



УКРАЇНА

(19) UA (11) 43256 (13) A

(51) 7 A61B17/00

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

(54) СПОСІБ КУЛЬТИВУВАННЯ ПУХЛИННОЇ ТКАНИНИ

(21) 2001053089

(22) 06.05.2001

(24) 15.11.2001

(33) UA

(46) 15.11.2001, Бюл. № 10, 2001 р.

(72) Іщенко Роман Вікторович

(73) Іщенко Роман Вікторович, UA

(57) Спосіб культивування пухлинної тканини, що містить вирощування культури на покривному склі з лункою, використовують плазму як субстрат, за-

стосовують стимулятори росту, розчин Тіроде, сироватку як рідке поживне середовище, вазелін, культивують тканини у термостаті при $T = 38^{\circ}\text{C}$, який відрізняється тим, що використовують плазму і сироватку хворого, що є донором материнської пухлини, покривають культури стерильною вазеліновою олією, після прицільної аспірації олії та рідкого поживного середовища створюють можливість фарбування зони росту.

Винахід відноситься до медицини, а саме до експериментальної онкології і може використовуватися з метою культивування пухлинної тканини.

Аналогами винаходу є метод Гаррисона (метод висячої краплини, 1907 р.) /Топчий М.К., Корнюшенко М.П. Руководство к практическим занятиям по вирусологии. - Киев, 1967. - С. 60 / і метод Стренджуйса і Фелла (1926 р.) /там же, с. 60/.

За методом Гаррисона шматочок тканини розміщують у згустці плазми на покривному склі, яке розташовано на предметному склі з лункою. По краю покривне скло заливається стерильним парафіном.

Згідно з другим аналогом шматочки органів культивують у згустці плазми, що розміщується на часовому склі, яке знаходиться у чашці Петрі з мокрою ватою (для підтримання необхідної вологості).

Недоліками аналогів є порушення газообміну та використання плазми здорових донорів, яка значно відрізняється по ряду біохімічних показників від плазми хворого.

Прототипом даного винаходу є метод Максимова /там же, С. 86/. Культуру за методом Максимова готують таким чином: на стерильну квадратну склодяну пластинку розміром 1 см (або покривне скло того ж розміру) наносять краплину фізіологічного розчину. У центр краплини капілярною піпеткою вносять краплину плазми. Після цього додають краплину ембріонального екстракту і розташовують його в області 15 мм в діаметрі, змішуючи з плазмою, щоб вона згорнулася. Після згорання плазми на неї наносять шматочок тканини (не більше 1-2 мм в діаметрі) і рідке поживне середовище: розчин Тіроде - 50%, сироватки - 40%, ембріонального екстракту - 10% (як стимулятору

росту). По краях середовища наносять маленькі краплини вазеліну. Після цього предметне скло з лункою накладають на приготовлену культуру. Отриману камеру заливають по краях розплавленим парафіном.

Недоліком даного методу є порушення газообміну в культурі, використання плазми і сироватки здорових людей, необхідність частих "підживлень" тканини під час тривалого культивування, неможливість фарбування зони росту при мікроскопії, так як у більшості випадків зона росту пошкоджується під час розгерметизації створеної камери.

В основу винаходу поставлена задача створення способу культивування пухлинної тканини, в якій краплинно-плазмове культивування забезпечується використанням плазми і сироватки хворого, у якого був взятий препарат, внесенням в культуру пухлинного екстракту, використанням як бактеріального фільтру середовища стерильної вазелінової олії і за рахунок цього протягом всього періоду культивування дотримується задовільний газообмін, запобігається бактеріальне забруднення середовища, знижується відсоток культур, що не прижилися, у середовищі створюються умови, які ближче всього до материнських.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі культивування пухлинної тканини, який містить у собі використання плазми як субстрату, застосування стимуляторів росту, розчину Тіроде, згідно з винаходом використовують плазму і сироватку хворого, у якого бралася первісна пухлина, використовують пухлинний екстракт, покривають культури стерильною вазеліновою олією, можливість фарбування зони росту створюють після аспірації олії і рідкого поживного середовища.

(19) UA (11) 43256 (13) A

Запропонований спосіб опробовано в Донецькому обласному протипухлинному центрі, матеріалом були післяопераційні препарати хірургічного відділення № 2. Гістологічно пухлини мали таку структуру: аденокарциноми, внутрішньопротоковий рак, меланома. Перевиваємість складала 99,3 %. Культуру готують таким чином: на заздалегідь обезжирене ефіром стерильне покривне скло з лункою в центр наносять краплину фізіологічного розчину. В центр краплини капілярною піпеткою вносять краплину плазми хворого. Після цього додають краплину пухлинного екстракту і розміщують його в області 15 мм в діаметрі, змішуючи з плазмою так, щоб вона згорнулася. Поверх плазмового згустку вносять шматочок пухлинної тканини не більше 1-1,5 мм в діаметрі. Додають рідке поживне середовище, що складається на 50% з розчину Тіроде, на 40% - з сироватки хворого, на 10% - з пухлинного екстракту. Скланною паличкою, змоченою у стерильній вазеліновій олії, по краях лунки предметного скла утворюють олійне коло. Акуратно зверху на культуру розміщують краплину стерильної вазелінової олії. Культивування проводять при $T=38^{\circ}\text{C}$ у згоді з класичними параметрами. У приготуванні за даним способом культури вже через декілька годин визначається ріст, а до кінця першої доби визначається зона росту.

Приклад

Хвора Б., 1942 року народження, прооперована 11.02.2000 р. в ДОПЦ на рак молочної залози T2 No Mo, II кл.гр. Після операції було взято пухлинну тканину розміром 1 см³, пухлину було розрі-

зано на маленькі шматочки розміром 1 мм³, деякі з них були взяті для культивування. Шматочки, що залишилися, були змішані з кварцовим піском і розтерті в ступці до отримання гомогенної маси. До цієї маси було додано 10 мл фізіологічного розчину, вся отримана маса ретельно перемішана та профільтрована через 4 шари марлі. Таким чином було отримано пухлинний екстракт. Далі готувалися краплино-плазмові культури, до яких додавали пухлинний екстракт та приготовлені для культивування шматочки пухлини. Культури вирощувалися у термостаті.

З особливостей слід відзначити, що в окрему групу культур вносили мікрокраплину ембріонального екстракту як стимулятора росту. Оцінка результатів проводилася за допомогою темнопольної мікроскопії. Зона росту оцінювалась за середньою шириною і максимальному переміщенню окремих клітин. В наведеному прикладі препарати з додатком мікрокраплини ембріонального екстракту суттєво відрізняються лише у 35%, тому ембріональний екстракт не включено до способу. На відміну від аналогічних способів після прицільної аспірації вазелінової олії та рідкого поживного середовища під час завершення культивування можливо фарбування препаратів без порушення зони росту.

Позитивним результатом даного способу є підвищення приживлення тканин у культурах, зберігання нормального газообміну протягом тривалого часу, можливість "підживлення" культури без порушення бар'єрного шару вазелінової олії.

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

Підписано до друку _____ 2002 р. Формат 60х84 1/8.
Обсяг _____ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

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