

Изобретение относится к биотехнологии и может быть использовано для хранения целых органов при 0°C с целью их последующей трансплантации.

Наиболее близким к заявляемому является способ консервирования печени в растворе UW, содержащем:

Лактобионат-K	100 мМ
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	25 мМ
MgSO <sub>4</sub>	5 мМ
Раффиноза	30 мМ
Аденозин	5 мМ
Глютатион	3 мМ
Бактериум	0,5 мл
Дексаметазон	8 мг
Аллопуринол	1 мМ

Гид рооксиэтил л крахмал 50 гр Согласно способу печень перфузируют раствором UW со скоростью потока 5-10мл/мин при 0°C, затем помещают в бьюксы и хранят при 0°C[1].

Недостатком способа является то, что он не обеспечивает высокой сохранности такого важного энергетического параметра клеток, как уровень адениннуклеотидов (АТФ). Уже после 2 ч хранения наблюдается резкое его падение.

Это связано с тем, что используемый в способе консервирующий раствор содержит ряд проникающих в клетку компонентов (K<sup>+</sup>, PO<sub>4</sub><sup>-</sup>, Mg<sub>2</sub><sup>+</sup>, SCv которые в условиях гипотермического хранения вызывают изменение внутриклеточного осмотического давления в клетках, их набухание и резкий отек ткани.

В основу изобретения поставлена задача создания такого способа консервирования печени животных, в котором изменение состава консервирующей среды позволяет предотвратить набухание клеток печени в процессе хранения и таким образом обеспечить сохранение высокого уровня АТФ.

Эта задача решается тем, что в способе консервирования печени животных, включающем перфузию органа консервирующим раствором и последующее хранение в этом растворе при 0°C, в качестве консервирующего раствора используют 0,25 М раствор сахарозы, содержащий 1 % бычьего сывороточного альбумина (БСА).

Использование для перфузии и хранения изотонического раствора сахарозы, содержащего мембранный стабилизатор -1%-ный БСА, позволяет предотвратить набухание клеток ткани печени, поскольку и сахароза, и альбумин являются осмотически неактивными соединениями. Подавление набухания клеток способствует поддержанию барьерной функции мембран, сохранению ионной асимметрии и водного баланса, что обеспечивает сохранение высокого уровня АТФ в течение 24 ч.

Способ осуществляют следующим образом.

Печень через портальную вену перфузируют консервирующим раствором, содержащим 0,25 М сахарозы и 1 % БСА (рН 7,4) со скоростью потока 25-30 мл/мин. По окончании перфузии орган помещают в бьюкс и ставят на лед, где хранят при 0°C.

Пример, Печень крысы подключали к перфузионной системе и через портальную вену осуществляли перфузию органа консервирующим раствором, содержащим 0,25 М сахарозы и 1 % БСА, приготовленным на 50 мМ трис-HCl-буфера. Объем перфузата составил 100 мм, скорость потока 30 мл/мин.

После перфузии печень аккуратно извлекали из тела животного и переносили в стеклянный бьюкс, наполненный криоконсервирующим раствором и находящийся во льду. Печень была полностью покрыта этим раствором. Забор кусочков печени проводили через 30 мин, 2,4,10 и 24 ч хранения при 0°C. Оценку сохранности печени проводили путем определения уровня АТФ методом жидкостной хроматографии высокого давления (H PLC) [2].

Сравнительные данные представлены в таблице.

Из таблицы следует, что заявляемый способ обеспечивает высокий уровень АТФ в течение 24 ч хранения при 0°C, в то время, как в прототипе он падает уже после 2 ч хранения.

Время хранения, ч	Уровень АТФ, мМ/гр ткани	
	хранение в среде UW n=4	хранение в сахарозной среде n=9
Контроль	3,20±0,25	3,3±0,30
0,5	2,75±0,007	3,3±0,27
2	1,20±0,13	2,8±0,25
4	0,80±0,04	3,2±0,29
10	0,32±0,04	2,7±0,23
24	0,15±0,02	2,6±0,24