



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК  
A61K 38/00 (2022.05)

(21)(22) Заявка: 2021135083, 30.11.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
30.11.2021

Дата регистрации:  
26.08.2022

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 30.11.2021

(45) Опубликовано: 26.08.2022 Бюл. № 24

Адрес для переписки:

197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул.  
Ленинградская, 70, "РОССИЙСКИЙ  
НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РАДИОЛОГИИ И  
ХИРУРГИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ ИМ.  
АКАДЕМИКА А.М. ГРАНОВА", Попова  
Алена Александровна

(72) Автор(ы):

Каргашев Артем Владимирович (RU),  
Киселева Любовь Николаевна (RU),  
Самойлович Марина Платоновна (RU),  
Макаров Виктор Евгеньевич (RU),  
Ростовцев Дмитрий Михайлович (RU),  
Понежа Тамара Евгеньевна (RU),  
Бодэ Ирина Игоревна (RU),  
Пиневиц Агния Александровна (RU),  
Вартанян Наталья Леоновна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
"РОССИЙСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
РАДИОЛОГИИ И ХИРУРГИЧЕСКИХ  
ТЕХНОЛОГИЙ ИМЕНИ АКАДЕМИКА  
А.М. ГРАНОВА" МИНИСТЕРСТВА  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: Scheck In vitro biological dosimeter  
modeling of the glioblastoma response to  
radiation delivered by the Gamma Knife //  
Laboratory investigation J Neurosurg. 2010. RU  
136227 U1, 27.12.2013. US 6290907 B1, 18.09.2001.  
RU 2627927 C2, 14.08.2017. RU 2510654 C2,  
10.04.2014.

## (54) УСТРОЙСТВО ДЛЯ ФИКСАЦИИ И ПОЗИЦИОНИРОВАНИЯ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР ПРИ ПРЕЦИЗИОННОМ ОБЛУЧЕНИИ

(57) Реферат:

Устройство для фиксации и позиционирования клеточных культур при прецизионном облучении относится к нейроонкологии и может быть использовано для повышения эффективности и индивидуального подхода при проведении стереотаксической лучевой терапии. Устройство содержит планшет для культивирования клеточных культур и выполнено в виде двух сфер: наружной и внутренней. Сферы расположены

одна в другой и разделены внутренним, герметизированным силиконовой гофрой замкнутого сечения пространством, заполненным шариками. Внутренняя сфера меньшего диаметра выполнена в виде неразборной замкнутой конструкции с прямоугольным углублением под установку планшета для культивирования клеточных культур. Нижняя треть внутренней сферы имеет сплошное сечение. Верхние две трети

внутренней сферы полые, содержат отверстие в верхней точке для заполнения водой. Наружная сфера большего диаметра, выполнена в виде разборной полый конструкции с прямоугольным отверстием под установку планшета для культивирования клеточных культур. Планшет выполнен из полистирола в виде лунок. Устройство обеспечивает снижение

травматизации культуры опухолевых клеток, надежную их фиксацию при проведении облучения и позволяет верифицировано подойти к выбору суммарных доз облучения для конкретного пациента, обеспечивающих наилучший тумороридный эффект у больных злокачественными опухолями головного мозга. 1 ил.

R U 2 7 7 8 8 5 9 C 1

R U 2 7 7 8 8 5 9 C 1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC  
*A61K 38/00 (2022.05)*

(21)(22) Application: **2021135083, 30.11.2021**

(24) Effective date for property rights:  
**30.11.2021**

Registration date:  
**26.08.2022**

Priority:

(22) Date of filing: **30.11.2021**

(45) Date of publication: **26.08.2022** Bull. № 24

Mail address:

197758, Sankt-Peterburg, pos. Pesochnyj, ul.  
Leningradskaya, 70, "ROSSIJSKIJ NAUCHNYJ  
TSENTR RADIOLOGII I  
KHIRURGICHESKIKH TNKHOLOGIJ IM.  
AKADEMIKA A.M. GRANOVA", Popova Alena  
Aleksandrovna

(72) Inventor(s):

**Kartashev Artem Vladimirovich (RU),  
Kiseleva Liubov Nikolaevna (RU),  
Samoilovich Marina Platonovna (RU),  
Makarov Viktor Evgenevich (RU),  
Rostovtsev Dmitrii Mikhailovich (RU),  
Ponezha Tamara Evgenevna (RU),  
Bode Irina Igorevna (RU),  
Pinevich Agniia Aleksandrovna (RU),  
Vartanian Natalia Levonovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**FEDERALNOE GOSUDARSTVENNOE  
BUDZETNOE UCHREZDENIE «ROSSIISKII  
NAUCHNYI TSENTR RADIOLOGII I  
KHIRURGICHESKIKH TEKHOLOGIJ IMENI  
AKADEMIKA A.M. GRANOVA»  
MINISTERSTVA ZDRAVOOKHRANENIA  
ROSSIJSKOI FEDERATSII (RU)**

(54) **DEVICE FOR FIXING AND POSITIONING CELL CULTURES UNDER PRECISION IRRADIATION**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: device for fixing and positioning cell cultures under precision irradiation belongs to neuro-oncology and can be used to increase the effectiveness and individual approach during stereotactic radiation therapy. The device contains a tablet for cell culture cultivation and is made in the form of two spheres: external and internal. The spheres are located one in another and are separated by an internal space filled with balls, sealed with silicone corrugation of a closed section. The inner sphere of a smaller diameter is made in the form of a non-collapsible closed structure with a rectangular recess for the installation of a tablet for the cultivation of cell cultures. The lower third of the inner sphere has a solid cross-section. The

upper two-thirds of the inner sphere are hollow, containing a hole at the top point for filling with water. The outer sphere of a larger diameter is made in the form of a collapsible hollow structure with a rectangular hole for the installation of a tablet for the cultivation of cell cultures. The tablet is made of polystyrene in the form of holes.

EFFECT: device provides a reduction in the traumatization of tumor cell culture, their reliable fixation during irradiation and provides a verified approach to the selection of total radiation doses for a particular patient, providing the best tumoricidal effect in patients with malignant brain tumors.

1 cl, 1 dwg

Изобретение относится к медицине, а именно к нейроонкологии, и может быть использовано для повышения эффективности и индивидуального подхода при проведении стереотаксической лучевой терапии.

Первичные опухоли центральной нервной системы (ЦНС) составляют около 2 %  
5 всех опухолей человека, или, по данным CBTRUS (Central Brain Tumor Register of the United States), 21,4 случая на 100 тыс. населения. Другими словами, каждый год в России появляется примерно 32 100 новых случаев первичных опухолей ЦНС. Это разнородная группа опухолей, причем морфологический диагноз - основной фактор прогноза и дифференцированного подхода к лечению. Среди первичных опухолей ЦНС  
10 преобладают менингиомы (35,6 %, причем только 1 % составляют злокачественные менингиомы) и глиомы (35,5 %, причем 15,6 % от общего числа первичных опухолей мозга составляет глиобластома). Питуитарные опухоли составляют 15 %, невриномы VIII нерва - 8 %.

Глиомы - собирательный термин, который объединяет все диффузные астроцитарные  
15 и олигодендроглиальные опухоли, а также другие виды - пилоидную астроцитому, субэпидимарную гигантоклеточную астроцитому, астробластома и другие опухоли, исходящие их клеток глии. Ведено понятие "Grade", которое определяет степень злокачественности глиомы от I до IV. Выделяют глиомы низкой степени злокачественности Grade I-II (высокодифференцированные глиомы, включающие  
20 астроцитому, олигодендроглиому, олигоастроцитому, а также редкие типы опухолей - плеоморфную ксантоастроцитому, субэпидимарную гигантоклеточную астроцитому, пилоидную астроцитому) и злокачественные глиомы Grade III-IV (анапластическая астроцитомы, анапластическая олигоастроцитомы, анапластическая олигодендроглиомы, глиобластома). Наиболее злокачественными являются глиомы Grade IV.

Несмотря на проводимое агрессивное лечение, включающее оперативное удаление  
25 опухоли и химиолучевую терапию, практически все глиомы рецидивируют. По данным Stupp R. и соавт. (2009), медиана времени до прогрессирования заболевания на фоне комбинированного лечения темозоломидом и лучевой терапией (ЛТ) составляет лишь 6,9 месяца.

В качестве возможных вариантов лечения при возникновении рецидива или  
30 продолжающемся росте опухоли могут рассматриваться: повторная операция, повторная ЛТ, химиотерапия (ХТ) и комбинация этих методов. Неудовлетворительный эффект от применяемого лечения обусловлен прежде всего гетерогенностью опухоли по клеточному составу и, следовательно, радиочувствительностью. Оценка *in vitro*  
35 чувствительности опухоли к ионизирующему излучению позволит обеспечить индивидуализацию в подходе к проведению радиотерапевтического и/или радиохирургического лечения.

Одним из вариантов лечения рецидива или локального метастазирования злокачественной глиомы по головному мозгу является методика стереотаксической  
40 радиохирургии, которая заключается в прицельном однократном подведении всей предписанной дозы облучения к опухолевому узлу.

Однако, как были показаны ранее проведенные нами (MULTINUCLEATED CELLS RESISTANT TO GENOTOXIC FACTORS WITHIN HUMAN GLIOBLASTOMA CELL LINES Kiseleva L.N., Kartashev A.V., Vartanyan N.L., Pinevich A.A., Samoilovich M.P. Cell and Tissue  
45 Biology. 2019. Т. 13. № 1. С. 1-7.) исследования, несмотря на высокую изоэффективную дозу (биологический эквивалент), в ряде глиобластом сохраняются жизнеспособные опухолевые клетки.

С целью расширения и персонализации лучевой терапии больных со

злокачественными глиомами и особенно с их рецидивами были проведен ряд экспериментов по определению индивидуальной чувствительности опухоли, полученной от пациента и превращенной в клеточную культуру (Kiseleva L.N., Kartashev A.V., Vartanyan N.L., Pinevich A.A., Filatov M.V., Samoilovich M.P. Characterization of new human glioblastoma cell lines. Cell and Tissue Biology, 2018, 12(1): 1-6).

Клетки сохранялись в замороженном состоянии в криохранилище при температуре жидкого азота. Маркированную пробирку с клетками доставали из хранилища и сразу погружали в водяную баню с температурой  $40 \pm 2^\circ\text{C}$ . Сразу после оттаивания содержимое криопробирки переносили в центрифужную пробирку в ростовую среду комнатной температуры, состоящую из среды для культур клеток  $\alpha$ MEM (95%) и сыворотки эмбрионов коров (5%). Клетки осаждали центрифугированием при 100g в течение 6 минут и убирали надосадочную жидкость. Добавляли 5 мл ростовой среды, осторожно пипетировали клетки и переносили в пластиковый вентилируемый культуральный флакон площадью  $25 \text{ см}^2$ . Флакон помещали в инкубатор с воздушной фазой, содержащей 6%  $\text{CO}_2$ , температурой  $+37^\circ\text{C}$  и в условия 100% влажности. Клетки инкубировали в течение 2-3 суток, ежедневно контролируя с помощью инвертированного микроскопа формирование клеточного монослоя. По достижении клетками 70% конfluence клетки пересеивали в 24-луночный культуральный планшет. Для этого из флакона удаляли ростовую среду, наливали в него стерильный раствор Дальбекко без кальция и магния, выдерживали 2-3 минуты, удаляли из флакона. Затем во флакон наливали 0,5 мл раствора трипсина с версеном и оставляли в нем клетки на 7-10 минут, контролируя с помощью микроскопа открепление клеток от поверхности. Когда большинство клеток оказывалось в суспензии, во флакон наливали 5 мл ростовой среды и брали пробу для подсчета концентрации клеток с помощью кондуктометрического счетчика частиц.

Клетки во флаконах подвергались облучению на линейном ускорителе Electa Axesse с энергией 6 МэВ. Облучение клеток в дозах 10, 20, 30 Гр, мощность дозы составила 2 Гр/мин. После облучения флаконы с клетками снова были перенесены в инкубатор. Спустя 1 час во всех флаконах с клетками была проведена замена 2/3 культуральной среды. В дальнейшем, два раза в неделю проводили контроль состояния клеток и их фотографирование, а также замену половины ростовой среды на свежую. В течение 27 суток проводилось наблюдение - во всех флаконах, подвергшихся облучению, сохранялись немногочисленные живые клетки. При этом ни в одном из флаконов не было обнаружено признаков пролиферации клеток. По истечении 27 суток наблюдения были прекращены, клетки, оставшиеся прикрепленными на дне флакона, были окрашены красителем Май-Грюнвальд для последующего исследования морфологии наиболее резистентных клеток.

Таким образом, приведенный эксперимент позволил установить, что при облучении клеток глиомы T2 с помощью аппарата ионизирующего излучения в дозах 10, 20 или 30 Гр происходит гибель значительной части культуры, прекращается пролиферация клеток, но длительно сохраняются живые клетки, которые, при изменении условий, могут возобновить пролиферацию. Подобная вариабельность в чувствительности клеток к воздействию ионизирующего излучения позволяет сделать вывод о том, что только индивидуальный подход к подбору суммарной дозы облучения позволит достичь наилучшего терапевтического эффекта.

Одним из наиболее современных и прецизионных методов лечения больных с первичными и рецидивирующими опухолями головного мозга является методика радиохирургического облучения внутричерепной мишени, позволяющая за 1-2 сеанса

подвести полную терапевтическую дозу к зоне опухолевого поражения ЦНС. Однако предписываемая суммарная доза, применяемая при радиохирургическом облучении, базируется не на чувствительности опухоли к облучению, а пропорционально зависит от объема облучаемой ткани (чем больше объем, тем меньше суммарная доза).

5 В связи с этим мы пришли к выводу, что основополагающим для достижения наилучшего терапевтического эффекта является персонифицированный подход к выбору дозы, основывающейся не только на облучаемом объеме, но и на индивидуальной чувствительности.

10 В настоящее время активно стали разрабатываться методы персонифицированного подбора дозы путем облучения культур опухолевых клеток, полученных из операционного материала, при помощи различных устройств для фиксации клеток на аппарате «Гамма-нож».

15 Наиболее близким к заявленному изобретению является способ фиксации клеток на гамма терапевтическом аппарате «Гамма-нож», опубликованный в статье «Scheck In vitro biological dosimeter modeling of the glioblastoma response to radiation delivered by the Gamma Knife» (Laboratory investigation J Neurosurg 2010), который и взят нами в качестве прототипа.

20 Данное устройство представляет собой кассету (планшет для культивирования клеточных культур) OptiCell производства Biocrystal Ltd. Которая содержит специальную мембрану площадью  $50 \text{ см}^2$  на которую высаживают клеточную культуру, имеющую адгезивные свойства к данной мембране и растущей на ней в виде клеточного монослоя.

25 Облучение клеточных культур осуществляется следующим образом. Кассета OptiCell размещается между двумя листками парафина толщиной 1 см. Парафин в данном случае используется как ткань-эквивалентное вещество и применяется для симуляции тела человека при изучении глубинного распределения ионизирующего излучения. Полученный блок (парафин-кассета-парафин) фиксируется в стереотаксической раме, применяемой в нейрохирургии и являющейся неотъемлемой частью аппарата «Гамма-нож». Проводится облучение. После процедуры облучения, кассета с клеточной культурой вынимается из стереотаксической рамы и без парафиновых листов помещается в  $\text{CO}_2$  инкубатор. Контроль за состоянием клеток осуществляется с помощью световой микроскопии.

30 Существенным недостатком способа-прототипа является невозможность точной оценки суммарной дозы на конкретную область мембраны с клеточной культурой в связи с тем, что она маркирована по зонам и представляет собой единое пространство  $50 \text{ см}^2$ . Применение парафина в качестве ткань-эквивалентного объекта не оптимально, вследствие мягкости и его непрочности. Так же следует отметить, что кассета при облучении поворачивается на  $90$  градусов из горизонтального положения в вертикальный, что вызывает дополнительную травматизацию клеток и, в конечном итоге, снижает информативность метода.

40 Таким образом, приведенные решения не могут решить задачу обеспечения надежной фиксации и позиционирования клеточных культур при претензионном облучении для точного персонифицированного подбора доз облучения.

45 Технический результат настоящего изобретения состоит в устранении указанных недостатков и повышении точности подбора суммарных доз облучения для клеточных культур, за счет разработки и использования при прецизионном облучении устройства для фиксации и позиционирования клеточных культур.

Устройство для фиксации и позиционирования клеточных культур состоит из двух

полусфер - наружной и внутренней, расположенных одна в другой и разделенных внутренним пространством, которое герметизировано силиконовой гофрой замкнутого сечения. Внутренняя сфера меньшего диаметра и выполнена в виде неразборной замкнутой конструкции с прямоугольным углублением под установку планшета для 5 культивирования клеточных культур. Нижняя треть внутренней сферы сплошного сечения, а верхняя на две трети полая, содержащая отверстие в верхней точке для заполнения водой. Наружная сфера большего диаметра, выполнена в виде разборной полой конструкции с прямоугольным отверстием под установку планшета для культивирования клеточных культур. Планшет для клеточных культур выполнен из 10 нетоксичного полистирола и представляет собой поднос, на котором жестко смонтированы лунки.

Точное описание устройства для фиксации и позиционирования клеточных культур при прецизионном облучении представлено на чертежах.

Краткое описание чертежей:

15 Фиг. 1 - Трехмерная изометрическая модель с удаленным сектором, где:

1 - планшет для культивирования клеточных культур в виде лунок;

2 - шарики;

3 - сфера внутренняя;

4 - пространство между внешней и внутренней сферой;

20 5 - сфера наружная;

6 - сплошное сечение нижней трети внутренней сферы

7 - силиконовая гофра.

Выполнение устройства в виде двух сфер наружной (Фиг. 1,5) и внутренней (Фиг. 1,3) и расположение их одна в одной обеспечивает жесткую фиксацию стереотаксической 25 рамы за внешнюю сферу.

Пространство (Фиг. 1,4) между внешней и внутренней сферой, а также полость внутренней сферы заполняется водой через отверстие, находящееся в верхней точке. После заполнения водой отверстие герметично закрывается пробкой. Водное наполнение обеспечивает тканевую симуляцию головного мозга, имеют большинство фантомов 30 для дозиметрического планирования. Выполнение внутренней сферы (Фиг. 1,3) в виде неразборной замкнутой конструкции с прямоугольным углублением под установку планшета для культивирования клеточных культур (Фиг. 1,1) обеспечивает неподвижность планшета в пространстве при прекращении его перемещений.

Нижняя треть внутренней сферы имеет сплошное сечение (Фиг. 1,6), обеспечивающее 35 стабилизацию положения внутренней сферы в пространстве.

Сфера с большим диаметром (наружная) (Фиг. 1,5) является разборной полой конструкцией с прямоугольным отверстием под установку планшета (Фиг. 1,1) При сборке, для центровки сфер, в пространство между малой и большой сферой равномерно размещают шарики из пластика (Фиг. 1,2) одинакового диаметра, обеспечивающие 40 свободное движение внутренней сферы относительно внешней, это помогает компенсировать вибрацию при переносе клеточной культуры от аппарата к аппарату. При этом углубление малой сферы и прямоугольное отверстие большой сферы совмещается таким образом, чтобы можно было установить планшет для культивирования клеточных культур. Для соединения углубления и прямоугольного 45 отверстия используется гофра замкнутого сечения (Фиг. 1,7), которая плотно прилегает, а также герметизирует внутреннее пространство между малой и большой сферой. Она служит гидроизоляцией, а также обеспечивает возможность движения внутренней сферы относительно внешней.

Изготовление планшета для культивирования клеточных культур из полистирола в виде лунок позволяет обеспечить неподвижность клеточных культур, выполнить их культивацию, увеличить локальный контроль при наблюдении за состоянием клеток после облучения.

5 Для проведения облучения устройство помещают в стереотаксическую раму, которая является неотъемлемой частью гамма-ножа, фиксация производится за внешний контур.

Таким образом, такая конструкция устройства, при подготовке проведения облучения, позволяет жестко зафиксировать внешний контур, при этом обеспечить неподвижность луночного планшета для переноса. Неподвижность исследуемой клеточной культуры  
10 уменьшает ее травматизацию при проведении исследования, а также благодаря применению планшетной системы культивирования, в отличие от прототипа, позволяет более точно определить зону облучения. Это дает возможность верифицировано подойти к выбору суммарных доз облучения, обеспечивающих наилучший тумороридный эффект у больных злокачественными опухолями головного мозга.

15 Сущность изобретения поясняется примерами.

#### Пример 1

Пациент Р., пол мужской, возраст 45 лет, диагноз - глиобластома в левой лобной доле, оперативное лечение 12.11.2011. Фрагмент удаленной ткани опухоли отправлен для гистологической верификации диагноза. Один фрагмент ткани опухоли был помещен  
20 в транспортную среду и доставлен в лабораторию для выделения клеток и получения культуры клеток опухоли.

В лаборатории фрагмент опухолевой ткани был подвергнут ферментативной обработке в 0,1% растворе коллагеназы I типа (Sigma). Затем клетки были отмыты от разрушенных клеточных элементов путем центрифугирования (100g, 6 минут),  
25 ресуспендированы в ростовой среде (95%  $\alpha$ -MEM, 5% сыворотки эмбрионов коров, гентамицин) и посеяны в пластиковый вентилируемый флакон для монослойных культур.

Флакон помещен в инкубатор с воздушной фазой, содержащей 6% CO<sup>2</sup>, температурой +37°C и в условия 100% влажности. После достижения пролиферирующими клетками  
30 70% конфлюентного монослоя клетки были сняты с ростовой поверхности, как описано выше. Половина клеток была подвергнута криоконсервации, остальные клетки были перенесены в ростовую среду и распределены на 2 флакона. Пересеянные клетки растили до 70% конфлюента, снимали с культуральной поверхности и, подсчитав их концентрацию, пересеивали по 50 000 клеток в 1 мл в ячейки планшета для  
35 культивирования культур клеток (Фиг. 1). Состояние монослоя клеток оценивали визуально с помощью инвертированного микроскопа. Клетки растили до 70-80% конфлюентного монослоя, обычно это занимало 48 часов. Планшет с клетками (Фиг. 1,1) вынимали из инкубатора и края планшета герметизировали лабораторной термопленкой парафильм (Parafilm M, PM-996, США). Затем планшет помещали в полиэтиленовый  
40 пакет (толщина материала 0,2-0,3 мм). Пакет запаивали по периметру по размеру планшета, не оставляя по краям воздушных пузырей. Планшет переносили в помещения для проведения компьютерной томографии. Планшет помещали в устройство для фиксации и позиционирования клеточных культур при прецизионном облучении для составления плана и схемы облучения (Фиг. 1).

45 Затем устройство для фиксации и позиционирования клеточных культур при прецизионном облучении со вставленным в него и зафиксированным планшетом помещали в аппарат «Гамма-нож» для проведения запланированного облучения. Выполняли облучение в суммарных дозах 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8 и 10 Гр при мощности 2 Гр/мин. По окончании облучения планшет с клетками возвращали в культуральный блок,



вынимали его из упаковки и помещали в инкубатор. Через 1 час пребывания в инкубаторе планшет вынимали и в нем заменяли культуральную среду на свежую. Далее один раз в 3-4 дня проводили замену половины среды на свежую. В те же сроки проводили визуальную оценку и фотографирование состояния клеток с помощью инвертированного микроскопа, оснащенного цифровой камерой. Интенсивная гибель клеток, облученных в дозах от 3 Гр и выше, была зарегистрирована после 7 дня. На 14 сутки после облучения отсутствие живых клеток и полная гибель клеточных культур была зарегистрирована при дозах 4 Гр и выше.

Таким образом было установлено, что наименьшей терапевтической дозой для опухолевых клеток пациента являлась - 4Гр.

Проведенный впоследствии пациенту курс лучевой терапии с рекомендованной дозой, позволил достичь удовлетворительного ответа на лечение без ранних лучевых осложнений. Ремиссия составила 5 месяцев.

#### Пример 2

Пациент Т., пол мужской, возраст 61 год, диагноз - мультиформная глиома правой теменной и затылочной долей. Оперативное лечение 13.07.2010.

Фрагмент удаленной ткани опухоли отправлен для гистологической верификации диагноза. Один фрагмент ткани опухоли был помещен в транспортную среду и доставлен в лабораторию для выделения клеток и получения культуры клеток опухоли. Дальнейшие процедуры получения опухолевых клеток, их культивирования и подготовка к облучению были выполнены аналогично примеру 1.

Планшет для культивирования клеточных культур (Фиг. 1,1) переносили в помещение для проведения компьютерной томографии. Планшет помещали в устройство для фиксации и позиционирования клеточных культур при прецизионном облучении для составления плана и схемы облучения. Затем устройство для фиксации и позиционирования клеточных культур при прецизионном облучении со вставленным в него и зафиксированным планшетом (Фиг.1) помещали в аппарат «Гамма-нож» для проведения запланированного облучения. Выполняли облучение в суммарных дозах 5,7,10,12,20 Гр, мощность составила 1,94 Гр/мин. По окончании облучения планшет с клетками возвращали в культуральный блок, вынимали его из упаковки и помещали в инкубатор. Через 1 час пребывания в инкубаторе планшет вынимали и в нем заменяли культуральную среду на свежую. Далее один раз в 3-4 дня проводили замену половины среды на свежую. В те же сроки проводили визуальную оценку и фотографирование состояния клеток с помощью инвертированного микроскопа, оснащенного цифровой камерой. Интенсивная гибель клеток, облученных в дозах от 10 Гр и выше, была зарегистрирована после 11 суток. При этом в ячейках планшета сохранялись немногочисленные живые клетки. Поэтому наблюдение над клетками этой культуры продолжили. На 46 сутки после облучения среди клеток, облученных в дозе 10 Гр, был обнаружен фокус пролиферации. Это свидетельствовало о том, что для клеток этого пациента доза облучения 10 Гр не является абсолютно туморицидной, при ней сохраняются единичные долгоживущие клетки, которые могут восстановить пролиферативную способность и дать начало рецидиву. Минимальная доза, при которой мы не обнаружили восстановления пролиферативной способности была 12 Гр.

Проведенный впоследствии пациенту курс лучевой терапии с рекомендованной дозой, позволил достичь удовлетворительного ответа на лечение без ранних лучевых осложнений. Ремиссия составила 4,8 месяца.

Таким образом использование предлагаемого устройство для фиксации и позиционирования клеточных культур при прецизионном облучении доказало свою

эффективность. За счет своей конструкции обеспечило снижение травматичности культуры опухолевых клеток при облучении, надежную их фиксацию, что позволило подобрать наиболее эффективную индивидуальную лечебную дозу для конкретного пациента.

5 К настоящему времени при помощи предлагаемого устройства для фиксации и позиционирования клеточных культур проведено облучение опухолевых клеточных культур, изъятых при оперативных вмешательствах у 5 больных с опухолями головного мозга с положительным результатом.

10 Устройство разработано в отделе лучевых и комбинированных методов лечения совместно с лабораторией гибридных технологий в ФГБУ «РНЦРХТ им. ак. А.М. Гранова».

#### (57) Формула изобретения

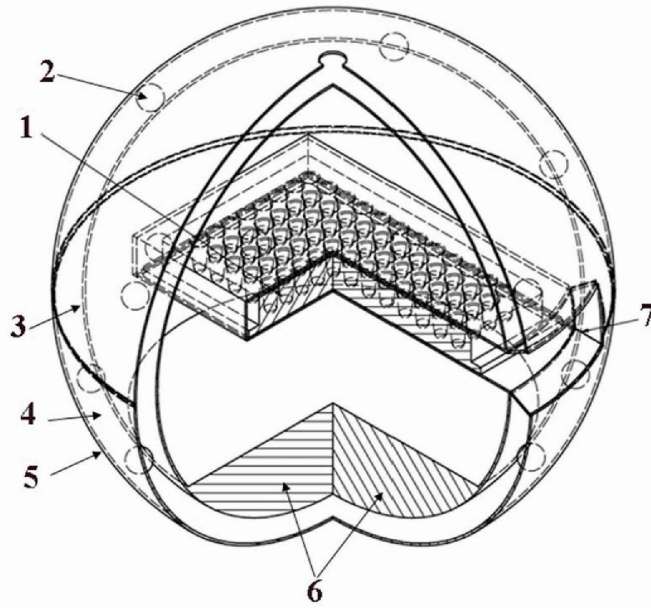
15 Устройство для фиксации и позиционирования клеточных культур при прецизионном облучении, содержащее планшет для культивирования клеточных культур, отличающееся тем, что устройство выполнено в виде двух сфер: наружной и внутренней, которые расположены одна в другой и разделены внутренним, герметизированным силиконовой гофрой замкнутого сечения пространством, заполненным шариками, при этом внутренняя сфера меньшего диаметра и выполнена в виде неразборной замкнутой 20 конструкции с прямоугольным углублением под установку планшета для культивирования клеточных культур, нижняя треть внутренней сферы имеет сплошное сечение, а верхние две трети полые, содержат отверстие в верхней точке для заполнения водой, а наружная сфера большего диаметра, выполнена в виде разборной полый конструкции с прямоугольным отверстием под установку планшета для культивирования 25 клеточных культур, при этом планшет выполнен из полистирола в виде лунок.

30

35

40

45



Фиг. 1