

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2740443

Способ трансплантации фрагмента опухоли рака яичника человека в яичник самки иммунодефицитной мыши

Патентообладатель: *федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный медицинский исследовательский центр онкологии" (RU)*

Автор: *Вереникина Екатерина Владимировна (RU)*

Заявка № 2020125420

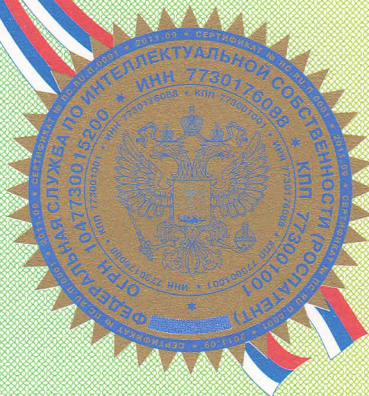
Приоритет изобретения 22 июля 2020 г.

Дата государственной регистрации в
Государственном реестре изобретений
Российской Федерации 14 января 2021 г.

Срок действия исключительного права
на изобретение истекает 22 июля 2040 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев





ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61B 17/00 (2020.08); G09B 23/28 (2020.08)

(21)(22) Заявка: 2020125420, 22.07.2020

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
22.07.2020

Дата регистрации:
14.01.2021

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 22.07.2020

(45) Опубликовано: 14.01.2021 Бюл. № 2

Адрес для переписки:

344037, г. Ростов-на-Дону, 14-я линия, 63,
НМИЦ онкологии, Ишониной О.Г.

(72) Автор(ы):

Вереникина Екатерина Владимировна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное бюджетное
учреждение "Национальный медицинский
исследовательский центр онкологии" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2615908 C1, 11.04.2017. Муразов
Я.Г. Экспериментальное моделирование
карциномы яичника. Лабораторные животные
для научных исследований. No 3 2020, стр. 34-
42. CN 106421751 A, 22.02.2017. Hui Zhang et al.
New construction of an animal model for the
orthotopic transplantation of an ovarian tumor.
Journal of Ovarian Research 2014. p. 1-7. (см.
прод.)

(54) Способ трансплантации фрагмента опухоли рака яичника человека в яичник самки иммунодефицитной мыши

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к экспериментальной онкологии. Пересаживают фрагмент опухоли рака яичника человека в яичник самки иммунодефицитной мыши. Располагают иммунодефицитную мышь на операционном столике в положении на животе. Рассекают кожу, подкожную клетчатку, брюшину животного параллельно позвоночнику, ниже реберной дуги. Выводят яичник под кожу. Фиксируют яичник к брюшине проксимально непосредственно за ткань яичника, дистально - за маточную трубу отдельными лигатурами, не

передавливая сосуды, кровоснабжающие яичник. Рассекают яичник по краю, противоположному сосудистой ножке, на протяжении 2 мм. Фиксируют опухолевый материал непосредственно в ране яичника. Ушивают кожу над яичником. Способ позволяет получить пациентоподобную модель рака яичников, наиболее достоверно отражающую особенности онкогенеза и являющуюся важной тест-системой для доклинических исследований различных способов лечения рака яичников. 2 ил., 1 пр.

(56) (продолжение):

Establishment of two ovarian cancer orthotopic xenograft mouse models for Tin vivo: A comparative study. INTERNATIONAL JOURNAL OF ONCOLOGY 51. 1199-1208, 2017.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

A61B 17/00 (2020.08); G09B 23/28 (2020.08)(21)(22) Application: **2020125420, 22.07.2020**(24) Effective date for property rights:
22.07.2020Registration date:
14.01.2021

Priority:

(22) Date of filing: **22.07.2020**(45) Date of publication: **14.01.2021** Bull. № 2

Mail address:

**344037, g. Rostov-na-Donu, 14-ya liniya, 63,
NMITS onkologii, Ishoninoj O.G.**

(72) Inventor(s):

Verenikina Ekaterina Vladimirovna (RU)

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
uchrezhdenie "Natsionalnyj meditsinskij
issledovatelskij tsentr onkologii" (RU)****(54) METHOD OF HUMAN OVARIAN CANCER TUMOR FRAGMENT TRANSPLANTATION INTO OVARY OF IMMUNE-DEFICIENT FEMALE MOUSE**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to medicine, namely to experimental oncology. Tumor fragment of human ovarian cancer is transplanted into female ovary of immunodeficiency mouse. Immunodeficiency mouse is placed on an operating table in the abdominal position. Skin, subcutaneous fat, animal peritoneum is parallel to the spine, below the costal arch. Ovary is brought under the skin. Ovary is fixed to the peritoneum proximally directly behind the ovary tissue, distally - behind the uterine tube with separate ligatures, not

squeezing the blood vessels supplying the ovary. Ovary is dissected along an edge opposite the vascular pedicle for 2 mm. Tumor material is fixed directly in the ovarian wound. Skin is closed above the ovary.

EFFECT: method enables to obtain a patient-like model of ovarian cancer, most authentically reflecting features of oncogenesis and is an important test system for preclinical studies of various methods of treating ovarian cancer.

1 cl, 2 dwg, 1 ex

RU
2 740 443
C1

1
C
2 740 443
RU

Изобретение относится к медицине, а именно к экспериментальной онкологии, и касается способа трансплантации фрагмента рака яичника человека в яичник самки иммунодефицитной мыши для получения пациентоподобной модели, достоверно передающей особенности опухоли и наиболее адекватно отражающей картину развития

5 рака яичников у человека.

Рак яичников является вторым по частоте гинекологическим злокачественным новообразованием. Более чем в 60% случаев заболевание диагностируется на III-IV стадии, когда в процесс вовлекаются органы брюшной полости, малого таза или ретроперитонеальные лимфоузлы, (см. К.Д. Гусейнов, И.В. Берлев, А.М. Беляев, А.Ф. Урманчеева, Т.В. Городнова, Г.С. Киреева, М.Г. Яковлева, М.Г. Шихзадаева. Возможности гипертермической интраперитонеальной интраоперационной химиоперфузии в лечении рецидивирующего рака яичников // Гинекологическая онкология. 2020. Т 19. №1 С. 62).

15 Для изучения особенностей механизмов развития рака яичников и новых терапевтических препаратов необходимо создание моделей данного заболевания, наиболее адекватно отражающие индивидуальные черты патологического процесса.

Данному требованию может отвечать ортотопическая пациентоподобная модель рака яичников, клеточный состав которой является гетерогенным сходным реальным опухолям, а ортотопическое микроокружение оказывает влияние на онкогенез (см. Хохлова С.В. Новое в лечении high grade серозного рака яичников // Эффективная фармакотерапия. 2019. Т. 15. №38. С. 24-29.; An Advanced Orthotopic Ovarian Cancer Model in Mice for Therapeutic Trials).

Известен способ ортотопической имплантации рака яичников, включающий рассечение кожи и брюшной стенки мыши, инъекцию опухолевой суспензии в яичник самки иммунодефицитной мыши, полученной из фрагмента человеческой опухоли рака яичников. Недостатком данного способа является имплантация опухолевой взвеси, а не целого участка опухоли, взятого от пациента (см. Ying Zhang, Li Luo, Xueling Zheng et al. An Advanced Orthotopic Ovarian Cancer Model in Mice for Therapeutic Trials // BioMed Research International. - 2016. №4. P.1.).

30 Известен способ трансплантации культуры клеток карциномы яичников ES-2 и OVCA 429 методом внутрибрюшинной инъекции. Недостатком данного способа является имплантация культуры клеток в несоответствующий сайт трансплантации. Из технических трудностей метода является потенциальная утечка клеток в брюшную полость (см. Elizabeth Magnotti, Wayne A. Marasco. The latest animal models of ovarian cancer for novel drug discovery // Expert Opin Drug Discov. 2018. №13(3). P. 249-257).

В качестве прототипа нами выбран «Способ моделирования лимфогенного и гематогенного метастазирования мышиной меланомы B16 у белых нелинейных крыс» (см. патент RU 2615908 C1, опубл. 11.04.2017, Бюл. №11), заключающийся в выведении селезенки под кожу животного с последующей инъекцией в нее взвеси опухолевых

40 клеток. Способ обладал существенным недостатком. Он не предполагал пересадку в орган части опухоли, что позволило бы создать как местный опухолевый процесс (в самой селезенке), так и его метастазы в других внутренних органах.

Техническим результатом предлагаемого изобретения является разработка способа трансплантации фрагмента опухоли рака яичника человека в яичник самки иммунодефицитной мыши, что позволяет создать ортотопическую модель опухолевого

45 роста, достоверно отражающую особенности онкогенеза данного заболевания у человека.

Технический результат изобретения достигается тем, что пересаживают фрагмент

опухоли рака яичника человека в яичник самки иммунодефицитной мыши, для чего располагают иммунодефицитную мышшь на операционном столике в положении на животе, рассекают кожу, подкожную клетчатку, брюшину животного параллельно позвоночнику, ниже реберной дуги, выводят яичник под кожу, фиксируют яичник к
 5 брюшине проксимально непосредственно за ткань яичника, дистально - за маточную трубу отдельными лигатурами, не передавливая сосуды, кровоснабжающие яичник, рассекают яичник по краю, противоположному сосудистой ножке на протяжении 2 мм, фиксируют опухолевый материал непосредственно в ране яичника, ушивают кожу над яичником.

10 Способ осуществляют следующим образом.

Фрагмент опухоли рака яичников после иссечения сразу же помещают в среду Хенкса.

Перед трансплантацией вырезают кусочки объемом 15 мм^3 . Время от момента резекции опухолевого материала у человека до имплантации в яичник иммунодефицитной мыши не должно превышать 20 минут. В качестве реципиента опухолевого материала служат
 15 самки иммунодефицитных мышей. При премедикации используют ксилазин концентрацией 20 мг/мл. Животных наркотизируют при помощи золетила концентрацией 22,57 мг/мл. Располагают иммунодефицитную мышшь на операционном столике в положении на животе. Затем рассекают кожу, подкожную клетчатку, брюшину животного параллельно позвоночнику, ниже реберной дуги. Выводят яичник под кожу.
 20 Фиксируют яичник к брюшине проксимально непосредственно за его ткань отдельной лигатурой. Фиксируют яичник дистально за маточную трубу отдельной лигатурой. В ходе вмешательства при прошивании маточной трубы с помощью операционного микроскопа следят за целостностью сосудов, кровоснабжающих яичник. Рассекают яичник по краю, противоположному сосудистой ножке на протяжении 2 мм. Фиксируют
 25 опухолевый материал непосредственно в ране яичника отдельной лигатурой 6-0 под контролем операционного микроскопа. Ушивают кожу над яичником.

Изобретение иллюстрируется фигурами 1-2.

На Фиг. 1 изображена фиксация яичника к брюшине отдельной лигатурой по проксимальному углу раны непосредственно за верхний полюс яичника.

30 На Фиг. 2. изображен яичник с опухолью, зафиксированный к брюшине, кожа ушита над яичником.

Данным способом произведена трансплантация фрагмента опухоли яичников человека в яичники самок иммунодефицитных мышей в нескольких сериях экспериментов. Нами использовались мыши Balb/c Nude. Всего исследование проведено
 35 на 60 мышах, в 10% случаев был получен рост опухоли яичника.

Приводим пример применения способа.

Данным способом была прооперирована самка иммунодефицитной мыши Balb/c Nude возрастом 6 недель массой 24,5 г. Трансплантантом служил фрагмент опухоли
 40 яичников объемом 12 мм^3 , который после выделения из организма человека был незамедлительно помещен в среду Хенкса. Время от момента резекции опухолевого материала у человека до имплантации в яичник самки иммунодефицитной мыши составило 11 минут. Проводили премедикацию с использованием ксилазина концентрацией 20 мг/мл. Наркоз животных осуществляли при помощи золетила
 45 концентрацией 22,57 мг/мл. Пересаживают фрагмент опухоли рака яичника человека в яичник самки иммунодефицитной мыши, для чего располагают иммунодефицитную мышшь на операционном столике в положении на животе, рассекают кожу, подкожную клетчатку, брюшину животного параллельно позвоночнику, ниже реберной дуги, выводят яичник под кожу, фиксируют яичник к брюшине проксимально непосредственно

за ткань яичника (см. Фиг. 1), дистально - за маточную трубу отдельными лигатурами, не передавливая сосуды, кровоснабжающие яичник, рассекают яичник по краю, противоположному сосудистой ножке на протяжении 2 мм, фиксируют опухолевый материал непосредственно в ране яичника, ушивают кожу над яичником (см. Фиг. 2).

5 Через 6 недель при вскрытии животного обнаружен опухолевый инфильтрат, исходящий из яичника, прорастающий в почку. При морфологическом исследовании опухоли - рак яичников.

Технико-экономическая эффективность данного способа заключается в том, что он позволяет получить пациентоподобную модель рака яичников наиболее достоверно
10 отражающую особенности онкогенеза, и являющуюся важной тест-системой для доклинических исследований различных способов лечения рака яичников. Размещение яичников под кожей при сохранении его сосудистой ножки позволяет получить уникальные условия, когда ортотопическая опухоль (размещена в яичнике) доступна для ежедневного контроля в ходе проведения эксперимента.

15

(57) Формула изобретения

Способ трансплантации фрагмента опухоли яичников в яичник самки иммунодефицитных мышей, включающий рассечение кожи, подкожной клетчатки и брюшины на спине животного в положении его на животе, отличающийся тем, что
20 пересаживают фрагмент опухоли рака яичника человека в яичник самки иммунодефицитной мыши, для чего располагают иммунодефицитную мышь на операционном столике в положении на животе, рассекают кожу, подкожную клетчатку, брюшину животного параллельно позвоночнику, ниже реберной дуги, выводят яичник под кожу, фиксируют яичник к брюшине проксимально непосредственно за ткань
25 яичника, дистально - за маточную трубу отдельными лигатурами, не передавливая сосуды, кровоснабжающие яичник, рассекают яичник по краю, противоположному сосудистой ножке, на протяжении 2 мм, фиксируют опухолевый материал непосредственно в ране яичника, ушивают кожу над яичником.

30

35

40

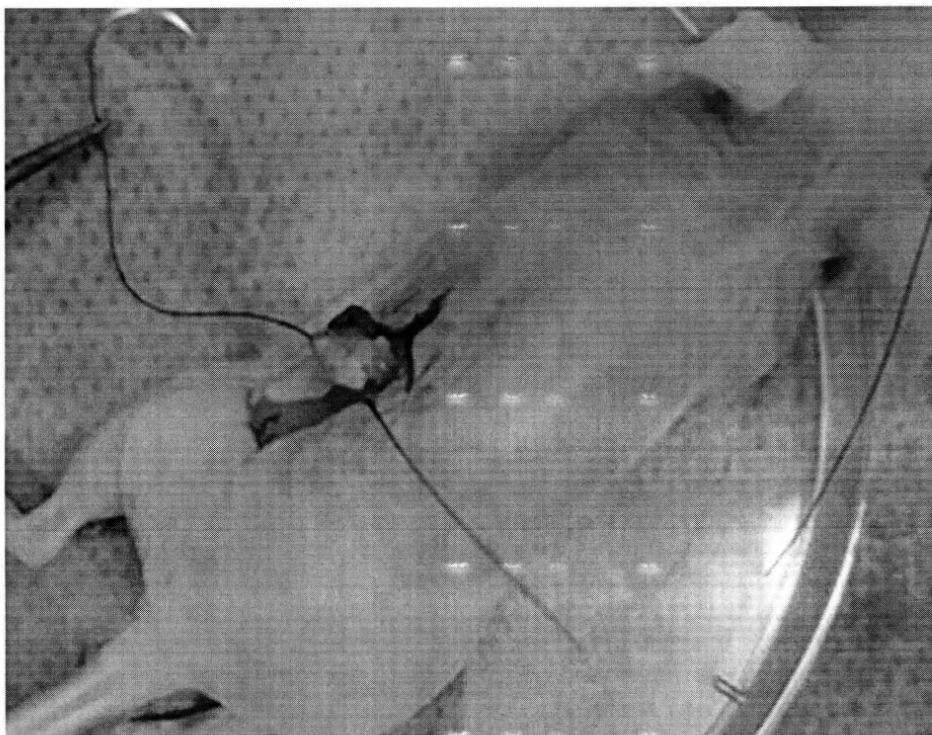
45

1



Фиг. 1

2



Фиг. 2