

Изобретение относится к области медицины, в частности, касается раствора для консервации живых органов.

Особые трудности представляет необходимость консервации при кардиохирургических операциях и трансплантации такого интенсивно работающего органа, как сердце, в связи с интенсивностью происходящих в нем метаболических процессов и расхода энергии при его сокращениях. Если еще несколько лет назад хирурги были способны предохранить сердце от тотальной ишемии с помощью кардиopleгии в течение 1 - го часа, то в настоящее время холодовая и химическая кардиopleгия, предлагаемая Королевским институтом и госпиталем Святого Томаса (Великобритания), позволяет успешно консервировать сердце в течение 4 - х часов. На основе кардиopleгического раствора, предложенного госпиталем Святого Томаса создан препарат плегисол (коммерческий Продукт) (**Abbott Laboratories**, Чикаго, США), который широко используется в клинической практике. В результате улучшилась клеточная протекция при операциях на открытом сердце, требующих длительного времени, создаются дополнительные условия для совершенствования хирургической техники, увеличивается время консервации, необходимое для трансплантации сердца [1].

Однако общепринятое время консервации сердца (4 часа) недостаточно для доставки его на большие расстояния, в частности, в любую точку Земного шара, туда, где возникает необходимость в пересадке его реципиенту. Увеличение длительности консервации переживающего органа необходимо сочетать с повышением качества и надежности предохранения клеток от ишемического и реперфузионного повреждения.

В основу изобретения положена задача путем изменения качественного и количественного состава разработать раствор консервации живых органов с повышенной длительностью консервации и длительным периодом выживания клеток, обеспечивающий предотвращение их ишемического и реперфузионного повреждения.

Задача решена тем, что раствор для консервации органов, содержащий хлорид натрия, соль калия, соль магния, соль кальция, стабилизатор pH и растворитель, согласно изобретению, содержит дополнительно местный анестетик, производное фенотиазина, производное пурина, в качестве солей калия и кальция содержит глюконаты калия и кальция, в качестве соли магния - сульфат магния, в качестве стабилизатора pH - тригидроксиметиламинметан, а в качестве растворителя - полиглюкин, при следующем соотношении компонентов, мМ/л:

<b>хлорид натрия</b>	<b>100,0-117,0</b>
<b>глюконат калия</b>	<b>12,0-17,0</b>
<b>глюконат кальция</b>	<b>1,2-2,0</b>
<b>сульфат магния</b>	<b>8,0-32,0</b>
<b>тригидроксиметиламинметан</b>	<b>2,0-3,0</b>
<b>местный анестетик</b>	<b>0,33-1,66</b>
<b>производное фенотиазина</b>	<b>0,01-0,04</b>
<b>производное пурина</b>	<b>1,0-2,0</b>
<b>полиглюкин</b>	<b>остальное.</b>

Заявляемый раствор позволяет значительно увеличить длительность консервации живых органов, в частности, до 48 часов.

Использование в качестве растворителя полиглюкина позволяет резко повысить осмолярность раствора (с **320 мОсм/л** до **595 мОсм/л** и выше) и предотвратить резкое набухание митохондрий и внутриклеточный отек. Использование солей калия и кальция в виде глюкоматов, а соли магния в виде сульфата магния вместо хлоридов позволяет уменьшить содержание ионов хлора в растворе, так как хорошо известное токсическое действие больших количеств этих ионов на мембраны возбудимых клеток, например миокардиальных. Местный анестетик, в качестве которого можно использовать, например, лидокаин, прокаин и другие, добавлен в раствор для стабилизации мембран. Производное фенотиазина, в качестве которого можно использовать, например этализин, применяется для связывания внутриклеточных белков типа кальмодулина, кроме того, этот препарат обладает четко выраженным антиаритмическим и антиишемическим эффектами, производное пурина, в качестве которого можно применить, например, инозин, используется для восполнения энергетических запасов клеток в связи с его способностью проникать к миофибриллам, стимулировать синтез нуклеотидов и повышать активность ряда ферментов цикла Кребса.

Предлагаемый раствор содержит все три компонента, которые в больших количествах могут являться самостоятельными кардиopleгическими агентами (ионы **K<sup>+</sup>**, ионы **Mg<sup>2+</sup>** и местный анестетик), однако количество каждого из них в предлагаемом растворе значительно меньше, чем необходимо для кардиopleгии, в случае, если каждый из них использовался бы самостоятельно (например, 30 - 40 мМ/л для хлористых калия и магния; 10 мМ/л или более для местного анестетика, в зависимости от того, какой из них используется). Такие концентрации указанных выше ионов и лидокаина, какие предлагаются в заявляемом растворе, вызывают обратимую стабилизацию возбудимых мембран кардиомиоцитов других клеток и не приводят к их

необратимым повреждениям в результате длительной тотальной ишемии и последующей реперфузии. Меньшие концентрации не позволяют достичь ожидаемого эффекта, в частности, при консервации живых органов и кардиоплегии, а большие концентрации могут вызвать необратимые повреждения клеточных мембран.

Применение заявляемого раствора позволяет увеличить длительность успешной консервации живых органов, в частности, например до 48 часов.

Заявляемый раствор представляет собой бесцветную прозрачную жидкость, имеет pH от 7,3 до 7,8, не токсичен, хорошо растворим в воде.

Предлагаемый раствор получают простым смешиванием компонентов.

Предлагаемый раствор испытывали в опытах с консервацией сердца собаки-донора с последующей пересадкой его собаке-реципиенту. Всего было поставлено 45 опытов. Результаты испытаний представлены в таблице.

Предлагаемый раствор испытывали также в опытах с консервацией почек с последующей их пересадкой беспородным белым крысам.

Для лучшего понимания настоящего изобретения приводятся следующие примеры его осуществления.

Пример 1.

Предлагаемый раствор содержит компоненты при следующем соотношении, мм/л:

<b>хлорид натрия</b>	<b>110,0</b>
<b>глюконат калия</b>	<b>16,0</b>
<b>сульфат магния</b>	<b>16,0</b>
<b>глюконат кальция</b>	<b>1,2</b>
<b>тригидроксиметиламинометан</b>	<b>2,0</b>
<b>лидокаин</b>	<b>1,0</b>
<b>этапизин</b>	<b>0,01</b>
<b>инозин</b>	<b>1,0</b>
<b>полиглюкин</b>	<b>остальное.</b>

Предлагаемый раствор приготавливали непосредственно перед операцией простым смешиванием входящих в него компонентов. Осмолярность его была **595 мОсм/л**, pH поддерживается на уровне 7,8. Раствор озонировали в течение 30 минут до **Hg - 400 мм** ртутного столба.

Донор - беспородная собака, самка 15кг. После внутривенного введения пентабарбитала натрия в дозе 25мг/кг собаку переводили на искусственное дыхание 12 в минуту объемом 200мл. Срединным разрезом в 3 - 4 - м межреберье вскрывали грудную клетку справа и слева. Выделяли магистральные сосуды. Верхнюю полую вену и аорту канюлировали. Все артерии и вены перевязывали и пересекали. Сердечно-легочный препарат выделяли из организма. Трахею реинтубировали и сердечно-легочный препарат переносили в кювету. Отмывание производили предлагаемым кардиоплегическим раствором, оттекающую от сердца жидкость собирали в емкость, сердце останавливается заявляемым кардиоплегическим раствором через 1 минуту. После чего сердце выделяли, переносили в емкость 300мл, заполненную кардиоплегическим раствором, и помещали в холодильник при **t = 7°C** на 48 часов.

Через 48 часов сердце извлекали из холодильника и подшивали собаке-реципиенту в гетеротопическую позицию. Реципиент-собака беспородная, самец, массой 11кг. Магистраль вен и артерий соединяли. Медленно включали кровообращение в пересаженном сердце, которое сразу заполнилось, возникали сокращения, сменившиеся вскоре фибрилляцией желудочков. Фибрилляция желудочков снята дефибриллирующим разрядом. Регистрировали артериальное давление и записывали показания Электрокардиограммы, взят биопсийный материал для электронно-микроскопического исследования.

При патологоанатомическом исследовании консервированного в течение 48 часов и пересаженного сердца собаки выявлены следующие изменения. При общем хорошем состоянии консервации наблюдаются незначительные изменения электронно-микроскопической картины миокардиальной ткани, заключающиеся в мраморном отеке или более глобальном с умеренным расхождением крист митохондрий или определенной степени просветленности митохондриального матрикса, умеренной степени гиперхроматизма или нормальной консервацией ядерной мембраны. Изменения состоят также в незначительном отеке миокардиальных волокон с небольшими фокусами расхождения миофибрилл. После реперфузии в течение 30 минут сердца донора кровью реципиента описанные выше незначительные изменения, обнаруженные в консервированном сердце, полностью исчезли. Таким образом, миокардиальная ткань была предохранена раствором от повреждения тотальной ишемией в течение 48 часов и последующей реперфузией.

Пример 2.

Предлагаемый раствор содержит компоненты при следующем соотношении. мм/л:

<b>хлорид натрия</b>	<b>117,0</b>
<b>глюконат калия</b>	<b>17,0</b>
<b>глюконат кальция</b>	<b>1,0</b>
<b>сульфат магния</b>	<b>32,0</b>
<b>тригидроксиметиламинометан</b>	<b>2,5</b>
<b>лидокаин</b>	<b>1,66</b>
<b>этацизин</b>	<b>0,02</b>
<b>инозин</b>	<b>2,0</b>
<b>полиглюкин</b>	<b>остальное.</b>

Предлагаемый раствор приготавливали и вводили так же, как описано в примере 1, но его pH равен 7,4.

Донор - беспородная собака, самка массой 5,4кг. Наркоз общий: внутривенное введение пентабарбитала натрия в дозе 25мг/кг. Ход операции аналогичен описанному в примере 1.

Реципиент - беспородная собака, самка весом 12кг. Ход операции по пересадке донорного сердца собаке-реципиенту аналогичен описанному в примере 1 за исключением того, что сердце пересаживали в нормотопическую позицию. Сердце восстановило свою деятельность после 10 минут медленной перфузии кровью реципиента. При оживлении сердца наблюдали групповые предсердные и желудочковые экстрасистолы, эпизоды желудочковой тахикардии. Записанные показатели электрокардиограммы и артериального давления не выявили опасных для жизни нарушений в работе сердца. Взят биопсийный материал для электронно-микроскопического исследования миокардиальной ткани. При патологоанатомическом исследовании миокардиальной ткани консервированного в течение 24 часов и пересаженного реципиенту сердца выявлены изменения, аналогичные наблюдаемым в примере 1, но значительно менее выраженные, которые полностью исчезали после 30 минут реперфузии сердца донора кровью реципиента. При выходе из наркоза на следующий день собака чувствовала себя нормально; по органам и системам изменений нет, за исключением отдельных предсердных и желудочковых экстрасистол на электрокардиограмме.

Пример 3.

Предлагаемый раствор содержит компоненты при следующем соотношении, мм/л:

<b>хлорид натрия</b>	<b>100,0</b>
<b>глюконат калия</b>	<b>12,0</b>
<b>глюконат кальция</b>	<b>2,0</b>
<b>сульфат магния</b>	<b>8,0</b>
<b>тригидроксиметиламинометан</b>	<b>3,0</b>
<b>лидокаин</b>	<b>0,33</b>
<b>этацизин</b>	<b>0,04</b>
<b>инозин</b>	<b>1,5</b>
<b>полиглюкин</b>	<b>остальное.</b>

Предлагаемый раствор приготавливали так же, как описано в примере 1, но его pH равен 7,3.

Донор - беспородная белая крыса, самец, массой 260г. Наркоз общий, эфирный. Произведена срединная лапаротомия по белой линии живота. Кишечник смещали вправо, освобождая операционное поле. Тщательно отпрепаровывали почечную артерию, почечная вена - на всем протяжении. Мочеточник также отпрепаровывали, после чего накладывали микрохирургические зажимы на почечную артерию и вену, ниже которых они пересекаются. Донорскую почку выделяли из операционной раны, почечную артерию канюлировали. Отмывание почки предлагаемым раствором производили введением его в почечную артерию со скоростью 1 мл в минуту до поступления бесцветной жидкости из почечной вены, после чего почку переносили в камеру с предлагаемым консервирующим раствором. Камеру помещали в холодильник, где почку хранили в течение 26 часов при температуре 6°C.

Реципиент - беспородная белая крыса, самец весом 260г. Производили описанную выше операцию удаления почки. Затем кишечник отводили, освобождая операционное поле для пересадки донорской почки. Тщательно выделяли почечные сосуды и мочеточник. На почечную артерию, почечную вену и мочеточник накладывали микрозажимы, ниже которых они пересекаются. Вторую почку выделяли и удаляли из операционного поля. Из холодильника консервированную почку переносили в операционное поле, локализовали почечную артерию, почечную вену и мочеточник. Затем производили анастомоз между почечной артерией донора и реципиента отдельными узловыми швами, лигатурой 10,0 в количестве 8. Производили анастомоз почечной вены непрерывным швом. Снимали зажимы и восстанавливали кровообращение в пересаженном органе, почка заполнилась равномерно - наблюдался незначительный стеноз стенки почечной вены. Анастомоз расплавлен путем пункции нижней поллой вены на игле. Наложены 3 шва на мочеточник. Выполнение анастомоза замедлилось из-за активного выделения мочи. Моча выделяется по каплям. Рана зашита послойно. На следующий день по выходе из наркоза состояние крысы с пересаженной почкой, консервированной в течение 26 часов, нормальное. Физиологические отправления - в норме, по другим органам и системам

нарушений нет. Из хвостовой вены взята кровь для анализа. Прослежены динамика веса почки; содержание аденозинтрифосфата уменьшилось на 15% меньше, чем в контрольном опыте с почкой, консервированной с помощью кардиopleгического раствора госпиталя Святого Томаса. Предлагаемое изобретение может найти применение, в частности, медицине, например, для трансплантации органов человека.

Таблица

Динамика физиологических показателей у животных после пересадки донорского сердца  
(срок консервации донорского сердца 24 часа)

№№ пп	Физиологические показатели	Послеоперационный период (в часах)	
		0 (сразу после пересадки)	4
1	Показатели поведения		
1.1	ориентировочные рефлексы	отсутствуют	изменены
1.2	оборонительные рефлексы	отсутствуют	изменены
1.3	условные рефлексы	отсутствуют	изменены
2	Состояние органов и систем		
2.1	двигательная активность	отсутствует	изменена
2.2	мочеиспускание	изменено	изменено
2.3	пищеварение	изменено	изменено
3	Температура тела	изменена	изменена
4	Частота дыхания	изменена	изменена
5	Глубина дыхания	изменена	изменена
6	Артериальное давление	изменено	изменено
7	Частота сердечных сокращений	изменена	изменена
8	Пульс	изменен	изменен
9	Сердечный ритм		
9.1	предсердные экстрасистолы	*	*
9.2	трепетание и мерцание предсердий	*	*
9.3	желудочковые экстрасистолы	*	*
9.4	синусовая брадикардия	*	нет
9.5	синусовая тахикардия	**	*
9.6	суправентрикулярная тахикардия	*	*
9.7	желудочковая тахикардия	*	нет
9.8	фибрилляция желудочков	*	нет
9.9	блокады		
9.10	синусовая	*	*
9.11	атриовентрикулярные различных степеней	*	*
9.12	ножек пучка Гиса	*	нет
10	Параметры ЭКГ		
10.1	зубцы (длительность и амплитуда)		
10.2	P	изменены	норма
10.3	Q	изменены	норма
10.4	R	изменены	норма
10.5	S	изменены	норма
10.6	T	изменены	изменены
10.7	интервалы		
10.8	PQ	изменены	норма
10.9	QRS	изменены	норма
10.10	QT	изменены	норма
10.11	фрагмент ST	изменены	изменен
11.1	Физиологическая активность анализаторов		
11.2	зрительного	изменена	норма
11.3	слухового	изменена	норма
11.4	тактильного	изменена	норма
11.5	вестибулярного	изменена	изменена
11.6	вкусового	изменена	изменена

№№ пп	Послеоперационный период (в часах)	
	24	48
1		
1.1	норма	норма
1.2	норма	норма
1.3	норма	норма
2		
2.1	изменена	норма
2.2	норма	норма
2.3	изменено	норма
3	изменена	норма
4	изменена	норма
5	изменена	норма
6	норма	норма
7	изменена	норма
8	изменен	норма
9		
9.1	*	*
9.2	*	нет
9.3	*	*
9.4	нет	нет
9.5	*	нет
9.6	*	нет
9.7	нет	нет
9.8	нет	нет
9.9		
9.10	нет	нет
9.11	нет	нет
9.12	нет	нет
10		
10.1		
10.2	норма	норма
10.3	норма	норма
10.4	норма	норма
10.5	норма	норма
10.6	изменены	норма
10.7		
10.8	норма	норма
10.9	норма	норма
10.10	норма	норма
10.11	изменен	норма
11.1		

11.2	норма	норма
11.3	норма	норма
11.4	норма	норма
11.5	норма	норма
11.6	норма	норма

Условные обозначения:

\* – данные не достоверны ( $p > 0,05$ ).

\*\* – данные достоверны ( $p < 0,05$ ).