

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61L 33/00 (2019.08); A61L 27/00 (2019.08)

(21)(22) Заявка: 2019131332, 04.10.2019

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
04.10.2019Дата регистрации:
14.02.2020

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 04.10.2019

(45) Опубликовано: 14.02.2020 Бюл. № 5

Адрес для переписки:

119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2,
ФРАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М.
Сеченова, технопарк

(72) Автор(ы):

Паршин Владимир Дмитриевич (RU),
Людуп Алексей Валерьевич (RU),
Крашенинников Михаил Евгеньевич (RU),
Барановский Денис Станиславович (RU),
Лебедев Георгий Владиславович (RU),
Клабуков Илья Дмитриевич (RU),
Балясин Максим Витальевич (RU),
Демченко Анна Гасымовна (RU),
Берсенева Дарья Артемовна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования Первый Московский
государственный медицинский университет
имени И.М. Сеченова Министерства
здравоохранения Российской Федерации
(Сеченовский Университет) (ФГАОУ ВО
Первый МГМУ им. И.М. Сеченова
Минздрава России (Сеченовский
Университет) (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: S.R. Meyer et al. Decellularization
reduces the immune response to aortic valve
allografts in the rat / The Journal of Thoracic and
Cardiovascular Surgery, 2005, vol. 130, N 2, pages
469-476. T.W. Gilbert et al. Decellularization of
tissues and organs / Biomaterials, 2006, 27, pages
3675-3683. О.И.Агапова. Сканирующая
зондовая нанотомография для (см. прод.)

(54) СПОСОБ УСКОРЕННОЙ ДЕЦЕЛЛЮЛЯРИЗАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ТКАНИ ИЛИ ОРГАНА

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биологии и медицины, в частности к области регенеративной медицины и тканевой инженерии, и может быть использовано для экспрессного получения экстрацеллюлярных матриксов органов и тканей, применяемых в реконструктивной хирургии для замены и протезирования объема пораженных

органов и тканей. Способ децеллюляризации биологической ткани или органа включает удаление клеточных элементов путем промывки биологической ткани или органа раствором, содержащим трис(гидроксиметил)аминометан, натрия хлорид, додецилсульфат натрия, дезоксихолат натрия, тритон X-100, и

деионизированную воду при следующем содержании компонентов, мас. %: трис (гидроксиметил)аминометан 1,7-4,1, натрия хлорид 4,62-11,62, додецилсульфат натрия 0,08-

0,16, дезоксихолат натрия 0,25-0,65, тритон X-100 0,65-1,25, деионизированная вода до 100. 1 з.п. ф-лы, 3 ил., 1 табл., 2 пр.

(56) (продолжение):

исследования 3D структуры матриц для тканевой инженерии и регенеративной медицины / Автореферат на соиск. уч. ст. к.б.н., Москва. 2015. RU 2653489 C2, 08.05.2018.

R U 2 7 1 4 3 2 7 C 1

R U 2 7 1 4 3 2 7 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

A61L 33/00 (2019.08); A61L 27/00 (2019.08)(21)(22) Application: **2019131332, 04.10.2019**(24) Effective date for property rights:
04.10.2019Registration date:
14.02.2020

Priority:

(22) Date of filing: **04.10.2019**(45) Date of publication: **14.02.2020** Bull. № 5

Mail address:

119991, Moskva, ul. Trubetskaya, 8, str. 2, FGAOU
VO Pervyj MG MU im. I.M. Sechenova,
tekhnopark

(72) Inventor(s):

Parshin Vladimir Dmitrievich (RU),
Lyundup Aleksej Valerevich (RU),
Krashennnikov Mikhail Evgenevich (RU),
Baranovskij Denis Stanislavovich (RU),
Lebedev Georgij Vladislavovich (RU),
Klabukov Ilya Dmitrievich (RU),
Balyasin Maksim Vitalevich (RU),
Demchenko Anna Gasymovna (RU),
Berseneva Darya Artemovna (RU)

(73) Proprietor(s):

federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya Pervyj Moskovskij
gosudarstvennyj meditsinskij universitet imeni
I.M. Sechenova Ministerstva zdravookhraneniya
Rossijskoj Federatsii (Sechenovskij Universitet)
(FGAOU VO Pervyj MG MU im. I.M. Sechenova
Minzdrava Rossii (Sechenovskij Universitet)
(RU)**(54) METHOD FOR ACCELERATED DECELLULARIZATION OF BIOLOGICAL TISSUE OR ORGAN**

(57) Abstract:

FIELD: medicine; biology.

SUBSTANCE: invention refers to biology and medicine, particularly to regenerative medicine and tissue engineering, and can be used for rapid production of extracellular matrixes of organs and tissues used in reconstructive surgery for replacement and prosthetics of the involved organs and tissues. Method for decellularization of biological tissue or organ involves removing cell elements by washing biological tissue or organ with a solution containing tris(hydroxymethyl)

aminomethane, sodium chloride, sodium dodecyl sulphate, sodium deoxycholate, triton X-100, and deionized water with the following content of components, wt%: tris(hydroxymethyl)aminomethane 1.7–4.1, sodium chloride 4.62–11.62, sodium dodecyl sulphate 0.08–0.16, sodium deoxycholate 0.25–0.65, triton X-100 0.65–1.25, deionized water up to 100.

EFFECT: disclosed is a method for decelerularisation of biological tissue.

1 cl, 3 dwg, 1 tbl, 2 ex

Область техники

Изобретение относится к области биологии и медицины, в частности, области регенеративной медицины и тканевой инженерии, и может быть использовано для экспрессного получения экстрацеллюлярных матриксов органов и тканей, применяемых в реконструктивной хирургии для замены и протезирования объема пораженных органов и тканей.

Уровень техники

Экстрацеллюлярный матрикс используется в тканевой инженерии органов и тканей в качестве клеточного носителя, для образования искусственной клеточной ниши.

Экстрацеллюлярный матрикс представляет собой основу соединительной ткани и может быть получен способом децеллюляризации. Проблема получения децеллюляризованного экстрацеллюлярного матрикса связана со сложностью подбора подходящих методов и времени экспозиции, которые сохраняют механические и биологические свойства матрикса, и при этом приведут к деградации донорских клеток и остатков химических детергентов, которые применяли в процессе децеллюляризации. Известные способы децеллюляризации предполагают последовательную многоэтапную обработку растворами детергентов и/или ферментов [Zhou P., et al. (2016). Decellularization and recellularization of rat livers with hepatocytes and endothelial progenitor cells. Artificial organs, 40(3), E25-E38; Mazza G., et al. (2015). Decellularized human liver as a natural 3D-scaffold for liver bioengineering and transplantation. Scientific reports, 5, 13079; Maghsoudlou P., et al. (2013). A decellularization methodology for the production of a natural acellular intestinal matrix. Journal of Visualized Experiments, (80), e50658] и различаются по длительности воздействия и концентрациям реагентов, в качестве которых используют такие растворы, как додецилсульфат натрия, Тритон X-100, дезоксихолат натрия, гипертонический раствор NaCl с концентрацией более 0,9%. Как правило, обрабатываемую ткань в процессе децеллюляризации помещают в емкость с реагентом, при этом реагент постоянно перемешивают в течение достаточно длительного времени.

Известен способ децеллюляризации пищевода экспериментальных животных для создания биоинженерной конструкции [Патент на изобретение RU 2662554], заключающийся в децеллюляризации детергентами и энзимами в следующей последовательности: деионизированной водой в течение 1,5 ч, затем используют 4% раствор дезоксихолата натрия в комбинации с 0,002 М Na-EDTA в течение 70 мин, фосфатный буфер - в течение 15 мин, свиную панкреатическую ДНКазу-I 2000 ЕД/200 мл фосфатного буфера с кальцием и магнием - 70 мин, завершают децеллюляризацию промывкой от децеллюляризирующих растворов и дезинфекцией матрикса в 10% растворе хлоргексидина биглюконата в фосфатном буфере со сменой раствора и направления перфузии каждые 5 ч.

Известен способ децеллюляризации сердца крысы [Патент на изобретение RU 2550286], который заключается в перфузии через аорту очищенной водой, фосфатно-буферным солевым раствором, детергентами и ферментами: растворами, содержащими 4% раствор дезоксихолата натрия в комбинации с 0,002М Na₂-EDTA, свиную панкреатическую ДНКазу-I 2000 ЕД/200 мл фосфатного буфера с кальцием и магнием и отмывку каркаса фосфатным буфером с добавлением 1% пенициллина-стрептомицина с общей продолжительностью 28 часов.

Известные способы децеллюляризации обладают недостатками, заключающимися в том, что подвергаемая децеллюляризации ткань находится в течение длительного времени в реакционной зоне, в которой не исключаются серьезные структурные повреждения экстрацеллюлярного матрикса, а клеточные элементы не удаляются

полностью.

За ближайший аналог принят «Способ получения децеллюляризованных матриксов паренхиматозных органов лабораторных животных» [Патент на изобретение RU 2653489], заключающийся в получении децеллюляризованных матриксов почек кролика или крыс с помощью метода детергентно-ферментативной децеллюляризации с использованием высокопроизводительной системы перфузии в течение 5 этапов, а именно: отмывание органов от резидуальной крови 1X PBS с гепарином в течение 1 часа; перфузию паренхимы почки кролика гипотоническим буфером состава 10 mM HEPES натриевая соль, 1 mM Mg₂SO₄·6H₂O, 0,4% KCL в течение 5-6 часов или почки крысы 1X Tris EDTA в 0,1 M PBS без кальция и магния; перфузию паренхимы органов раствором, содержащим ионные (0,25% додецилсульфат натрия SDS, 0,25% дезоксихолат натрия (SDC)) и неионные (Triton X-100 0,25% для почки кролика, 0,1% SDS, 0,1% SDC и 0,25% TNX для крысиной почки) детергенты в течение 24 часов; последовательную перфузию органов растворами детергентов в возрастающих концентрациях в течение 16 часов - для кроличьей почки 0,3% SDS, SD и TNX, 0,4%; 0,4% SDS, SD и TNX; для почки крысы - 0,25% SDS, SD и TNX; 0,3 SDS, SD и TNX с последующим отмыванием органов от следовых количеств детергента 1X PBS в течение 1,5 часов.

Недостатком известного способа является длительность процесса децеллюляризации, в связи с недостаточно высокой концентрацией детергентов, что может приводить к потере микроархитектоники экстрацеллюлярного матрикса.

Раскрытие изобретения

Технической проблемой, на решение которой направлено настоящее изобретения, является разработка способа ускоренной децеллюляризации различных органов и тканей, обеспечивающего при этом сохранение их целостности и ультраструктуры для последующей иммобилизации на децеллюляризованном матриксе клеток реципиента.

Техническим результатом изобретения является уменьшение времени децеллюляризации органов и тканей при сохранении их целостности и ультраструктуры.

Технический результат достигается за счет разработки способа децеллюляризации биологической ткани или органа, включающего удаление клеточных элементов путем промывки биологической ткани или органа раствором, содержащим трис (гидроксиметил)аминометан, натрия хлорид, додецилсульфат натрия, дезоксихолат натрия, Тритон X-100, и деионизированную воду при следующем содержании компонентов, масс. %:

Трис(гидроксиметил)аминометан	1,7-4,1
Натрия хлорид	4,62-11,62
Додецилсульфат натрия	0,08-0,16
Дезоксихолат натрия	0,25-0,65
Тритон X-100	0,65-1,25
Деионизированная вода	до 100

При этом биологическую ткань или орган выбирают из группы, состоящей из печени, кровеносного сосуда, трахеи, легкого, сердца, кишечника, желудка и желчного протока.

Заявляемый способ децеллюляризации отличается от аналогов комбинацией, концентрацией, последовательностью и длительностью применения децеллюляризирующих агентов.

Изобретение поясняется иллюстрациями, где на Фиг. 1 представлена фотография микроскопии гистологического препарата децеллюляризованного матрикса печени крысы породы «Вистар» (увеличение ×200, размерная шкала 50 μm); на Фиг. 2 - тканеинженерная конструкция, имплантированная кролику: (А) формирование

трахеального дефекта - резекция 5 колец в трахеальной стенке кролика; (Б) тканеинженерная конструкция, имплантированная в дефект трахеи; на Фиг. 3 - ткань трахеи кролика через 6 мес. после имплантации тканеинженерной конструкции, окраска гематоксилин-эозин. Обзорное изображение тканей трахеи с двух сторон относительно

5 разреза.

Осуществление изобретения

Предлагаемый способ осуществляют следующим образом.

Ткань или орган подготавливают к децеллюляризации следующим образом.

Свежеполученный резекционный материал предварительно отмывают от крови
10 перфузионным методом раствором Рингера с $0,2 \pm 0,2\%$ гепарина либо варфарина, либо изотоническим солевым раствором с $0,2 \pm 0,2\%$ гепарина либо варфарина либо $0,9\%$ раствором натрия хлорида для инъекций с $0,2 \pm 0,2\%$ гепарина либо варфарина при температуре $35 \pm 10^\circ\text{C}$ со скоростью 40 ± 20 мл/мин в течение 20 ± 5 мин, и далее отмывают фосфатным буфером (PBS) с $\text{pH } 7,2 \pm 1,5$ либо изотоническим солевым раствором, либо
15 $0,9\%$ раствором NaCl для инъекций при температуре $35 \pm 5^\circ\text{C}$ со скоростью 40 ± 20 мл/мин в течение 10 ± 5 мин.

Способ децеллюляризации ткани или органа в соответствии с настоящим изобретением состоит в следующем. Биологическую ткань или орган обрабатывают раствором $1,7\text{--}4,1\%$ гидроксиметиламинометана (Tris), $4,62\text{--}11,62\%$ натрия хлорида
20 (NaCl), $0,08\text{--}0,16\%$ додецилсульфата натрия (SDS), $0,25\text{--}0,65\%$ дезоксихолата натрия (SDC), $0,65\text{--}1,25\%$ Тритон X-100 в деионизованной воде не менее 15 мин. Додецилсульфат натрия (SDS), дезоксихолат натрия (SDC) - анионактивные поверхностно-активные вещества, применяются для солюбилизации белков клеточных мембран и лизиса клеток с последующим вымыванием клеточного материала из матрикса. Трис (англ. Tris) -
25 буферный компонент, позволяющий удерживать pH в течение процедуры на биологическом уровне. Хлорид натрия (NaCl) - соль соляной кислоты, служит для поддержания ионной силы в течение процедуры на заданном уровне. Тритон X-100 (англ. Triton X-100) - неионогенное поверхностно-активное вещество, используется для связывания с клеточными мембранами и их разрушения, а также лизиса клеток с
30 последующим вымыванием клеточного материала из матрикса. Данная комбинация агентов позволяет эффективно и быстро удалять клеточный материал, почти не затрагивая экстрацеллюлярный матрикс за счет малого времени взаимодействия и постоянно поддерживаемом pH, позволяющем белку находиться в единой ионной форме в течение всей процедуры и постоянно поддерживаемой ионной силе, за счет
35 чего связывание детергентов и белков затрудняется. Данный способ позволяет удалить ускоренно клеточные компоненты из органа или ткани.

В практике настоящего изобретения могут быть использованы дальнейшие манипуляции, улучшающие другие качества продукта кроме удаления клеточного компонента, например, перфузия фосфатным буфером (PBS) с $\text{pH } 7,2 \pm 1,5$ либо
40 изотоническим солевым раствором, либо $0,9\%$ раствором NaCl для инъекций при температуре $35 \pm 5^\circ\text{C}$ со скоростью 40 ± 20 мл/мин в течение 10 ± 5 мин или проведение промывки раствором PBS с антибиотика-антимикотика в концентрации 10X (Gibco, Cat No 15240062, США) при 4°C , скорости потока 40 ± 20 мл/мин в течение 15 ± 5 минут.

Ниже представлены примеры осуществления предлагаемого способа, где в качестве
45 децеллюляризованного органа использовали печень крысы.

Пример 1. Проведение децеллюляризации органов и тканей.

Животное (крысы породы "Вистар") усыпляли раствором ксилазина и производили вскрытие. Все растворы, использовавшиеся в работе, были простерилизованы методом

фильтрации через фильтр 0,22 мкм. Орган осторожно извлекали из брюшной полости не повреждая капсулу. Децеллюляризацию проводили при помощи системы, составленной из перистальтического насоса (MasterFlex L/S, США), резервуара с раствором для перфузии, силиконовых трубок 18-26 диаметра (MasterFlex, США) и переходника с резьбой на катетер. Катетер вводили в нижнюю полую вену, после чего соединяли с перистальтическим насосом и проводили отмывку органа растворами, заполненными в резервуар системы для децеллюляризации, следующим способом.

1. Проводили перфузию печени для отмывки от остаточной крови изотоническим солевым раствором с 0,2% гепарина при температуре 35°C со скоростью 40 мл/мин в течение 20 мин.

2. Проводили отмывку от гепарина при перфузии фосфатным буфером с pH 7.2 при температуре 35°C со скоростью 40 мл/мин в течение 10 мин.

3. Децеллюляризацию проводили раствором, содержащим 2.9% Трис, 8.12% натрия хлорида, 0,12% додецилсульфата натрия, 0,45% дезоксихолата натрия, 0,95% Тритон X-100 при температуре 37°C и скорости потока 40 мл/мин, в течение 15 минут.

4. Отмывку от детергентов производили при помощи раствора фосфатного буфера при температуре 37°C, скорости потока 40 мл/мин в течение 5 минут.

5. Дополнительно проводили промывку раствором PBS с антибиотиком-антимикотиком в концентрации 10X (Gibco, Cat No 15240062, США) при 4°C, скорости потока 40 мл/мин в течение 10 минут для предотвращения бактериальной контаминации.

Качество полученного материала в виде децеллюляризованной печени крысы оценивали подсчетом ДНК и микроскопией гистологических препаратов. При гистологическом анализе срезы были окрашены по Массону, для визуализации коллагеновых волокон. В децеллюляризованном препарате не наблюдалось морфологически сохраненных клеток, ткань представлена преимущественно волокнистой структурой, образованной экстрацеллюлярным матриксом, и сосудами печени.

Остаточное дцДНК составило $21.9 \pm 2.4 \times 10^{-3}$ нг на 1 мкг образца, что свидетельствует о качественном удалении клеточного компонента с экстрацеллюлярного матрикса.

В результате проведенных исследований децеллюляризованных описанным способом органов можно сделать вывод о том, что предлагаемое изобретение обеспечивает достижение поставленной задачи, выражающейся в уменьшении времени децеллюляризации органов - общее время децеллюляризации составило 80 ± 35 минут, в то время как общее время децеллюляризации в прототипе составляет 47,5 часов, повышении качества децеллюляризации органов, сохранении их целостности и ультраструктуры для последующей иммобилизации клеток реципиента.

Эффективность заявляемого способа проверена в серии из 7 последовательных экспериментов, достигнув при этом воспроизводимые результаты.

Ниже в таблице приведены результаты децеллюляризации тканей и органов в течение 1 часа при их обработке различными растворами. Таблица 1 демонстрирует, что настоящее изобретение позволяет получать децеллюляризованные органы и ткани при обработке растворами 1-3 в течение 1 часа, что не достигается раствором сравнения, состав которого был взят из патента RU 2653489.

Таблица 1. Результаты децеллюляризации тканей и органов при обработке различными растворами в течение 1 часа.

Орган	Раствор 1 (масс.%)	Раствор 2 (масс.%)	Раствор 3 (масс.%)	Раствор по аналогичному способу- прототипу (масс.%)	Остаточная ДНК, нг/мкг
Трахея кролика	Tris 1.7% NaCl 4.62% SDS 0,08% SDC 0,25% Тритон X-100 0,65%				$8.6 \pm 1.1 \times 10^{-3}$
Трахея кролика		Tris 2.90% NaCl 8.12% SDS 0,12% SDC 0,45% Тритон X-100 0,95%			$6.9 \pm 0,8 \times 10^{-3}$
Трахея кролика			Tris 4.1% NaCl 11.62% SDS 0,16%		$6.4 \pm 0,7 \times 10^{-3}$

			SDC 0,65% Тритон X-100 1.25%		
5	Трахея кролика			SDS 0,25% SDC 0,25% Тритон X-100 0,25%	$29.4 \pm 2.2 \times 10^{-3}$
10	Печень крысы	Tris 1.7% NaCl 4.62% SDS 0,08% SDC 0,25% Тритон X-100 0,65%			$26.4 \pm 3.1 \times 10^{-3}$
15	Печень крысы		Tris 2.90% NaCl 8.12% SDS 0,12% SDC 0,45% Тритон X-100 0,95%		$21.9 \pm 2.4 \times 10^{-3}$
20	Печень крысы			Tris 4.1% NaCl 11.62% SDS 0,16% SDC 0,65% Тритон X-100 1.25%	$16.4 \pm 0.7 \times 10^{-3}$
25	Печень крысы			SDS 0,25% SDC 0,25% Тритон X-100 0,25%	$94.7 \pm 8.8 \times 10^{-3}$
30	Артерия крысы	Tris 1.7% NaCl 4.62% SDS 0,08% SDC 0,25% Тритон X-100 0,65%			$5.4 \pm 0.9 \times 10^{-3}$
35	Артерия крысы		Tris 2.90% NaCl 8.12% SDS 0,12% SDC 0,45% Тритон X-100 0,95%		$5.2 \pm 0.8 \times 10^{-3}$
40	Артерия крысы			Tris 4.1% NaCl 11.62% SDS 0,16% SDC 0,65% Тритон X-100 1.25%	$4.6 \pm 0.8 \times 10^{-3}$
45	Артерия			SDS 0,25%	$36.8 \pm 2.2 \times 10^{-3}$

крысы				SDC 0,25% Тритон X-100 0,25%	
-------	--	--	--	------------------------------------	--

Предлагаемый способ применим для децеллюляризации органов и тканей с хорошим кровоснабжением вследствие высокого значения плотности распределения сосудов, протоков или интерстициальных каналов в ткани или органе (печень, почка, большой сальник, легкие), что делает возможным равномерное воздействие децеллюляризирующим раствором по объему, обеспечивая тем самым полноценную децеллюляризацию ткани или органа. Помимо целых органов, в качестве резекционного материала могут использоваться участки ткани с высокой степенью васкуляризации, например, сердечный перикард и проксимальные сегменты трахеи.

Были проведены эксперименты по децеллюляризации таких органов, как печень крысы, трахея кролика, артерия крысы, в которых удалось сократить время децеллюляризации до 70 минут.

Также проводились эксперименты с желчным протоком человека. За счет морфологического сходства предлагаемый способ можно распространить не только на биологические ткани или органы лабораторного животного, но и биологические ткани или органы человека.

Полученные с использованием предлагаемого способа децеллюляризованные органы и ткани могут использоваться в тканевой инженерии для создания аутологичных трансплантатов, для замены или протезирования пораженных органов и тканей.

Пример 2. Использование децеллюляризованных органов в качестве компонента тканеинженерной конструкции в эксперименте на кроликах.

Децеллюляризованные трахеи кроликов (n=3), полученные предлагаемым способом, были использованы для создания тканеинженерных конструкций трахеи и имплантированы кроликам в ортотопическую позицию. При создании тканеинженерной конструкции децеллюляризованные трахеи кроликов в стерильных условиях были заселены назальными хондроцитами, которые культивировали на матриксе в СО₂-инкубаторе в течение 1 недели в полной питательной среде, состоящей из DMEM/F12 (Invitrogen, США), содержащей 10% FBS (Invitrogen, США), 0,4 мкМ инсулина, 20 нг/мл bFGF, 10 нМ дексаметазона, 100 ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина (Invitrogen, США). Клетки высевали в количестве 10⁶ кл/мл.

Кроликам в условиях операции удаляли фрагмент трахеи и в область дефекта устанавливали тканеинженерную конструкцию (Фиг. 2). За кроликами осуществляли наблюдение, а в дальнейшем выполняли гистологическое исследование аутопсийного материала (Фиг. 3).

Децеллюляризованный материал, полученный из трахеи кролика путем ускоренного способа обработки раствором, состоящим из (масс. %) 1,7-4,1% гидроксиметиламинометана (Tris), 4,62-11,62% натрия хлорида (NaCl), 0,08-0,16% додецилсульфата натрия (SDS), 0,25-0,65% дезоксихолата натрия (SDC), 0,65-1,25% Тритон X-100, в деионизованной воде - был пригоден для создания тканеинженерной конструкции трахеи и выполнял после имплантации кролику биологическую функцию в течение длительного периода наблюдения (6 месяцев наблюдения).

(57) Формула изобретения

1. Способ децеллюляризации биологической ткани или органа, отличающийся тем, что включает удаление клеточных элементов путем промывки биологической ткани

или органа раствором, содержащим трис(гидроксиметил)аминометан, натрия хлорид, додецилсульфат натрия, дезоксихолат натрия, Тритон Х-100, и деионизированную воду при следующем содержании компонентов, мас. %:

5	Трис(гидроксиметил)аминометан	1,7-4,1
	Натрия хлорид	4,62-11,62
	Додецилсульфат натрия	0,08-0,16
	Дезоксихолат натрия	0,25-0,65
	Тритон Х-100	0,65-1,25
	Деионизированная вода	до 100

- 10 2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что биологическую ткань или орган выбирают из группы, состоящей из печени, кровеносного сосуда, трахеи, легкого, сердца, кишечника, желудка и желчного протока.

15

20

25

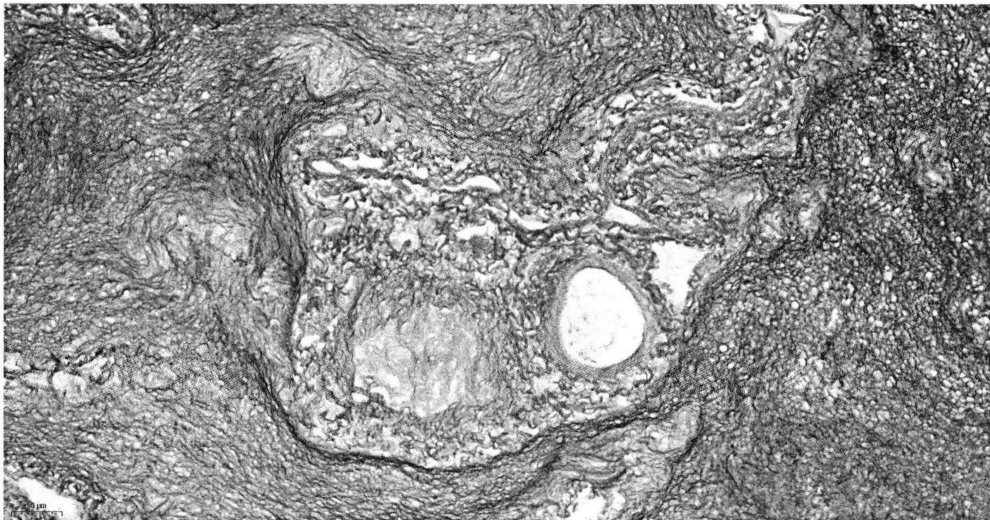
30

35

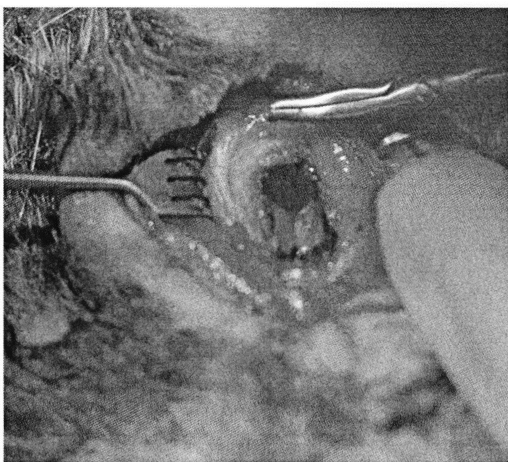
40

45

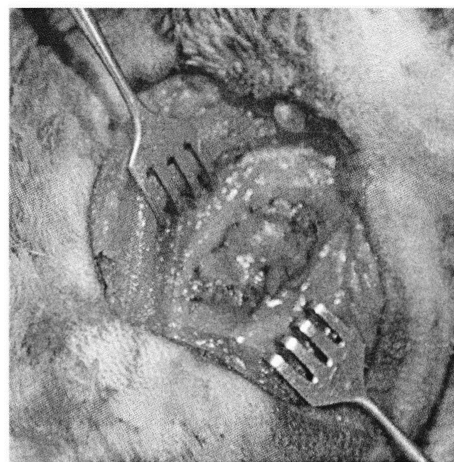
1



Фиг.1



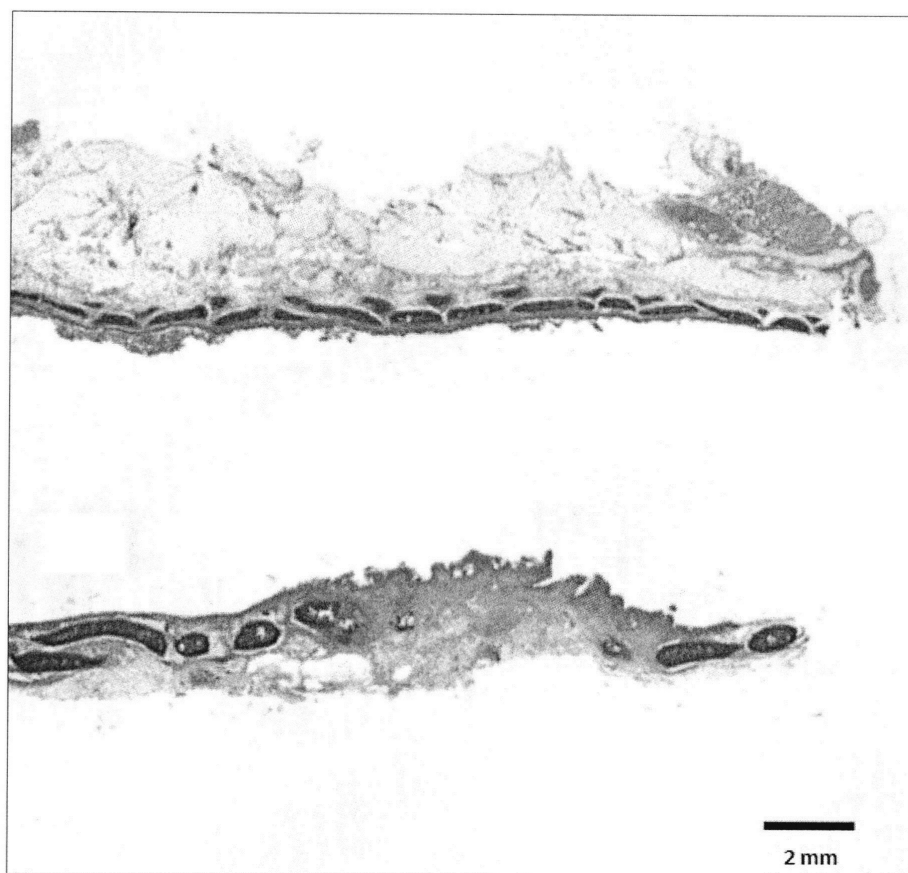
А



Б

Фиг.2

2



Фиг.3