

Винахід відноситься до медицини, а саме, до кардіології і фармакології і може знайти застосування як модель для розробки фармакологічних підходів до інгібіції атеросклерозу.

Як прототип обраний спосіб моделювання атеросклерозу (Anitschkow N.N. A history of experimentation on arterial atherosclerosis and edn. Springfield JI. CC Thomas, 1967, P.21-44), який полягає в створенні біологічної моделі на тваринах за допомогою годівлі тварин багатою ліпідами їжею.

Ознаками, що збігаються з основними ознаками винаходу, є: використання речовин, насичених ліпідами.

Причинами, що перешкоджають досягненню очікуваного технічного результату (створення умов для динамічного спостереження за процесами формування атеросклеротичних утворень), є: атерогенна дієта, яку використовують в експериментальних тваринах, створює умови для розвитку ліпоїдозу, але не атеросклерозу, який властивий для людини; цитологічну оцінку атеросклеротичних утворень неможливо проводити в динаміці, а також неможливо відтворити атеросклероз і ускладнення атеросклерозу, такі як атеронекроз, атеротромбоз.

В основу винаходу поставлена задача удосконалення способу моделювання атеросклерозу шляхом створення умов для культивування кліток атеросклеротичних утворень, що виступають у ролі ініціаторів атеросклерозу.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі моделювання атеросклерозу шляхом використання речовин, насичених ліпідами, відповідно до винаходу, виділяють фрагмент атеросклеротичних утворень у людини посмертно і поміщають на живильне середовище у вигляді щільної пластинки, що поміщають у термостат і інкубують при температурі 36°C-38°C протягом 28-30дб, відповідно до винаходу, живильне середовище готують шляхом змішування 100мг бичачого фібриногену, 20мл середовища 199, розчину пеніциліну натрієвої солі, з розрахунку 1млн Од на 10мл кінцевого розчину середовища, розчину стрептоміцину сульфату, 2,5ммоль розчини сечовини, 2,5ммоль розчину глюкози, після чого отримане середовище доводять до р 7,2 розчином натрію гідрокарбонату і виливають у чашку Петрі, в яку попередньо вносять розчин тромбіну.

Між сукупністю ознак способу, що заявляється, і технічним результатом, що може бути досягнутий, виявляється наступний причинно-наслідковий зв'язок: експлантація фрагменту атеросклеротичного утворення на живильне середовище, яке містить інградієнти, аналогічні тим, що входять до складу ліпідно-білкової стромі атеросклеротичних утворень - холестерин, фібрин, незамінні амінокислоти, дозволяє за рахунок подальшої проліферації клітин вихідного атеросклеротичного утворення та їхні міграції в живильне середовище продовжити розвиток атеросклеротичної тканини, а разом з цим у даній тканині спостерігають однорідну цитологічну картину, що дозволяє забезпечити стабільний перебіг атеросклерозу на стадії неускладненого перебігу атеросклерозу.

Запропонований спосіб виконують у такий спосіб.

З ліпідних атеросклеротичних утворень людини, виділених post mortem, формують маленький фрагмент розміром 1×1мм і поміщають на живильне середовище. Живильне середовище готують в такий спосіб: 100мг бичачого фібриногену, 20мг середовища 199, розчин пеніциліну натрієвої солі, з розрахунку 1млн Од на 10мл кінцевого розчину живильного середовища і розчин стрептоміцину сульфату з аналогічного розчину, 2,5ммоль розчину сечовини, 2,5ммоль розчину глюкози змішують між собою і доводять до р 7,2 розчином натрію гідрокарбонату.

Потім у чашку Петрі вносять розчин тромбіну, приготовлений з 20мг тромбіну, після чого до нього доливають живильне середовище. Середовище застигає й утворює щільну пластину.

На пластину експлантають тканину атеросклеротичного утворення. Потім пластину поміщають у термостат, де інкубують при t 37°C протягом 30дб. При підсиханні живильного середовища додавали кілька крапель стерильного 0,15M розчину натрію хлориду. Протягом даного часу макроскопічно спостерігають наступні зміни: спочатку фрагмент атеросклеротичного утворення занурюється в живильне середовище, потім протягом 5-7 днів настає розрідження живильного середовища, потім відбувається рефібриноутворення і поступове наростання розмірів атеросклеротичного утворення в 6-8 разів. Цитологічна картина тканини атеросклеротичного елемента, що утворилася, відповідає картині вихідного атеросклеротичного елемента, де присутні лімфоцити і піністі клітини, одиничні епітеліоїдні клітини.

Для відтворення загострення атеросклерозу in vitro роблять наступне:

сухий фрагмент ліпідного атеросклеротичного утворення, в якому містяться бурі вкраплення, поміщають у пробірку, у яку вносять середовище Ігла-МЕМ, розчини пеніциліну і стрептоміцину в концентрації 100 Од і 0,1м , відповідно, на 1мл кінцевого розчину середовища, а також вносять маленький фрагмент, ретельно відмитого в живильному середовищі з антибіотиками червоного кісткового мозку свині чи барана, виділеного з грудини чи ребра. Пробірку закупорюють. Поміщають у термостат, де інкубують при t 37°C протягом 6-8 днів. У межах 6-8 днів в атеросклеротичному елементі відбувається поява яскраво-червоної ділянки. Далі готують мазки, роздавлюючи утворення між предметними скельцями, забарвлюють їх по Романовському-Гімзе, мікроскопіюють, спостерігають колони еритроцитоподібних і нейтрофілоподібних клітин.

Створення експериментальної моделі in vitro здійснюють за допомогою культивування тканини атеросклеротичного утворення на твердому живильному середовищі, а створення моделі загострення атеросклерозу забезпечують за рахунок культивування ліпідного атеросклеротичного утворення в живильному середовищі у присутності фрагмента червоного кісткового мозку.