



УКРАЇНА

(19) UA (11) 37996 (13) A

(51) 7 A61K35/30, A61K35/48

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

## (54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ТРАНСПЛАНТАТУ ЕМБРІОНАЛЬНОЇ НЕРВОВОЇ ТКАНИНИ

(21) 2000052752

(22) 15.05.2000

(24) 15.05.2001

(33) UA

(46) 15.05.2001, Бюл. № 4, 2001 р.

(72) Бабійчук Георгій Опанасович, Ломако Вікторія  
Вікторівна, Шило Олександр Володимирович(73) Інститут проблем кріобіології і кріо-медицини  
національної академії наук України

(57) 1. Спосіб одержання трансплантату ембріональної нервової тканини, що включає занурення ембріона у стерильне живильне середовище, вий-

мання головного мозку і виділення фрагментів нервової тканини з наступним зануренням їх у живильне середовище, який відрізняється тим, що як живильне середовище використовують охолоджене до 4°C середовище 199 з амніотичною рідиною, а вміщені у нього фрагменти нервової тканини витримують при 4°C протягом 1-12 діб.

2. Спосіб відповідно до п. 1, який відрізняється тим, що для гомотопічної трансплантації нервову тканину витримують при 4°C протягом 1-4 діб, а для гетеротопічної 5-12 діб.

Винахід відноситься до медицини, зокрема, трансплантології і нейрохірургії, і може бути використаний для клітинної та тканинної терапії.

Відомий спосіб одержання трансплантату ембріональної нервової тканини (ЕНТ), відповідно до якого ембріон вміщують у стерильну марлеву салфетку, змочену розчином Рінгера з лактатом, видаляють головний мозок і швидко переносять у розчин Рінгера з лактатом у годинниковому склі. Потім виділяють необхідну нервову тканину, яку знову швидко переносять у наступне годинникове скло з розчином Рінгера з лактатом і накривають іншим годинниковим склом. Усі процедури виконуються швидко, зводячи до мінімуму контакт тканин з повітрям, при кімнатній температурі. Трансплантат одержують безпосередньо перед трансплантацією [1].

Основним недоліком цього способу є те, що він не дозволяє одержати трансплантат із заданою функціональною активністю.

Окрім того, трансплантат повинен бути одержаний безпосередньо перед трансплантацією, що значно її ускладнює.

Задачею винаходу є створення такого способу одержання трансплантату ЕНТ, у якому шляхом використання низьких температур забезпечувалася б можливість одержання трансплантату із заданою функціональною активністю.

Ця задача вирішується тим, що в способі одержання трансплантату ЕНТ, що включає вміщення ембріона у стерильне живильне середовище, виймання головного мозку і виділення фрагментів нервової тканини з наступним зануренням їх у живильне середовище, як живильне середовище ви-

користовують охолоджене до 4°C середовище 199 з амніотичною рідиною, а вміщені у нього фрагменти нервової тканини витримують при 4°C протягом 1-12 діб, причому для гомотопічної трансплантації нервову тканину витримують при 4°C протягом 1-4 діб, а для гетеротопічної - 5-12 діб.

У залежності від терміну витримування ЕНТ при 4°C можна одержати трансплантати з різною функціональною активністю і використовувати їх для досягнення різного ефекту. Так, наприклад, при гетеротопічному (периферичному) пересадженні тканини трансплантат не захищено гематоенцефалічним бар'єром (ГЕБ) від імунокомпетентних клітин, тому доцільно застосовувати ЕНТ, витриману при 4°C протягом 5-12 діб. При гомотопічній трансплантації, коли ГЕБ перешкоджає розвитку імунної реакції, застосовують ЕНТ після 1-4 діб витримування при 4°C. У цьому випадку підвищена проліферативна активність такої тканини забезпечує кращу інтеграцію трансплантату з мозком хазяїна і, відповідно, більш повну компенсацію порушених функцій.

Приклад здійснення способу.

У вагітної самиці щура (17 діб гестації) під наркозом витягали ембріони і вміщували у стерильне живильне середовище 199 з 10% амніотичної рідини, охолоджене до 4°C (рН 7,4). Ембріони декапітували, витягали головний мозок, під мікроскопом видаляли мозкові і судинні оболонки і виділяли фрагменти кори і гіпоталамуса. Потім фрагменти ЕНТ вміщували у стерильні пробірки з 1 мл охолодженого до 4°C живильного середовища з 10% амніотичної рідини (рН 7,4; HEPES) і перенесли до побутового холодильника, де витримува-

ли при 4°C 1-12 діб. Температуру виставляли терморегулятором і контролювали термисторами СТ-3-33 за допомогою електронного термометра.

Функціональну активність трансплантатів визначали за інтенсивністю синтезу білка і ДНК радіоізотопним методом (за включенням попередників  $^3\text{H}$  - тимідина і  $^3\text{H}$  - лейцина, відповідно) [2].

Результати представлені в таблиці.

З наведених у таблиці даних випливає, що після витримання ЕНТ при 4°C протягом 1-4 діб спостерігається найбільш високий рівень синтезу білка і ДНК. Це свідчить про високу функціональну і проліферативну активність трансплантатів. Такі трансплатати придатні для гомотопічної трансплантації, так як при гетеротопічної трансплантації є висока можливість їх відторгнення за рахунок зби-

льшення кількості мезогліальних клітин у ході ділення. Для гетеротопічної трансплантації потрібно використовувати трансплантати ЕНТ, витримані при 4°C протягом 5-12 діб, так як вони вже не мають мітотичної активності, але синтез білка зберігається на високому рівні.

Джерела інформації.

1. Das G.D., Hallas B.H., Das K.G. Transplantation of neural tissues in the brains of laboratory mammals. -Technical details and comments// Experimentia.- 1979. - 35, № 2. - p. 143-153.

2. Остерман Л.А. Исследование биологических макромолекул электрофокусированием, иммуноэлектрофорезом и радиоизотопными методами. - М.: Наука, 1983. - С. 203-235.

Таблиця

Функціональна активність трансплантатів ЕНТ

Термін витримання при 4°C, доба	Рівень синтезу білків, імп/мл білка/хв. $\times 10^{-3}$		Рівень синтезу ДНК, імп/од маси ДНК/хв. $\times 10^{-3}$	
	кора	гіпоталамус	кора	гіпоталамус
Контроль	12,2 $\pm$ 0,1	16,7 $\pm$ 0,2	2,3 $\pm$ 0,15	3,25 $\pm$ 0,05
1-4	26,5 $\pm$ 0,5	35,1 $\pm$ 0,15	3,91 $\pm$ 0,04	6,45 $\pm$ 0,05
5	18,1 $\pm$ 0,5	17,3 $\pm$ 0,4	1,1 $\pm$ 0,1	1,3 $\pm$ 0,1
6-12	22,5 $\pm$ 0,4	22,1 $\pm$ 0,2	0	0

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)  
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26  
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку \_\_\_\_\_ 2001 р. Формат 60x84 1/8.  
Обсяг \_\_\_\_\_ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. \_\_\_\_\_

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.  
(044) 268-25-22