



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **79918** (13) **U**  
(51) МПК (2013.01)  
**A61M 1/00**

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки:	<b>u 2012 11528</b>	(72) Винахідник(и):	<b>Таланов Сергій Олександрович (UA), Паталах Ірина Іванівна (UA), Сагач Вадим Федорович (UA)</b>
(22) Дата подання заявки:	<b>05.10.2012</b>	(73) Власник(и):	<b>ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ НАНУ, вул. Богомольця, 4, м. Київ-24, 01024 (UA)</b>
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель:	<b>13.05.2013</b>		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	<b>13.05.2013, Бюл.№ 9</b>		

## (54) ПРИСТРІЙ ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ ІЗОЛЬОВАНИХ ФРАГМЕНТІВ СУДИН У ДОСЛІДЖЕННЯХ ФУНКЦІЙ АКТИВОВАНОГО ЕНДОТЕЛІУ

### (57) Реферат:

Пристрій для застосування ізольованих фрагментів судин у дослідженнях функцій активованого ендотелію містить контейнер із перфузатом, розміщений у водяній бані та з'єднаний через систему еластичних трубок з перистальтичним насосом та ізольованим фрагментом судини. Він додатково містить непроточну захисну силіконову муфту, в яку вставляється нативний фрагмент судини, одягнутий на пластикові штуцери для фіксації кінців фрагмента та для з'єднання його з циркуляторним руслом для забезпечення прямої перфузії, крім того в ньому використовують гумові втулки та металеві затискачі для герметичного закріплення силіконової муфти на зовнішніх кінцях штуцерів, контейнер із перфузатом з'єднується з фрагментом судини через вихідний штуцер короткою проміжною з'єднувальною трубкою, утворюючи з ним єдиний блок.

UA 79918 U

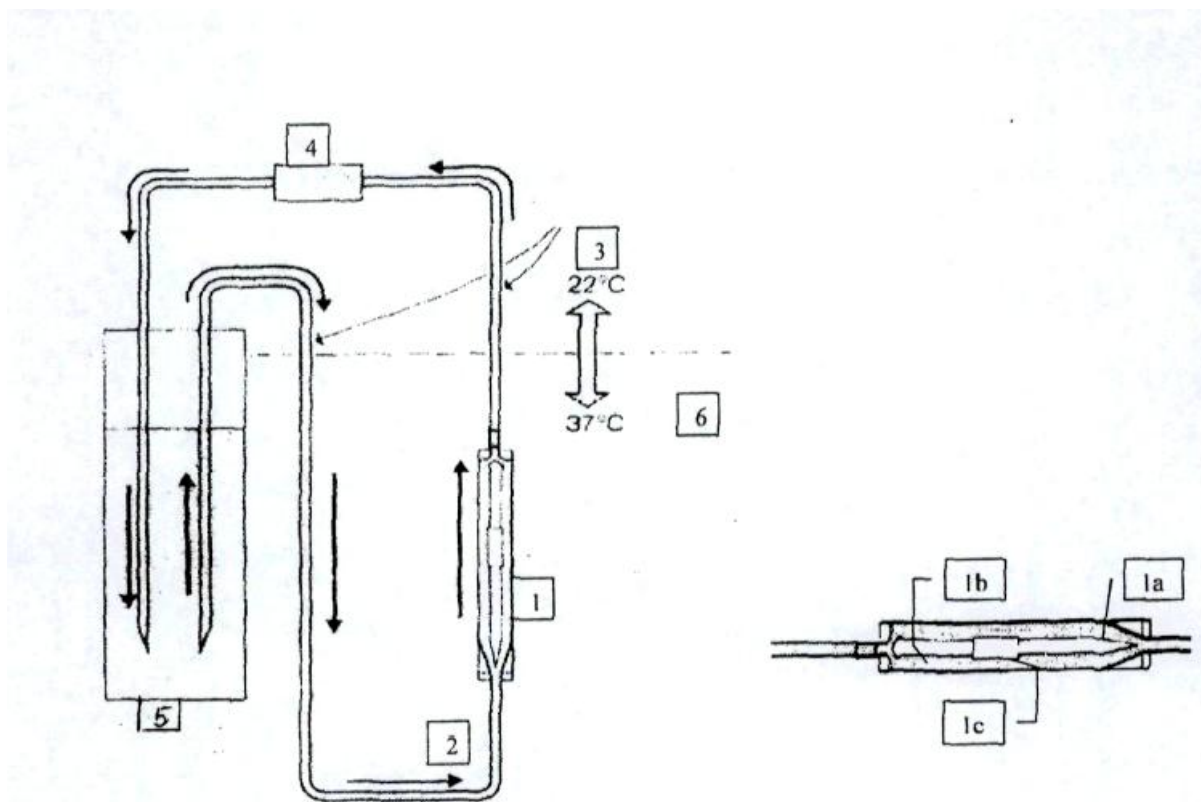


Fig. 1.

Корисна модель, що заявляється, належить до галузі експериментальної медицини та лабораторної техніки і може бути застосована для медико-біологічних досліджень участі ендотелію у фізіології кровообігу, загальній біохімії крові та системи гемостазу, а також у патологічних порушеннях кооперативності взаємодій клітинної й плазмової складових процесу

тромбоутворення чи тромболізису.

Згідно з сучасною науковою парадигмою патогенез тромбоутворення тісно пов'язаний із розвитком запалення в судинному руслі. Патогенез атеросклерозу також базується на уявленнях про запалення як основну етіологічну подію, яка провокує його виникнення та розвиток [1]. Поштовхом до ініціації запалення є активація ендотелію, що ініціює локальну адгезію лейкоцитів, тромбоцитів та ліпопротеїнів низької щільності (ЛНЩ), які прикріплюються до ендотелію в зоні пошкодження [2]. Активовані ендотеліоцити змінюють свій фенотип, втрачаючи захисні функції, та починають продукувати прозапальні молекули, інгібітори та активатори гемостазу, складні мультикомпонентні білкові комплекси тощо [3, 4]. Отже, активований ендотелій є необхідним чинником розвитку процесу запалення, а також регуляції обох ланок гемостазу, клітинної й гуморальної. Окрім коагуляції та запалення, ендотеліоцити залучаються до виконання таких важливих функцій як регуляція тонусу судин, проникність судинної стінки та ангіогенез [5].

Необхідність вивчення цих функцій потребує розробки приладів для дозованої активації клітин на локальній ділянці внутрішньої поверхні судини та контролю стану нативного ендотелію за тюрми або за патологічних змін.

Найбільш близьким до пристрою, що заявляється, є пристрій [1], що являє собою систему замкненої перфузії (фіг. 1), яка складається з основного блока - герметичної перфузійної камери 1, де розміщено інвертований фрагмент судини 1с, та допоміжних елементів - з'єднувальних силіконових трубок 2 і 3, перистальтичного насоса 4, відкритого контейнеру з перфузатом 5 та водяної бані 6. Перфузійна камера 1 складається з зовнішнього циліндру 1а та центрального стержня 1b завдовжки 75 мм і діаметром 3,5 мм. Камера 1 послідовно з'єднується вхідною трубкою 2 та вихідною трубкою 3 з контейнером 5, в якому знаходиться перфузат (кров з антикоагулянтами або суспензія відмитих клітин крові), вихідна трубка 3 з'єднана також з перистальтичним насосом 4, який забезпечує циркуляцію перфузату. Перфузат подається через вхідний порт 1d через чотири отвори в дископодібній основі стержня і тече між зовнішньою стінкою циліндра і поверхню стержню, омиваючи надягнутий на стержень інвертований фрагмент судини 1с. Фізіологічну температуру (37 °C) підтримує водяна баня 6, в яку занурюються контейнер 5 та перфузійна камера 1. Об'єм перфузату для рециркуляції складає приблизно 20 мл. Умови, які забезпечує даний тип камери, дозволяють працювати у фізіологічному діапазоні тисків і температур.

Недоліком даного пристрою є його придатність виключно для інкубації інвертованих фрагментів судини, що досягається шляхом перфузії камери, в якій знаходиться стержень із зафіксованим на ньому фрагментом судини. Даний пристрій не може бути використаний для експериментів на ендотелії, який у неушкодженному вигляді повинен зберігатися на внутрішній поверхні судинної стінки. Ще одним недоліком пристрою є занадто великий робочий об'єм, що обмежує можливості використання високоартісних тест-систем та реагентів (зокрема, високоочищених білків крові).

В основу корисної моделі поставлена задача розробки пристрою для застосування ізольованих фрагментів судин у моделюванні процесів, локалізованих на ендотеліальній поверхні судинної стінки, шляхом прямої перфузії ізольованого фрагмента судини зі збереженням нативним ендотелієм, придатним до активації прозапальними агентами.

Технічним результатом корисної моделі є можливість відтворювати механізм фізіологічної активації ендотелію для моделювання процесів запалення, тромбоутворення і тромболізису в судинному руслі.

Поставлена задача вирішується тим, що пристрій, який заявляється (фіг. 2), на відміну від пристрою-прототипу дозволяє здійснювати пряму перфузію ізольованого фрагмента судини зі збереженням ендотелієм, що дозволяє вивчати контакти ендотелію, з одного боку, з агентами, що циркулюють у перфузаті, а з другого - з компонентами інтими та медії судинної стінки; пристрій забезпечує збереження структури і функцій ендотелію за рахунок захисту ізольованого фрагмента спеціальною муфтою, а також за рахунок застосування герметичного контейнера, який забезпечує можливість активації клітин ендотелію та наступну реєстрацію клітинної відповіді без втручання в судинний простір; зменшення загального робочого об'єму системи циркуляції дозволяє підвищити чутливість методів реєстрації, а також здійснювати стимуляцію ендотелію низькими (фізіологічними) концентраціями біохімічних прозапальних агентів, що значно здешевлює модельну систему та наближує її умови до фізіологічних.

Пристрій, що заявляється, (фіг. 2) складається з наступних елементів.

Герметичний вхідний контейнер 1, який має об'єм 1,5 мл (що складає приблизно половину робочого об'єму системи), призначений для заповнення системи перфузатом, для внесення індукторів запалення, активаторів чи інгібіторів зсідання крові та інших гуморальних факторів, а також для відбору проб. В прозору силіконову муфту 2 з внутрішнім діаметром 5 мм розміщують нативний фрагмент судини 3. На відміну від прототипу розчин Кребса вводять в замкнений об'єм муфти 2, де він не циркулює, а лише змочує зовнішню поверхню фрагмента судини та підтримує гомеостатичні умови його інкубації. Досягають герметичності захисної силіконової муфти 2 шляхом її закріплення металевими затискачами на гумових втулках 4 з зовнішнім діаметром 0,5 мм. Для з'єднання фрагмента 3 судини з системою циркуляції застосовують жорсткі конічні пластикові штуцери 5. Герметичний контейнер із перфузатом з'єднується з фрагментом судини через вихідний штуцер короткою проміжною з'єднувальною трубкою 6, утворюючи з ним єдиний блок. Основна трубка 7, приєднуючись до блока судини в муфті та контейнера вхідним кінцем 8 та вихідним кінцем 9, забезпечує замкнуту циркуляцію. Отже, перфузат циркулює у системі з двох трубок 6 і 7 загальною довжиною 750 мм із внутрішнім діаметром 1,5 мм та фрагмента судини 3 довжиною 30 мм. Циркуляцію перфузату в системі забезпечують за допомогою перистальтичного насосу 10. Конструкція пристрою передбачає використання багатоканального перистальтичного насосу, що дозволяє одночасно працювати з 2-3 фрагментами судин, що, в свою чергу, дає змогу стандартизувати умови для контрольних і дослідних варіантів. Даний пристрій дозволяє регулювати швидкість потоку та вивчати вплив реологічних факторів на досліджувані показники. Муфту 2 з фрагментом судини 3 і контейнером 1 розміщують у водяній бані 11, в якій підтримують фізіологічну температуру ( $t=37^{\circ}\text{C}$ ).

Робота пристрою полягає в наступному.

На пластикові штуцери 5 обережно надягають судину 3. З іншого кінця на штуцери на відстані 5 мм від кінців судини надягають гумові втулки 4 та фіксують на них муфту 2 після надягання її на судину. Фрагмент судини розміщують в силіконовій муфті 2, попередньо надягнутій на вхідний кінець 8 основної з'єднувальної трубки 7. Фрагмент судини орієнтують, враховуючи проксимальний та дистальний кінці, так, щоб відтворити фізіологічний напрямок току рідини. Ізольований у муфті фрагмент судини через зовнішні кінці штуцерів приєднують до проміжної трубки 6 та через контейнер 1 до вихідного кінця 9 основної з'єднувальної трубки 7, та розміщують блок із судини в муфті та контейнера в водяній бані 11. Подібним чином готують ще один, контрольний, фрагмент судин.

Підключають основну трубку 8 обох фрагментів судин до багатоканального перистальтичного насосу 10. Третій канал насоса використовують для холостої проби (замість судини використовують фрагмент трубки подібного діаметра та довжини).

За допомогою перистальтичного насосу 10 через контейнер 1 у систему циркуляції кожного фрагмента та в канал без фрагмента вносять 2,6-2,8 мл (що дорівнює робочому об'ємові даної перфузійної системи) дослідної (або робочої) рідини. Заповнюючи кожну систему циркуляції, слідкують, щоб з неї було повністю витиснене повітря. Після заповнення контейнер 1 кожної системи герметично закривають. Вмикають перистальтичний насос та встановлюють робочу швидкість потоку.

Пристрій, що заявляється, дозволяє зберігати функціональну активність ендотелію судинної стінки протягом не менш, ніж 3 години. Дана конструкція забезпечує оптимальне співвідношення між площею внутрішньої поверхні судинного фрагмента та робочим об'ємом рідини в камері, що дозволяє реєструвати динаміку накопичення у розчині ендотеліальних факторів у відповідь на дію прозапальних індукторів.

За допомогою заявленого пристрою можна відтворювати механізм фізіологічної активації ендотелію для моделювання процесів запалення, тромбоутворення і тромболілізу в судинному руслі.

Джерела інформації:

1. Fazel S., Weisel R. D., Verma S. A novel technique to assess flow-mediated vasodilation.//J. Am. Coll. Cardiol., 2004; 44:1478-1480.

2. Semeraro N., Colucci M. Changes in the coagulation-fibrinolysis balance of endothelial cells and mononuclear phagocytes: role in disseminated intravascular coagulation associated with infectious diseases //Intern. J. Clin. & Lab. Research.-Vol. 21, N2-4.-P.214-220.

3. Simoncini S, Njock MS, Robert S, Camoin-Jau L, Sampol J, Harle JR, et al. TRAIL/Apo2L mediates the release of procoagulant endothelial microparticles induced by thrombin in vitro: a potential mechanism linking inflammation and coagulation. Circ Res 2009; 104:943-951.

4. Sironi M, Breviario F, Proserpio P, Biondi A, Vecchi A, Van Damme J, Dejana E, Mantovani A. IL-1 stimulates IL-6 production in endothelial cells.// J. Immunol.-1989.-142(2). - P.549-53.

5. Ross, R. The smooth muscle cell. II. Growth of smooth muscle in culture and formation of elastic fibers. //J. Cell Biol.-1971.-50. - P. 172-186.

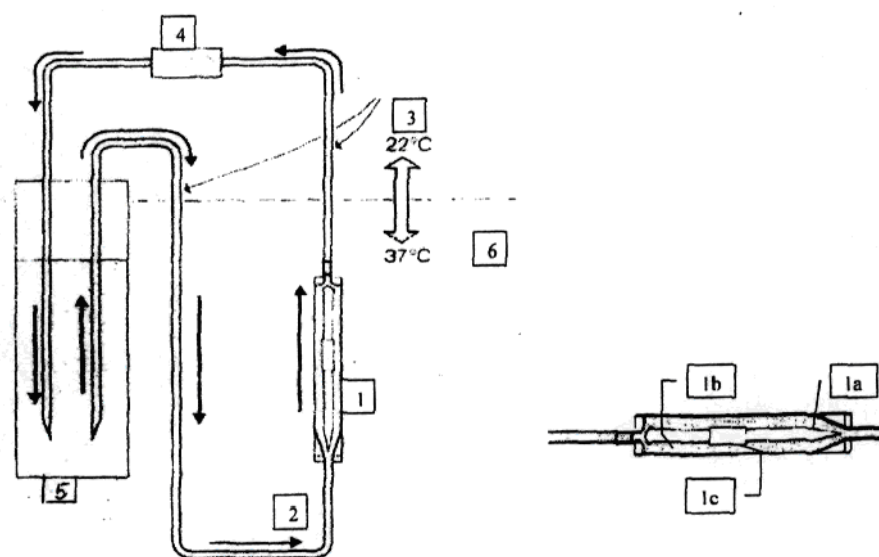
# ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5

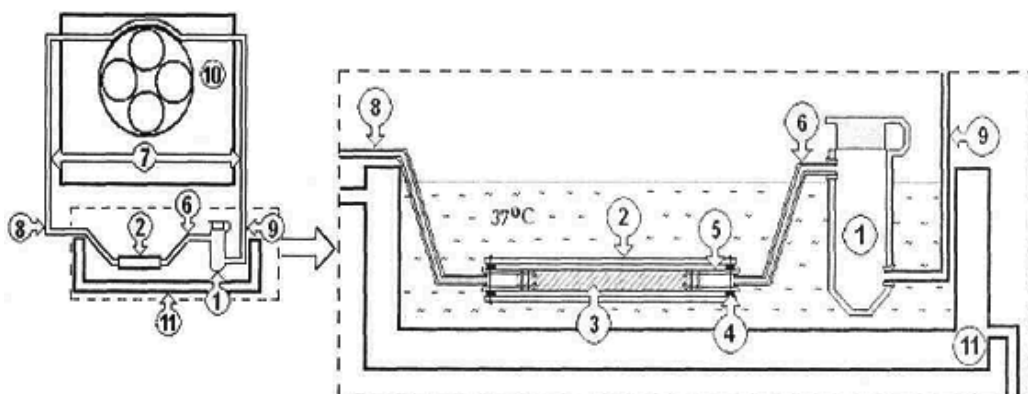
Пристрій для застосування ізолюваних фрагментів судин у дослідженнях функцій активованого ендотелію, що містить контейнер із перфузатом, розміщений у водяній бані та з'єднаний через систему еластичних трубок з перистальтичним насосом та ізолюваним фрагментом судини, який **відрізняється** тим, що він додатково містить непроточну захисну силіконову муфту, в яку вставляється нативний фрагмент судини, одягнутий на пластикові штуцери для фіксації кінців фрагмента та для з'єднання його з циркуляторним руслом для забезпечення прямої перфузії, крім того в ньому використовують гумові втулки та металеві затискачі для герметичного закріплення силіконової муфти на зовнішніх кінцях штуцерів, контейнер із перфузатом з'єднується з фрагментом судини через вихідний штуцер короткою проміжною з'єднувальною трубкою, утворюючи з ним єдиний блок, об'єм контейнера складає 1,5 мл, а об'єм перфузату в контейнері складає половину його об'єму в системі циркуляції.

10

15



Фиг.1



Фиг. 2

---

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601