



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **20056** (13) **U**
(51) **МПК (2006)**
A61K 35/28
A61N 5/10

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ЗОН РОЗПОДІЛУ СТОVBУРОВИХ КЛІТИН В ОРГАНІЗМІ РЕЦИПІЄНТА

1

(21) u200606717
(22) 16.06.2006
(24) 15.01.2007
(46) 15.01.2007, Бюл. № 1, 2007 р.
(72) Сімонова-Пушкар Лариса Іванівна, Гертман Віра Захарівна, Вікман Ян Едуардович, Білогурова Лариса Василівна, Паскевич Ольга Іванівна
(73) ІНСТИТУТ МЕДИЧНОЇ РАДІОЛОГІЇ
ІМ.С.П.ГРИГОР'ЄВА АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК
УКРАЇНИ

2

(57) Спосіб визначення зон розподілу стовбурових клітин в організмі реципієнта, мічених радіофарм-препаратом, який **відрізняється** тим, що як радіофармпрепарат використовують радіонуклід ^{99m}Tc-пірофосфат натрію з активністю 100 мБк з подальшою поетапною візуалізацією зон розподілу стовбурових клітин в організмі через 1 годину, 3 години, 5 годин і 24 години.

Корисна модель належить до медицини, а саме до радіології, і може бути використана в діагностиці радіаційних уражень організму.

При лікуванні злоякісних новоутворень одним з суттєвих ускладнень є пригнічення кровотворної системи та імунітету, яке можна ефективно компенсувати за допомогою трансплантації стовбурових клітин. Сучасна медицина досягла деяких успіхів в застосуванні трансплантації стовбурових клітин при важких порушеннях гемопоєзу різного генезу, променевих ураженнях кровотворних органів, при розвитку мієлодепресій в процесі променевої терапії онкозахворювань. Після трансплантації стовбурових клітин в організм вони активно мігрують в кістковий мозок. Проте, ще недостатньо вивчено, що впливає на спрямованість і активність процесів міграції стовбурових клітин. Розуміння цього питання відкриє необмежені перспективи спрямованої доставки клітин до пошкоджених тканин. Тому зараз проблема ідентифікації, вивчення зон розподілу стовбурових клітин, що трансплантуються, в живому організмі є досить актуальною. Вирішувати цю проблему дозволяє використання спеціальних речовин, які вводять в клітинну суспензію для мічення стовбурових клітин.

Відомий цілий ряд спеціальних фарбників, які можна вводити в клітинну суспензію для подальшої ідентифікації стовбурових клітин в організмі. Так, наприклад, в експериментальних дослідженнях для ідентифікації клітин використовували флуоресцентний фарбник флюорохром. Даний фарбник дозволяє визначати наявність ядра

(ДНК/РНК) в гістологічних препаратах при мікроскопії [Селиванов С.В. Красители в биологии и медицине: Справочник. - Барнаул: Азбука, 2003г. - 40с.].

Проте відомий фарбник використовується в способах для ідентифікації клітин в гістологічних препаратах з тканин тварин і його неможливо використовувати для прижиттєвої ідентифікації клітин. Крім того, згаданий фарбник токсичний і небезпечний як для самих клітин, що трансплантуються, так і для живого організму.

Найближчим до способу, що заявляється, за технічною суттю та результатом, який досягається, є спосіб визначення зон розподілу стовбурових клітин в організмі реципієнта за допомогою тритію. У клітинну суспензію додавали ростове середовище в співвідношенні 1:1 і ³H-тимідін (питома активність 49мБк/мл) в концентрації 0,2мБк на 1мл суспензії клітин. Мічені по тритію клітини вводили лабораторним тваринам (кроликам) внутрішньовенно і парабільбарно в дозі 1,0 і 0,5мл відповідно. Після введення клітин проводили забій тварин, готували препарати з різних органів і визначали їх радіоактивність на лічильнику «Бекман». Таким чином досліджували шляхи міграції і визначали зони розподілу трансплантованих клітин в організмі реципієнта [Строна В.І., Демин Ю.А., Шарлай Т.М. Пути миграции криоконсервированных кроветворных клеток эмбриональной печени при трансплантации в эксперименте // Пробл. криобиологии. - 2001. - №4. - С.61-64].

(19) **UA** (11) **20056** (13) **U**

Відомий спосіб також не дозволяє здійснювати прижиттєву ідентифікацію зон розподілу стовбурових клітин, що трансплантуються. Крім того, тритій - довгоживучий радіонуклід і його накопичення в живому організмі небезпечно.

У основу корисної моделі поставлене завдання розробки такого способу визначення зон розподілу стовбурових клітин в організмі реципієнта, в якому використання в якості радіофармпрепарату радіонукліду ^{99m}Tc -пірофосфата натрію з подальшою поетапною візуалізацією зон розподілу мічених стовбурових клітин через певні проміжки часу дозволить здійснювати прижиттєву ідентифікацію стовбурових клітин, безпечну як для життєдіяльності трансплантованих клітин, так і для організму реципієнта.

Поставлене завдання досягається тим, що у відомому способі визначення в організмі реципієнта зон розподілу стовбурових клітин, мічених радіофармпрепаратом, згідно корисної моделі, в якості радіофармпрепарату використовують радіонуклід ^{99m}Tc -пірофосфат натрію з активністю 100мБк з подальшою поетапною візуалізацією зон розподілу мічених стовбурових клітин в організмі через 1 годину, 3 години, 5 годин і 24 години.

Фосфатна сполука ^{99m}Tc є нетоксичним короткоживучим радіонуклідом. Активність його зв'язування із стовбуровими клітинами залежить від дози радіонукліда і умов інкубації.

Найактивніше стовбурові клітини поглинають радіофармпрепарат (РФП) у вигляді фосфатної сполуки - пірофосфата натрію ^{99m}Tc , доза активності РФП в 100мБк є достатньою для зв'язування стовбурових клітин при інкубації, збільшення дози в 2 і 3 рази не приводить до збільшення відсотку зв'язування радіоактивної мітки стовбуровими клітинами.

Особливістю фіксації даного РФП в організмі тварини є інтенсивна візуалізація його вже через 1 годину після введення в організм. Через 3 години інтенсивна фіксація зберігається, через 5 годин інтенсивність фіксації скорочується приблизно удвічі і через 24 години практично зникає.

Заявлений спосіб здійснювали таким чином.

У приготувану суспензію клітин кісткового мозку з концентрацією 1млн. клітин в 1мл вводили 0,1мл розчину ^{99m}Tc -пірофосфата натрію з актив-

ністю 100мБк. Потім з одержаної суспензії брали аліквоти по 0,5мл і вводили в хвостову вену щурів. Зафіксованих тварин поміщали під детектор гамма-камери, одержували візуальні зображення на екрані в різних проекціях поетапно через 1 годину, 3 години, 5 годин і 24 години. Далі статичні сцинтиграми проходили комп'ютерну обробку і аналізувалися. У передній і задній прямих проекціях визначали зони розподілу мічених стовбурових клітин в організмі щурів. Тваринам контрольної групи вводили адекватну дозу радіонукліда ^{99m}Tc . Порівнювали візуальні зображення піддослідної групи тварин і контрольної групи.

Радіонуклід ^{99m}Tc належить до остеотропних препаратів, основна фіксація його спостерігається в кістках скелета, особливо в хребті, тазових кістках і менш інтенсивно - в кістках кінцівок і черепа.

Основною особливістю фіксації даного РФП у контрольних тварин є його рівномірний розподіл в кістках скелета. Подібний характер фіксації РФП зберігається протягом всього періоду спостережень, тобто і через 3 і 5 годин після введення радіонукліда, проте інтенсивність зображення поступово знижується і через 24 години воно не фіксується.

У піддослідній групі тварин вже через 1 годину після введення суспензії мічених стовбурових клітин кісткового мозку помітна середньо-інтенсивна фіксація РФП у області грудини. Слабо-інтенсивна фіксація РФП спостерігається також у області середньо-грудинного відділу хребта. Через 3 години після введення РФП зберігалася його інтенсивна фіксація в грудині і грудному відділі хребта. Через 5 годин інтенсивність фіксації знижувалася приблизно удвічі і через 24 години - практично відсутня. Отже, у тварин піддослідної групи відсутній рівномірний розподіл РФП в кістках скелета, а накопичення мітки фіксувалося головним чином в грудині - одному з основних депо кровотворних клітин кісткового мозку.

Таким чином, спосіб визначення зон розподілу стовбурових клітин в організмі реципієнта дозволяє здійснити:

- прижиттєву ідентифікацію стовбурових клітин в організмі;
- безпечну трансплантацію для життєдіяльності стовбурових клітин і організму взагалі.