитарно-моноцитарних комплексів, що містить гейтування, визначення відносної кількості тромбоцитарно-моноцитарних комплексів методом проточної цитометрії. При цьому кількість моноцитів визначають використовуючи морфологічні параметри клітин [1]. Однак відомий спосіб має невисоку ефективність детекції тромбоцитарно-моноцитарних комплексів, через те, що не забезпечує необхідної точності підрахунку кількості моноцитів, а відповідно і тромбоцитарно-моноцитарних агрегатів.

Задачею цієї корисної моделі є вдосконалення відомого способу детекції тромбоцитарно-моноцитарних комплексів шляхом застосування таких операцій, у такій послідовності і із застосуванням таких засобів, які б забезпечили більш ефективну детекцію тромбоцитарно-моноцитарних комплексів шляхом більш точного підрахунку кількості моноцитів.

Поставлена задача вирішується наступним чином. У відомому способі, що включає гейтування, визначення відносної кількості тромбоцитарно-моноцитарних комплексів методом проточної цитометрії, згідно корисної моделі, відносну кількість тромбоцитарно-моноцитарних комплексів визначають, використовуючи імунотип клітин.

Більш детально суть корисної моделі пояснюється графічними матеріалами.

На Фіг. 1 зображена детекція лейкоцитів серед клітин крові.

На Фіг. 2 - детекція моноцитів серед лейкоцитів за прототипом.

На Фіг. 3 - детекція тромбоцитарно-моноцитарних комплексів.

На Фіг. 4 - детекція моноцитів серед лейкоцитів за даною корисною моделлю.

Спосіб реалізують наступним чином. Венозну кров для дослідження беруть вранці натщесерце шляхом венепункції ліктьової вени у вакуумні пробірки з антикоагулянтом - 0,109 М цитрат натрію, співвідношення 1:9. Відносний вміст тромбоцитарно-моноцитарних агрегатів визначають методом проточної цитометрії з використанням флуоресцентно-мічених моноклональних антитіл CD61-FITC, CD14-PE і CD45-ECD (Beckman Coulter, США) на проточному цитометрі Coulter Epics XL-MCL. Цитометричне дослідження проводять в цільній венозній крові, розведеної в 10 разів фосфатним буфером (PBS). Для фарбування флуоресцентно-міченими антитілами 50 мкл розведеної цільної крові інкубують з 10 мкл CD61-FITC, CD14-PE і CD45-ECD протягом 15 хвилин при кімнатній температурі. Як негативний контроль використовують відповідні ізотипові контролю. Після інкубації додають 500 мкл фіксуючого розчину (PBS містить 1 % параформальдегіду). Зразки аналізують на проточному цитометрі.

Послідовність процедури детекції тромбоцитарно-моноцитарних комплексів:

1. Детекція популяції лейкоцитів серед клітин крові за допомогою специфічного маркера CD 45-ECD (регіон А-позитивні події - лейкоцити) (Фіг. 1).

2. Детекція моноцитів серед лейкоцитів (Фіг. 2 за прототипом та Фіг. 4 - за даними корисної моделі). Визначення відносної кількості моноцитів за даними морфологічного аналізу (Фіг. 2). Моноцити детектували за допомогою морфологічних маркерів клітин (розмір і гранулярність). Для цього популяцію лейкоцитів (CD45-позитивні клітини) розділили на три субпопуляції (гранулоцити, моноцити, лімфоцити) шляхом детекції сигналів прямого (FS) і бічного (SS) світлорозсіювання (регіон В - моноцити). Події представлені в регіоні В включають як моноцити, так і моноцитарно-тромбоцитарні комплекси. Після гейтування визначали відносну кількість моноцитів.

3. Визначення відносної кількості моноцитів за даними імунотипу клітин (Фіг. 4). Популяцію моноцитів виділяли за допомогою специфічного маркера моноцитів (фенотип CD45⁺CD14⁺). Моноцити - регіон G2;

4. Детекція тромбоцитарно-моноцитарних комплексів (Фіг. 3).

Гейтування за регіоном що містить моноцити. За даними двоколірного аналізу (CD61-FITC та CD14-PE) детектували моноцитарно-тромбоцитарні комплекси (серед моноцитів). Регіон C2-моноцитарно-тромбоцитарні комплекси.

В даній корисній моделі пропонується використовувати замість графічного виділення популяції моноцитів Фіг. 2 більш специфічний маркер моноцитів (фенотип CD45+CD14+) Фіг. 4. (регіон G2). А оскільки кількість моноцитарно-тромбоцитарних агрегатів обчислюється виходячи з кількості моноцитів, то за рахунок зниження кількості хибнопозитивних подій при визначенні кількості моноцитів досягається більш точний підрахунок моноцитарно-тромбоцитарних комплексів.

Джерела інформації прийняті до уваги:

1. Laura Pearson, Jim Thom, Murray Adams, Robert Oosttryck, Rom Krueger, Gerald Yong, Ross Baker (2009). A rapid flow cytometric technique for the detection of platelet-monocyte complexes,

activated platelets and platelet-derived microparticles. International Journal of laboratory hematology, 2009 Aug; 31(4):430-9.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5

Спосіб детекції тромбоцитарно-моноцитарних комплексів, що містить гейтування, визначення відносної кількості тромбоцитарно-моноцитарних комплексів методом проточної цитометрії, який **відрізняється** тим, що відносну кількість тромбоцитарно-моноцитарних комплексів визначають використовуючи імунофенотип клітин.

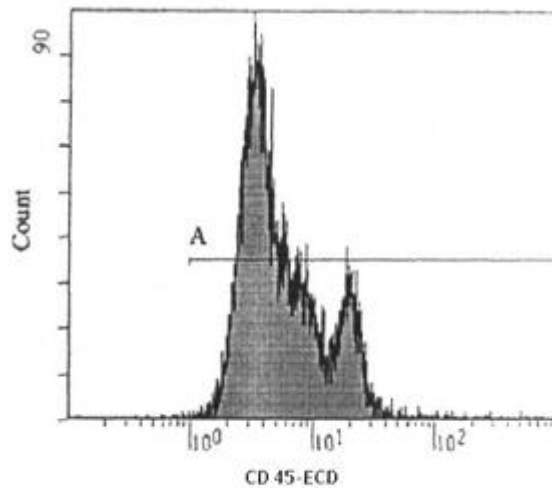


Fig. 1

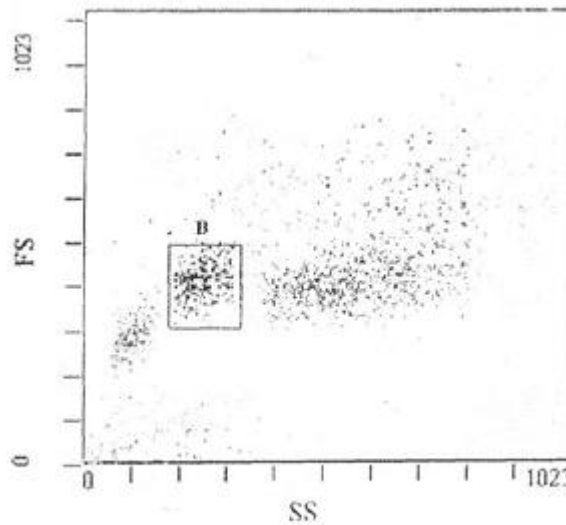


Fig. 2

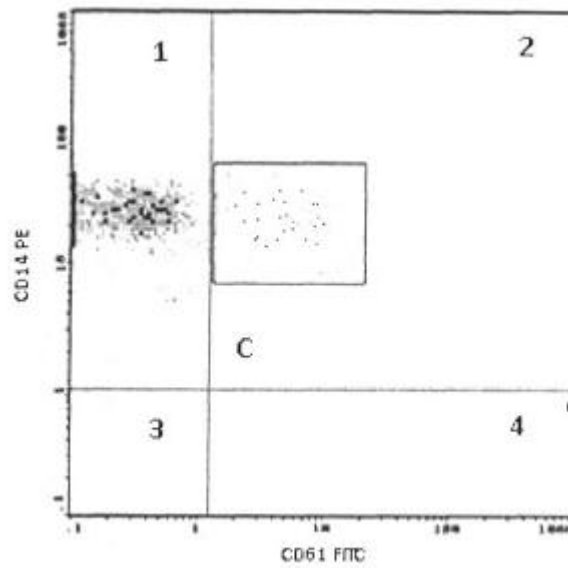


Fig. 3

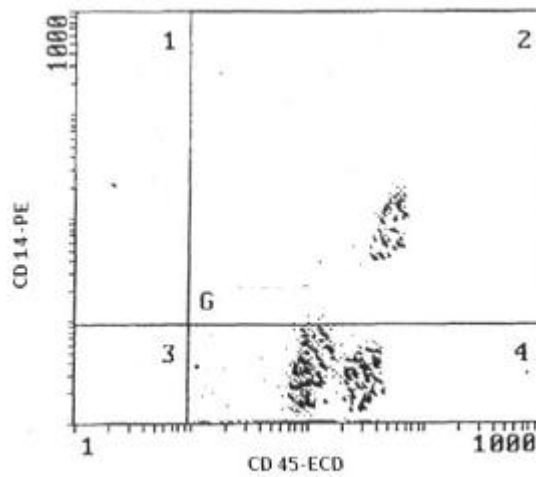


Fig. 4

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

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