



УКРАЇНА

(19) UA (11) 52872 (13) U
(51) МПК (2009)
C12N 5/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ КУЛЬТИВУВАННЯ ШКІРИ ЛЮДИНИ

1

2

(21) u201003719

(22) 31.03.2010

(24) 10.09.2010

(46) 10.09.2010, Бюл.№ 17, 2010 р.

(72) ПУРИШЕВА ВІКТОРІЯ ЮРІЇВНА, ВОЛІНА ВІКТОРІЯ ВАСИЛІВНА, КУДОКОЦЕВА ОЛЬГА ВАЛЕНТИНІВНА, БАБІЙЧУК ЛЮБОВ ОЛЕКСАНДРІВНА, КОЗЛОВ ОЛЕКСАНДР ВІКТОРОВИЧ

(73) ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ КРІОБІОЛОГІЇ І КРІОМЕДИЦИНИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ

(57) Спосіб культивування шкіри людини, що включає використання стандартного агаризованого середовища культивування з додаванням імуномодуючого препарату, який **відрізняється** тим, що як імуномодуючий препарат використовують препарат "Кріоцел - гемопоетичні клітини пуповинної крові" в концентрації 10 %.

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до дерматології. Відомий спосіб культивування шкіри людини із застосуванням стандартного агаризованого середовища з додаванням сироватки [1].

Недоліком цього способу є те, що після 14 доби культивування експлантат починає дегенерувати, а на 21 добу спостерігається його повна дегенерація.

Найбільш близьким до заявленого способу є спосіб культивування шкіри людини, в якому застосовується стандартне агаризоване середовище, до якого додають імуномодуючий препарат «Гемокорд» [2].

Недоліком цього способу є те, що вже після 21 доби культивування спостерігається повна дегенерація експлантату. Кількість фібробластів на кінець терміну культивування становить 70-75 од. в полі зору.

В основу корисної моделі поставлено задачу удосконалити відомий спосіб культивування шкіри людини шляхом заміни імуномодуючого препарату в середовищі культивування, і таким чином забезпечити можливість подовжити термін культивування шкіри без появи ознак її дегенерації.

Ця задача вирішується тим, що в способі культивування шкіри людини, який передбачає використання стандартного агаризованого середовища з додаванням імуномодуючого препарату, згідно з корисною моделлю, як імуномодуючий препарат використовують препарат «Кріоцел - гемопоетичні клітини пуповинної крові» в концентрації 10 %.

Препарат «Кріоцел - гемопоетичні клітини пуповинної крові» являє собою кріоконсервовану суспензію ядерних клітин пуповинної крові в аутологічній плазмі [4], серед яких присутні популяція СД 133+ клітин, мультипатентні мезенхімальні стовбурові клітини, гемопоетичні стовбурові клітини, тобто клітини, здатні диференціюватися у фібробласти та клітини строми, які приймають участь в процесах проліферації дерми.

При використанні препарату «Кріоцел - гемопоетичні клітини пуповинної крові» у складі стандартного агаризованого середовища культивування експлантати шкіри людини на 24 добу культивування повністю зберігають свою гістоструктуру та морфологічні властивості. Кількість фібробластів на 24 добу становить 84-86 од. в полі зору. Дегенеративні зміни в експлантанті з'являються лише після 32 доби.

Спосіб здійснюють таким чином. Лоскути шкіри людини розміром 0,3×0,3 см відділяють від підшкірної клітковини і розміщують у пробірці зі стандартним агаризованим середовищем, в яке додають препарат «Кріоцел - гемопоетичні клітини пуповинної крові» в концентрації 10 %. Пробірки закривають гумовими пробками. Культивування шкіри проводять в термостаті при температурі 37°C, pH - 7,2, на протязі 32 діб.

Приклад. Лоскути шкіри людини розміром 0,3×0,3 см, відділені від підшкірної клітковини, помішували у пробірки, куди додавали 9,0 мл агаризованого стандартного середовища і 1,0 мл препарату «Кріоцел - гемопоетичні клітини пуповинної

(19) UA (11) 52872 (13) U

крові». Культивування проводили в термостаті при температурі 37°C, pH - 7,2, на протязі 32 діб.

Оцінку морфо-структурної організації культивованих лоскутів шкіри проводили гістологічним методом щотижнево і на прикінці терміну культивування (32 доби). В епідермісі шкіри були присутні всі п'ять шарів: базальний, шипуватий, зернистий, блискучий, роговий. В базальному шарі клітини активні, ядра гіперхромні. Межа між епідермісом та дермою добре виражена. В дермі зберігалися пучки колагенових й еластинових волокон. Залозисті структури в дермі зберігали свою структурну організацію. Кількість фібробластів на 24 добу становила 84-86 од. в полі зору. Дегенеративні зміни в експлантанті з'являлися лише після 32 доби.

Джерела інформації:

1. Pluznik D.H., Sachs L. The cloning of normal «mast» cells in tissue // J. Cell.Comp. Physiologic. - 1965-V.66 - P. 319-324.

2. Патент України № 13652, C12N 5/00, публ. 17. 04. 2006. Спосіб культивування шкіри людини.

3. Кудогоцева О.В. Пуповинная кровь - полноценный источник для трансплантации стволовых клеток // Щорічні терапевтичні читання. Матеріали науково-практичної конф. - Харків. - 2009. - с. 118.

4. Пурышева В.Ю., Волина В.В., Кудогоцева О.В., Бабийчук Л.А. Влияние клеточных препаратов кордовой крови на морфологию кожи крыс // Світ медицини та біології. - 2009. - № 3, ч. 1. - с. 131-136.