

Изобретение относится к экспериментальной медицине и может быть использовано при разработке способов низкотемпературного консервирования почки.

Наиболее близким к заявляемому является способ насыщения-отмывания почки путем ступенчатой перфузии раствором криопротектора [1]. Согласно способу орган насыщают криопротектором ступенчато возрастающей концентрации, и отмывают, ступенчато снижая концентрацию криопротектора в перфузате.

Недостатком способа является повреждение органа в процессе его перфузии, приводящее к снижению функции почки.

Задачей изобретения является создание такого способа насыщения-отмывания почки, в котором путем введения этапа предварительной подготовки к перфузии можно было бы исключить повреждение органа в процессе перфузии и таким образом повысить его функциональную полноценность.

Эта задача решается тем, что в способе насыщения-отмывания почки путем ступенчатой перфузии раствором криопротектора, перед перфузией производят перевязку мочеточниковой артерии в дистальном ее отделе.

За счет перевязки мочеточниковой артерии в дистальном отделе исключается шунтирование (сброс) в нее перфузионного раствора, что позволяет сохранить заданный режим изменения концентрации криопротектора как при насыщении, так и отмывании почки. Это, в свою очередь, исключает резкое изменение концентрационного градиента и предупреждает осмотические диффузионные повреждения клеток почки.

Способ насыщения-отмывания почки иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1. Кроликам породы шиншилла весом 23 - 5,5 кг под внутривенным гексеналовым наркозом вскрывали брюшную полость и выделяли почечные сосуды (артерию и вену) и мочеточник. Сосуды канюлировали фторопластовыми катетерами. Почку удаляли из организма, перевязывали лигатурой мочеточниковую артерию в дистальном отделе и подключали к перфузионному аппарату. Время тепловой ишемии не превышало 5 мин. Насыщение почки криопротектором проводили при 0 - +4°C и перфузионном давлении 60 мм рт.ст. пульсирующим потоком.

В качестве перфузионной среды использовали раствор Хенкса, в который в процессе насыщения добавляли криопротектор полиэтилен-оксид молекулярной массы 400 (ПЭО-400) до конечной концентрации 20%, увеличивая концентрацию криопротектора со скоростью 1% мин. Отмывание ПЭО-400 проводили снижая его концентрацию в перфузате со скоростью 1% мин. Параллельно проводили насыщение-отмывание почки известным способом, т.е. без перевязки мочеточниковой артерии.

Сохранность органа в процессе перфузии определяли флуоресцентным методом. Для этого в перфузионную среду добавляли нефлуоресцирующее соединение-флуоресцеиндиацетат в концентрации 10 мМ, которое интрацеллюлярно разлагается на флуоресцеин и уксусную кислоту. Увеличение интенсивности флуоресценции служило показателем повреждения органа. Измерения проводили в проточной кювете в перфузате, оттекающем из вены, на спектрофлуориметре при длине волны возбуждения 486 нм и максимуме длины волны флуоресценции 517 нм.

Результаты представлены на фиг.1, где а - флуоресценция перфузата из вены при перфузии почки с перевязанной, б - неперевязанной мочеточниковой артерией.

Как видно, перевязка мочеточниковой артерии в дистальном отделе позволяет предупредить повреждение почки в процессе перфузии раствором ПЭО-400.

Пример 2. Способ осуществляли аналогично примеру 1, за исключением того, что в качестве перфузионной среды использовали раствор Хенкса, в который в процессе насыщения добавляли криопротектор этиленгликоль (ЭГ) до конечной концентрации 40%. Отмывание ЭГ проводили, снижая его концентрацию в перфузате со скоростью 1% мин. Результаты представлены на фиг.2, где а - флуоресценция перфузата из вены при перфузии почки с перевязанной, б - неперевязанной мочеточниковой артерией.

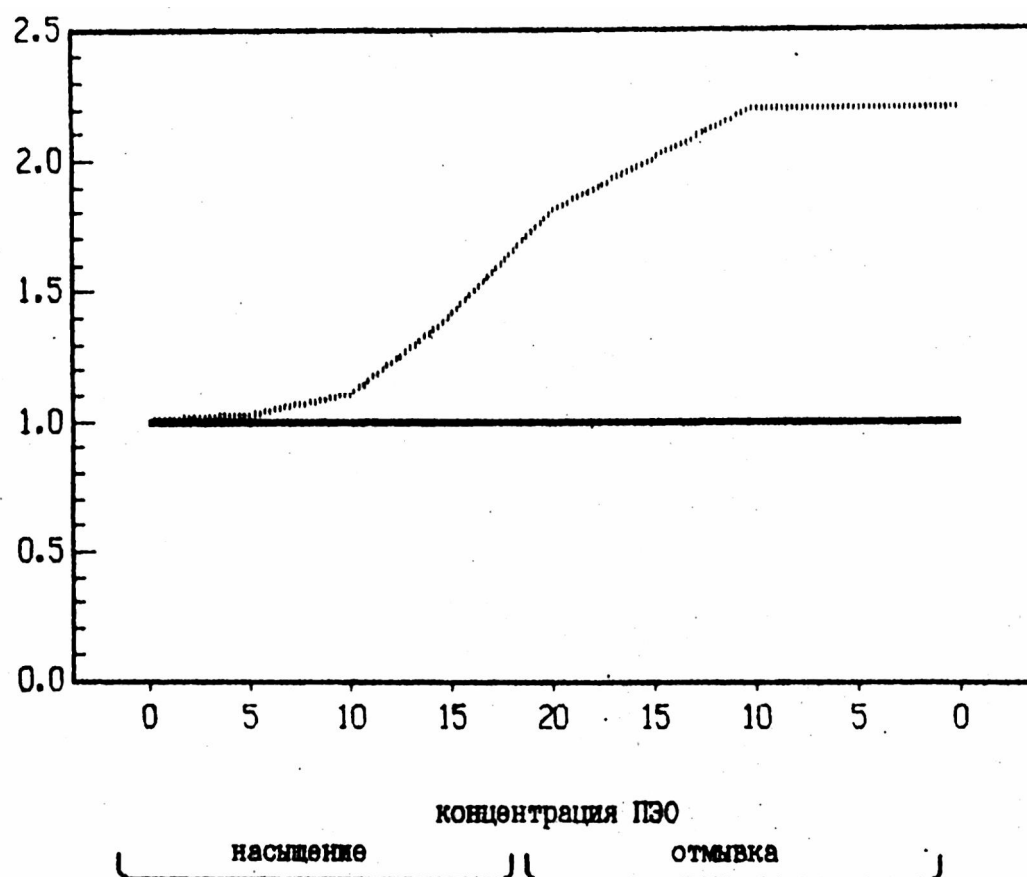
Как видно, перевязка мочеточниковой артерии в дистальном отделе позволяет предупредить повреждение почки в процессе перфузии раствором ЭГ.

Функциональное состояние почки после перфузии оценивали, подключая орган к брюшному отделу аорты и нижней полой вены. Результаты представлены в таблице.

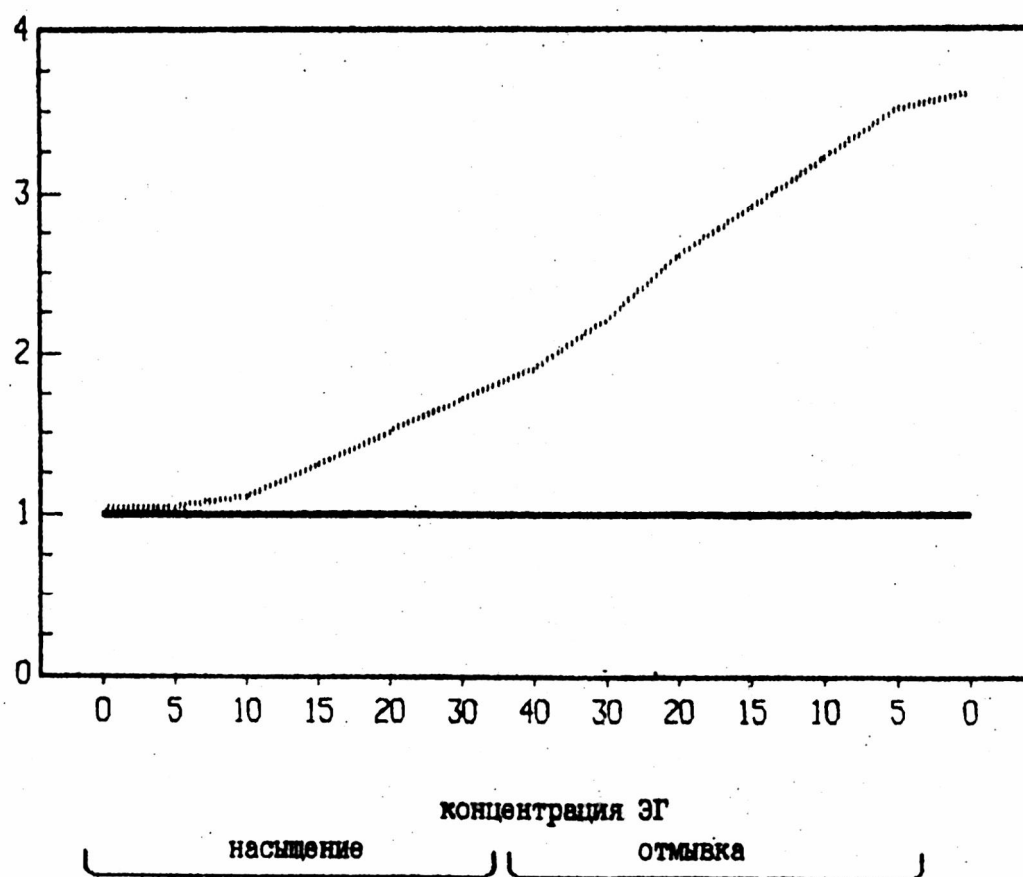
Как видно из таблицы, перевязка мочеточниковой артерии позволяет избежать повреждения почки в процессе ее насыщения-отмывания, и таким образом повысить мочевыделительную функцию органа по сравнению с прототипом в 2 - 3 раза, т.е. достичь уровня контроля.

Таблица

Условия перфузии	Диурез, мл/мин	Время появления индигокармина в моче, мин
Контроль (n=8)	$0,19 \pm 0,02$	2
Перфузия ПЭО-400 без перевязки мочеточниковой артерии (n=6)	$0,08 \pm 0,02$	8
Перфузия ПЭО-400 с перевязкой мочеточниковой артерии (n=6)	$0,17 \pm 0,03$	3
Перфузия ЭГ без перевязки мочеточниковой артерии (n=6)	$0,06 \pm 0,01$	9
Перфузия ЭГ перевязкой мочеточниковой артерии (n=6)	$0,21 \pm 0,04$	2



Фиг. 1



Фиг. 2