



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 53542

(13) A

(51) 7 G09B23/28

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ТРОМБОЕМБОЛІЇ ЛЕГЕНЕВОЇ АРТЕРІЇ

1

2

(21) 2002075881

(22) 16 07 2002

(24) 15 01 2003

(46) 15 01 2003, Бюл. № 1, 2003 р.

(72) Генік Степан Миколайович, Сабадош Ростислав Васильович, Піптюк Олександр Володимирович, Збирак Микола Петрович, Волошин Мар'яна Мирославівна, Атаманюк Олег Юрійович

(73) Генік Степан Миколайович, Сабадош Ростислав Васильович, Піптюк Олександр Володимирович, Збирак Микола Петрович, Волошин Мар'яна Мирославівна, Атаманюк Олег Юрійович

рович, Збирак Микола Петрович, Волошин Мар'яна Мирославівна, Атаманюк Олег Юрійович

(57) Спосіб моделювання тромбоемболії легеневої артерії в експерименті, що включає введення у венозну систему ембологенних факторів, який відрізняється тим, що як тромбоемболи використовують суспензію висушеного протягом доби і подрібненого згустку венозної крові щура на 0,9 % розчині хлориду натрію (200 мкг порошку на 1 мл фізіологічного розчину)

Винахід відноситься до експериментальної медицини і може бути використаний для відтворення тромбоемболії легеневої артерії (ТЕЛА) в експерименті

Відомі такі способи моделювання тромбоемболії легеневої артерії введення подрібнених згустків крові з попереднім використанням для їх утворення тромбіну, введення фібринових згустків, формування тромбів у канюлі та виштовхування їх у кровотік [3,4]

В якості прототипу вибрано спосіб моделювання тромбоемболії легеневої артерії шляхом формування тромбів (внаслідок введення тромбіну) у крупних венах з подальшим виштовхуванням їх у венозний кровотік [5]. Безпородним собакам, що знаходились під нембуталовим наркозом оголювали стегнову вену. Між двома затискачами в оголену ділянку вени вводився тромбін. Через 10 - 15 хвилин утворений згусток виштовхувався у напрямку руху крові.

Недоліками прототипу є 1) неможливість відтворити картину тромбоемболії дрібних гілок легеневої артерії, оскільки тромби великі і зупиняються у легеновому стовбурі, легених артеріях або в дольових чи сегментарних гілках легеневої артерії, 2) дороговизна методу внаслідок використання тромбіну, 3) виникнення під впливом введення тромбіну загальної реакції (збільшення часу згортання крові, генералізований тромбоз).

Суттєві відмінності, в яких закладений технічний результат, полягають у тому, що відтворюється тромбоемболія дрібних гілок легеневої артерії з використанням в якості тромбоемболів суспензії

висушеного протягом доби і подрібненого згустку венозної крові щура на 0,9% розчині хлориду натрію (200мкг порошка на 1мл фізіологічного розчину)

Запропонований нами спосіб дає можливість вивчати тромбоемболію дрібних гілок легеневої артерії в експериментальних тварин. Окрім того, він є єдиним способом відтворення ТЕЛА на щурах, проведення досліджень на яких є дешевим, доступним і простим у виконанні.

Методика заготівлі суспензії

Стерильним одноразовим шприцом об'ємом 2мл здійснюємо забір крові з нижньої порожнистої вени безпородного білого щура-самця віком 4 міс і масою 300г, який в подальшому в експерименті не використовується (доступ до вени див. нижче). Як тільки кров у шприці згорнеться, знімаємо з нього голку, згусток крові витискаємо у стерильну фарфорову ступку і висушуємо одну добу. Висушений згусток венозної крові у ступці ретельно подрібнюємо стерильною спеціальною паличкою. Далі в стерильних умовах відважуємо 200мкг порошка, висипаємо його у невисоку стерильну пробірку, додаємо 1мл фізіологічного розчину і збовтуємо. Утворену суспензію забираємо одноразовим шприцом і за вищевказаною методикою вводимо в нижню порожнисту вену іншого піддослідного щура.

Моделювання ТЕЛА

Для створення моделі беремо безпородного білого щура-самця віком 4 місяці (300г).

Як засіб для наркозу використовуємо каліпсоп внутрішньоочеревинно вводимо по 0,05мл каліпсопу на кожні 100г маси тіла щура. У тварини, фік-

(13) A

(11) 53542

(19) UA

сованої спинкою донизу, вищипуємо шерсть у ділянці грудної та черевної порожнини. Операційне поле двічі обробляємо розчином йоду. Після цього здійснюємо серединний розріз шкіри протяжністю 5 - 6 см (серединну лапаротомію), починаючи від кінця мечоподібного відростка груднини. Потім розтинаємо м'язи передньої черевної стінки. Операційне поле обкладаємо стерильними серветками. Далі готуємо доступ до нижньої порожнистої вени обережно відгорнувши органи черевної порожнини вбік, на задній стінці черевної порожнини, біля хребта, побачимо венозний стовбур (синюватого забарвлення, не пульсує), покритий парієтальною очеревиною і фасцією. Для кращої фіксації голки у вени очеревину і фасцію розсікаємо скальпелем, відтягуючи їх пінцетом вентрально. За допомогою одноразового шприца вводимо суспензію висушеного протягом доби і подрібненого згустка венозної крові на 0,9% розчині хлориду натрію (детальна методика заготівлі суспензії вказана вище). Вміст шприца вводимо повільно. Витягнувши голку, забезпечуємо гемостаз, використовуючи стерильні марлеві тампони. Через 5 хв марлеві тампони видаляємо (стінка судини не просочується кров'ю). Далі вкладаємо органи черевної порожнини на місце. Рану ушиваємо пошарово, використовуючи поодинокі вузлові шви.

Після ушивання черевної порожнини рану обробляємо йодом і накладаємо асептичну пов'язку. Тварину утримуємо у клітці при температурі не менше 20°C. Асептичну пов'язку змінюємо кожний другий день. При зміні пов'язки рану обробляємо розчином йоду. Післяопераційне знеболення - 0,03 мл 0,03% розчину бупренорфіну на 500 г маси щура один раз на добу до загоєння післяопераційної рани.

Експеримент відтворений на 33 безпородних білих щурах-самцях віком 4 місяці (300 - 400 г). Всі ці тварини були розділені на такі групи:

1. Група норми з 5 здорових інтактних щурів.

2. Контрольна група з 14 тварин, яким проводили серединну лапаротомію з ушиванням черевної порожнини без моделювання ТЕЛА.

3. Піддослідна група з 14 щурів, на яких відтворювали запропоновану нами модель тромбоемболії дрібних плук легеневої артерії.

Усіх тварин групи норми виводили з експерименту і проводили забір їх легень для морфологічних досліджень. Для цього ж через 2 години після ушиття лапаротомної рани виводили з експерименту 7 тварин 2-ої і 7 щурів 3-ої групи. Морфологічне дослідження легень тварин кожної з груп полягало у виготовленні з них гістологічних препаратів і зафарбуванні їх спеціальною диференційованою методикою для виявлення фібрину - "ОКГ" за Д. Д. Зербіно (1989) [2].

Решту щурів 2 і 3 груп з експерименту не виводили. У них до оперативного втручання та на 2 добу після нього проводили електрокардіографію і вивчали зміни на ЕКГ, в тому числі наявність ЕКГ-критеріїв ТЕЛА. При аналізі ЕКГ у щурів у нормі (до моделювання ТЕЛА) виявлено правограм, яка у людини є діагностичним критерієм ТЕЛА. У зв'язку з цим, діагностика ТЕЛА за ЕКГ проводилася у тварин шляхом порівняння вираженості правограми до моделювання і після моделювання

ТЕЛА у одного і того ж щура.

Одержані такі результати.

У контрольній групі тварин, яким проводили серединну лапаротомію з ушиванням черевної порожнини без моделювання ТЕЛА, жодних морфологічних змін у легенях та ЕКГ-змін виявлено не було, що свідчило про відсутність впливу самого оперативного втручання на використовувані нами параметри для діагностики ТЕЛА.

При аналізі гістологічних препаратів легень (зафарбованих за Д. Д. Зербіно) щурів піддослідної групи, виведених з експерименту через 2 години після моделювання ТЕЛА, у всіх тварин виявлено безповітряні ділянки легень з крововиливами в альвели, спазмовані бронхи, повнокровні судини, наявність в просвіті судин тромботичних мас з фібрином різного ступеня зрілості молодого і старого фібрину (за методикою Д. Д. Зербіно вік фібринового тромба залежить від його кольору: оранжевий колір - молодий фібрин, віком до 6 годин, червоний колір - зрілий фібрин, віком 6 - 24 годин, синій колір - старий фібрин, віком >24 годин). Наявність старого фібрину в дрібних пилках легеневої артерії свідчила про те, що це якраз той фібрин, який був введений нами у вигляді вищевказаної суспензії. Наявність молодого фібрину вказувала на те, що на введені нами тромбоемболії відбулося нашарування новоутвореного ендогенного фібрину.

Аналіз ЕКГ-змін на 2 добу після моделювання ТЕЛА у тварин піддослідної групи виявив чіткі ознаки ТЕЛА: появу екстрасистол у відведенні AVL, електричну альтернацію у відведенні AVR, підняття вище ізолінії сегмента ST в III відведенні, не виражений зубок R в I відведенні, у V відведенні ST нижче ізолінії, у III відведенні сформований P-pulmonale, появу компонента gSr.

Приклад 1. На безпородному білому щурі-самці віком 4 місяці (масою 300 г) відтворено запропоновану нами модель тромбоемболії дрібних плук легеневої артерії. При аналізі гістологічних зрізів легень (забір легень через 2 години після моделювання ТЕЛА) виявлено прямі і опосередковані ознаки тромбоемболії легеневої артерії: спазм дрібних бронхів, повнокров'я судин, в судинах - тромби зі старим (блакитного кольору) і молодим фібрином (оранжевого кольору). Оскільки для утворення старого фібрину за Д. Д. Зербіно необхідно не менше 24 годин, то виключається його утворення в кров'яному руслі за 2 години, які пройшли з моменту моделювання нами патологічного процесу. А таким чином це ті ж тромби, які були використані нами для моделювання ТЕЛА. Наявність тромбів з молодого фібрину свідчить про нашарування на введений нами фібрин нового ендогенного фібрину.

Приклад 2. На безпородному білому щурі-самці віком 4 місяці (350 г) відтворено запропоновану нами модель тромбоемболії дрібних плук легеневої артерії. На другу добу проведена електрокардіографія. На ЕКГ виявлено такі зміни: поява екстрасистол у відведенні AVL, електрична альтернація у відведенні AVR, сегмент ST піднімається вище ізолінії в III відведенні, в I відведенні не виражений зубок R, що свідчить про зниження біоелектричної активності, у V відведенні ST нижче

ізолінії - діастолічне перевантаження, у III відведенні сформований P-pulmonale, у цьому ж відведенні поява компоненту rSr, що вказує на порушення проведення імпульсу по правій ніжці пучка Гіса. Ці ознаки чітко вказують на наявність у щура ТЕЛА [1]

Всі одержані результати дозволяють стверджувати, що запропонована нами модель тромбоемболії дрібних пілок легеневої артерії дає відтворюваність у 100% взятих для цього тварин

Отримані дані дають можливість рекомендувати застосування даного способу в експериментальній практиці для вивчення тромбоемболії дрібних пілок легеневої артерії на щурах

Література

1 Грицюк А. И. Пособие по кардиологии - К Здоров'я, 1984 - с 510

2 Зербино Д. Д. Диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови - М Медицина, 1989 - С 239 - 240

3 Мазаев П. Н., Кунцин Д. В. Клинико-рентгенологическая диагностика тромбоемболии легочных артерий - М Медицина, 1979 - с 32

4 Рзаев Н. М. Эмболии и тромбозы легочной артерии - Баку Азербайджанское государственное издательство, 1970 - С 86 - 91

5 Рзаев Н. М. Эмболии и тромбозы легочной артерии - Баку Азербайджанское государственное издательство, 1970 - С 146 - 147