

Спосіб відноситься до медицини, зокрема до біотехнології, і може бути використаним при виготовленні консервованих біотрансплантатів.

Відомий спосіб виготовлення ксенотрансплантатів, який включає криогенну обробку тканинного субстрату та наступну його ліофілізацію [1].

Недоліком відомого способу є відсутність етапу попередньої антимікробної обробки тканинного субстрату, що може спричинити бактеріальну забрудненість готового виробу - консервованого ксенотрансплантату. Крім того, виготовлений за відомим способом ксенотрансплантат зберігає достатньо виражені видові антигенні властивості. Обидва недоліки можуть стати основною причиною передчасного відторгнення імплантованого тканинного клаптя.

В основу винаходу поставлене завдання удосконалити спосіб-виготовлення ксенотрансплантатів, в якому шляхом введення додаткових технологічних операцій досягають підвищення життєздатності ксенотрансплантату і зменшення ризику його передчасного відторгнення.

Поставлене завдання вирішують тим, що у відомому способі виготовлення консервованих ксенотрансплантатів, який включає криогенну обробку тканинного субстрату та наступну його ліофілізацію, у відповідності до винаходу після етапу криоконсервування розморожений тканинний субстрат обробляють енергією оптичного випромінювання, після чого проводять процес ліофілізації.

Спосіб здійснюють таким чином.

Кріоконсервування проводять рідким азотом.

Після завершення операції кріоконсервування розморожений тканинний субстрат піддають обробці енергією оптичного випромінювання при енергетичному опроміненні $2,5 \text{ Вт} \cdot \text{м}^{-2}$, що відповідає дозі опромінення $1400 \div 2400 \text{ Дж} \cdot \text{м}^{-2}$. При температурі $1 \div 10^\circ \text{C}$ опромінення здійснюють протягом $10 \div 15$ хвилин, після чого проводять операцію ліофілізації.

Ліофілізовані ксенотрансплантати виймають із сублиматора, переносять у стерильний бокс та проводять морфологічний і бактеріологічний аналіз на наявність мікрофлори, а також пробу на токсичність. Кондиційний продукт упаковують у стерильні поліетиленові пакети й герметизують.

Приклад 1 (на виготовлення ксенотрансплантату) Підготовлений ксеногенний тканинний клапоть - субстрат для виготовлення ксенотрансплантату витримували при температурі рідкого азоту, після чого переносили у камеру для опромінювання й піддавали обробці від джерела оптичного випромінювання при дозі $1800 \text{ Дж} \cdot \text{м}^{-2}$ в межах температури в камері від 1 до 8°C протягом 10 хвилин. Опромінені у такий спосіб клапті переносили до сублиматора й здійснювали операцію ліофілізації за відомою методикою [1].

Виготовлені ксенотрансплантати вийняли із сублиматора, перенесли у стерильний бокс, де провели морфологічний і бактеріологічний аналіз на наявність мікрофлори, а також пробу на токсичність.

Приклад 2 (на досягнення позитивного результату) Клаптики ксенотрансплантату помістили на поживне середовище у чашці Петрі (агар) й перенесли в термостат при 37°C на 48 год.

Бактеріологічний аналіз не виявив росту мікрофлори. Пробу на токсичність провели з застосуванням парамеційного тесту [2]. Результати дослідження підтвердили значно нижчий рівень токсичності виготовлених ксенотрансплантатів порівняно з контрольними клаптями, виготовленими за технологією способу прототипу (див.табл.1).

Таблиця 1

Токсичність ксенотрансплантату за парамеційним тестом *in vitro* в залежності від технологічних умов виготовлення (тривалість життя парамецій в мікропрепараті, сек.; $\bar{X} \pm m$)

Серії ксенотрансплантатів	Експозиція оптичного випромінювання, хв.	Доза оптичного випромінювання, $\text{Дж} \cdot \text{м}^{-2}$			
		1200	1400	2400	2800
Контроль (прототип)		$10,4 \pm 1,1$			
Виготовлені запропонованим способом	5	$12,9 \pm 1,3$	$13,6 \pm 1,3$	$15,3 \pm 1,4$	$16,0 \pm 1,8$
	10	$14,9 \pm 1,5$			$20,1 \pm 1,9$
	15	$16,6 \pm 1,6$			$20,7 \pm 2,2$
	20	$17,0 \pm 1,9$	$18,2 \pm 2,0$	$21,9 \pm 2,3$	$16,9 \pm 2,4$

Як видно з наведених у таблиці даних, обробка тканинного субстрату енергією оптичного випромінювання при дозі випромінювання в межах $1400 \div 2400 \text{ Дж} \cdot \text{м}^{-2}$ і експозиції в діапазоні $10 \div 15$ хв. виявилась найбільш оптимальною для набуття ксенотрансплантатом детоксикаційних властивостей.

Приклад 3. На середовище у чашках Петрі зроблено посів з шматочків ксенотрансплантатів, які знаходилися протягом 1, 2 і 3 місяців у герметичній упаковці для вирішення питання бактеріальної забрудненості. У всіх пробах ріст мікрофлори був відсутнім. У таблиці 2 наведені результати бактеріологічних досліджень контрольних (прототип) і виготовлених запропонованим способом ксенотрансплантатів.

Таблиця 2

Результати контролю ксенотрансплантатів на стерильність

Спосіб виготовлення	Число посівів	Число позитивних посівів						Показник стерильності готового продукту
		Черв 1 місяць		Через 2 місяці		Через 3 місяці		
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
Прототип	по 16	1	6,25	2	12,5	4	25,0	85,4
Запропонований	по 20	-	-	-	-	-	-	100

Таким чином, запропонований спосіб забезпечує надійну стерильність готового продукту - ксенотрансплантату.

Приклад 4. Хворий К, 42 років. Доставлений у опікове відділення з діагнозом: опік полум'ям II-IIIАБ ступенів тулуба, обох верхніх кінцівок (30% поверхні тіла), опіковий шок важкого ступеню.

Протишокова терапія. На третій день після відповідної обробки опікової поверхні на рани II-IIА ступеню накладено 700см² ліофілізованих ксенотрансплантатів. На рани IIIБ ступеню накладеш мазеві пов'язки з метою хімічної некректомії.

На 7 день на фоні задовільного загального стану ксенотрансплантати на ранах сухі, легко відшаровуються. На місці рани під тканинним клаптем сформований процес епітелізації. На 17 день на некректомовані ділянки імплантовані клапті аутоотрансплантатів.

Таким чином, виготовлення ксенотрансплантатів запропонованим способом забезпечує високий рівень стерильності готового продукту і життєздатності ксенотрансплантатів, що суттєво знижує ризик їх передчасного відторгнення.

Джерела інформації, які слід взяти до уваги:

1. Спосіб виготовлення ксенотрансплантатів. Патент України №10737 А. МКИ: А01 N1/2. Бігуняк В.В., Лучанко П.І. №95041596 від 10.04.94. Тернопільська обласна станція переливання крові (UA). 25.12.96. Бюл. №4.

2. Андрейчин М.А., Бех М.Д., Дем'яненко В.В. та ін.// Методи дослідження ендогенної інтоксикації: методичні рекомендації.- Київ, 1998.-26с.