



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **49204** (13) **U**  
(51) МПК (2009)  
A61K 35/26

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

### (54) СПОСІБ ПІДВИЩЕННЯ РАДІОРЕЗИСТЕНТНОСТІ ОРГАНІЗМУ

1

(21) u200910136

(22) 06.10.2009

(24) 26.04.2010

(46) 26.04.2010, Бюл. № 8, 2010 р.

(72) НІКОЛЬСЬКИЙ ІГОР СЕРГІЙОВИЧ, НІКОЛЬСЬКА ВАЛЕНТИНА ВАСИЛІВНА, ЗУБОВ ДМИТРО ОЛЕКСАНДРОВИЧ, ТАРАНУХА ЛЮБА ІВАНІВНА, ГАЛИЦЬКА СВІТЛАНА МИКОЛАЇВНА, НІКОЛЬСЬКА КАТЕРИНА ІГОРІВНА, ФЕДОРЧУК ОЛЕКСАНДР ГРИГОРОВИЧ

2

(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ГЕНЕТИЧНОЇ ТА РЕГЕНЕРАТИВНОЇ МЕДИЦИНИ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ"

(57) Спосіб підвищення радіорезистентності організму, який включає введення мезенхімальних стромальних клітин (МСК) тваринам, який **відрізняється** тим, що використовують первинно ізолювані МСК, які попередньо піддаються експансії та проліферативному відбору in vitro та трансплантуються в концентрації  $2,5 \times 10^5$ /мл летально опроміненим мишам лінії СВА.

Спосіб відноситься до медицини, а зокрема радіології, імунології та клітинної терапії, і може бути використаний з метою лікування радіаційних уражень, а також захворювань, які супроводжуються пригніченням імунної та кровотворної системи.

Відомий спосіб посилення протипухлинної резистентності організму, що включає використання препарату фактора переносу отриманого із лімфоцитів селезінки щурів шляхом його внутрішньовенного введення реципієнту [Пат. № 78149С2 Україна, МПК А61К35/28, А61Р35/00. Опубл. 15.02.2007, Бюл. № 2].

Однак даний спосіб є не ефективним для підвищення радіорезистентності. Відомий спосіб відновлення кровотворення у опромінених тварин шляхом внутрішньовенної інфузії некультивованих первинно ізолюваних клітин кісткового мозку - гемопоетичних стовбурових клітин (ГСК) [Lorenz E. Alterations induced in experimental animals with acute and chronic lesions caused by irradiations using injections of bone marrow and tissues derived from hemopoietic organs / E. Lorenz // Dia Med. - 1952. - Vol. 24. - № 72. - P. 1888-1889].

Недоліком даного способу є те, що використовують некультивовані клітини кісткового мозку, які переважно гинуть при трансплантації.

В основу даної корисної моделі поставлено завдання розробити спосіб підвищення радіорезистентності організму шляхом введенням культивованих мультипотентних стромальних клітин (МСК), летально опроміненим мишам, що дозволить під-

вищити виживаність тварин та подовжити середню тривалість життя.

Вирішення поставленого завдання досягається тим, що у способі, який включає введення МСК тваринам, згідно з корисною моделлю, використовують первинно ізолювані МСК, які попередньо піддаються експансії та проліферативному відбору in vitro та трансплантуються в концентрації  $2,5 \times 10^5$ /мл летально опроміненим мишам лінії СВА.

Перевага наведеного способу підвищення радіорезистентності організму полягає в тому, що ці клітини попередньо піддаються експансії та проліферативному відбору за умов культивування та вводять в концентрації  $2,5 \times 10^5$ /мл, що дозволяє збільшити виживаність та подовжити середню тривалість життя летально опромінених мишей (табл. 1 та 2).

Спосіб здійснюють таким чином.

Напередодні, за 24 год, мишей лінії СВА вагою 20-25 г піддавали загальному  $\gamma$ -опроміненню  $^{60}\text{Co}$  в летальній дозі 9 Гр, потужність дози - 1,5 Гр/хв. Опромінені миші в хвостову вену вводять в концентрації  $2,5 \times 10^5$ /мл та в об'ємі 0,2 мл первинно ізолювані МСК.

Культуру клітин отримують зі строми тимусу загальноприйнятим механічним способом [Caplan A. I. Mesenchymal stem cells / A. I. Caplan // J. Orthop. Res. - 1991. - Vol. 9. - P. 64-650.] та культивують до 15-ти діб в культуральних флаконах з використанням ростового середовища RPMI 1640 з

(13) **U**  
(11) **49204**  
(19) **UA**

10 % ембріональної телячої сироватки (надалі ЕТС). Культури розміщують в CO<sub>2</sub>-інкубаторі з 5-7,5 % CO<sub>2</sub> при 37 °С. Культивовані МСК ресуспендують в ростовому середовищі RPMI 1640 з 10 % ЕТС і вони готові для введення.

Нами вивчалися радіопротекторні властивості таких клітинних культур (див. табл. 1 та 2):

клітини кісткового мозку мишей (КМм) -  $2,5 \times 10^6$ /мл;

мультипотентні стромальні клітини (МСК) -  $2,5 \times 10^5$ /мл.

Після трансплантації культивованих таким чином МСК, піддослідні миші виживали до 4-х місяців (на 112-ту добу після опромінення виживали 13 % тварин, що отримували МСК). При цьому миші, що отримували  $2,5 \times 10^6$  клітин кісткового мозку, тобто в 10 раз більше, ніж МСК, до цього терміну не доживали зовсім. А середня тривалість життя тварин, що отримували МСК, збільшувалася більше ніж у 2 рази.

Таким чином, спосіб є ефективним та рекомендується до використання в подальшому.

Таблиця 1.

Тривалість життя летально опромінених мишей, що отримували культивовані МСК

Статистичні показники	Середня тривалість життя тварин, діб		
	контрольних	що отримували клітини	
		КМм	МСК
М	15,0	34,3	41,8
±m	1,6	2,7	6,2
n	38	16	15
p <sub>1</sub>	-	<0,05	<0,01
p <sub>2</sub>		-	
p <sub>3</sub>			<0,05

Таблиця 2.

Динаміка виживаності летально опромінених мишей, що отримували культивовані МСК, % живих

Час після опромінення, діб	Статистичні показники	Вживаність тварин		
		контрольних	що отримували клітини	
			КМм	МСК
	М	0	0	13
	n	32	16	16
112	p <sub>1</sub>	-	<0,05	<0,05
	p <sub>2</sub>		-	<0,05