



УКРАЇНА

(19) UA (11) 34628 (13) A

(51) 6 G09B23/28

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВІНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ СИНДРОМУ ДИСЕМІНОВАНОГО ВНУТРІШНЬОСУДИННОГО ЗГОРТАННЯ КРОВІ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

(21) 98094949

(22) 22.09.1998

(24) 15.03.2001

(46) 15.03.2001, Бюл. № 2, 2001 р.

(72) Генік Степан Миколайович, Пиптюк Олександр Володимирович, Сабадош Ростислав Васильович.

(73) ГЕНІК СТЕПАН МИКОЛАЙОВИЧ, ПИПТЮК ОЛЕКСАНДР ВОЛОДИМИРОВИЧ, САБАДОШ РОСТИСЛАВ ВАСИЛЬОВИЧ

(57) Спосіб моделювання синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові в експерименті, шляхом введення біологічних речовин, який відрізняється тим, що між двома тваринами формують шкірно-м'язово-очеревинний парабіотичний анастомоз, створюючи єдину систему лімфо-кровообігу.

Винахід відноситься до експериментальної медицини і може бути використаний для вивчення проблем дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові і методів корекції даного стану різними медикаментозними препаратами.

Рівень техніки. Відомі такі способи моделювання синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові (ДВЗ-синдрому): введення вірусу, введення бактеріальних токсинів; нанесення травми; введення хімічних чи біологічно активних речовин; введення факторів згортання крові та ін. [1,2].

В якості прототипу вибрано трансфузійний спосіб моделювання синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові шляхом введення плазми, збагаченої тромбоцитами і лейкоцитами [6]. Безпородним собакам, що знаходились під нембутановим наркозом, на фоні гострої крововтрати (40-45 мл/кг маси тіла) переливали свіжозаготовлену плазму, збагачену тромбоцитами і лейкоцитами, мінімум від трьох собак-донорів. Кров собак-реципієнтів і донорів підбирали за груповими еритроцитарними антигенами. Плазму переливали в об'ємі, що складав 150% від видаленої крові, спочатку струйно (50% об'єму, що переливається), а потім швидко крапельно. Час переливання 20-30 хв. Разом з плазмою при переливанні в організм піддослідної собаки поступало $120 \cdot 10^6$ тромбоцитів і біля $2 \cdot 10^6$ лейкоцитів на 1 кг маси тіла.

Недоліками способу є неможливість створення моделі підгострого і хронічного синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові і, як наслідок, неможливість тривалого вив-

чення даного патологічного стану в динаміці, а також дороговизна методу (для створення однієї моделі необхідно, як мінімум, 5 собак).

Суттєві відмінності, в яких закладений технічний результат, полягають у тому, що для тривалого безперервного попадання біологічних речовин однієї тварини до іншої між двома генетично неспорідненими тваринами формують шкірно-м'язово-очеревинний парабіотичний анастомоз зі створенням спільного лімфо-кровообігу.

Обґрунтування. Запропонований нами спосіб дає можливість вивчати підгострі і хронічні форми синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові, а отже, тривало спостерігати за розвитком даного патологічного стану. Спосіб дешевий і простий у виконанні. Шкірно-м'язово-очеревинний парабіотичний анастомоз нами був використаний тому, що він є одним з найпростіших способів створення у тварин спільного кро-вообігу. У сполучених таким чином тварин вже на 3-4 добу на рівні капілярів формуються судинні зв'язки. При введенні у підпрепаровану яремну вену одного з партнерів по парабіозу еритроцитів, мічених Cr^{51} , радіоактивність тіл обох партнерів вирівнюється уже через 3,5 год., що підтверджує спільність кровообігу тварин [5].

Спосіб виконання і результати обстеження.

Для створення моделі беремо 2 одностатевих безпородних щурів, приблизно однакових за масою і віком. Як засіб для наркозу використовуємо каліпсол. Внутрішньочеревинно вводимо кожній тварині 0,05 мл каліпсола на кожні 100 г маси тіла. У тварин, фіксованих стрижками донизу, на прилягаючих один до одного боках вищипуємо

(19) UA (11) 34628 (13) A

шарсть. Операційне поле двічі обробляємо розчином йоду. Після цього кожній тварині робимо ланцетоподібний виріз шкіри від стегна до передостаннього ребра шириною в середній частині близько 1 см, а також розріз очеревиною відповідно до вирізу шкіри. Потім поширено сполучаємо шкірно-м'язеві та очеревинні посікти двох тварин, накладаючи поодинокі вузлуваті шви: дорзальний шкірно-м'язевий, дорзальний очеревинний, вентральний очеревинний, зв'язуючи між собою нижні ребра тварин, і, накінець, вентральний шкірно-м'язевий. Таким чином, у тварин формується спільна черевна порожнина. Ділянку анастомозу обробляємо розчином йоду і накладасмо асептичну пов'язку. Щоб запобігти перекрученню анастомозу, хвості щурів, склавши їх разом, обгортаємо стрічкою лейкопластиру. Тварин утримують у клітці при температурі повітря не менше 20°C. Асептичну пов'язку міняють кожен 2-й день і на сьому добу знімають повністю. При зміні пов'язки рану обробляють розчином йоду.

Експеримент відтворений на 22 парх піддослідних, сполучених шкірно-м'язево-очеревинним парабіотичним анастомозом, щурів і 3 поодинокі контрольні тварини. Всі ці тварини були поділені на такі групи:

- 1) контрольна група з 3-ох тварин;
- 2) піддослідна група з 3-ох пар тварин, яких виводили з експерименту на 3 добу їхнього співжиття;
- 3) піддослідна група з 3-ох пар тварин, яких виводили з експерименту на 7 добу співжиття;
- 4) піддослідна група з 3-ох пар тварин, яких виводили з експерименту на 14 добу співжиття;
- 5) піддослідна група з 3-ох пар тварин, яких виводили з експерименту на 21 добу співжиття;
- 6) піддослідна група з 7-ми пар тварин, у яких перед сполученням, а також на 7-му і 14-ту добу після сполучення забирали кров для визначення фібриногену, кількості тромбоцитів, антитромбін III, тромбоцитарного фактору 4 (ТФ-4) і проведення етанолового тесту.

У тварин 1-5-ої груп з їх органів (печінка, селезінка, тонкий кишківник, очеревина, шкіра і легені) робили гістологічні препарати, фарбуючи їх

спеціальною диференційованою методикою для фарбування фібрину "ОКГ" за Д. Д. Зербіно [4].

Одержано такі результати. При аналізі гістологічних препаратів органів тварин, зафарбованих за Д. Д. Зербіно, встановлено, що уже з 3-го дня після сполучення тварин спостерігаються ознаки синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові (поодинокі тромби в мікроциркуляторному руслі печінки, тонкого кишківника, шкіри й очеревини). На 7-му добу кількість їх зростає, появляються мікротромби також у легенях і селезінці. Максимального вираження зміни в мікроциркуляторному руслі тварин набувають на 14-ту добу співжиття, коли спостерігається генералізований тромбоз мікроциркуляторного русла у всіх органах, відкладання фібрину за межами судин, численні мікрокрововиливи. На 21-у добу співжиття тромбоз мікроциркуляції майже відсутній, наявні поодинокі тромби зі старого фібрину, а також запалькові явища (дистрофії, проростання сполучної тканини).

При аналізі значень вищевказаних показників гемостазу за спеціальним алгоритмом для діагностики синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові за В. Г. Личовим [3] встановлено, що як на 7-й, так і на 14-й день після сполучення тварин у 100% пар розвивається синдром дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові, при чому більш вираженіші зміни відзначаються на 14-у добу після сполучення тварин.

Приклад 1. Два білих безпородних щурів-самці, масою 190 і 180 г, були сполучені між собою і на 14-у добу їхнього співжиття виведені з експерименту. При аналізі гістологічних зрізів печінки, селезінки, легень, тонкого кишківника, шкіри й очеревини у обидвох тварин виявлено незаперечні ознаки синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові: генералізований тромбоз мікроциркуляторного русла, вихід фібрину за межі судин, численні мікрогеморагії.

Приклад 2. Два білих безпородних щурів-самці, масою 300 і 290 г, сполучені між собою. До сполучення, а також на 7-у і 14-у добу співжиття у обидвох щурів взято кров для визначення показників гемостазу. Одержано такі результати (табл. 1):

Показники	До сполучення		7-а доба		14-а доба	
	щур 1	щур 2	щур 1	щур 2	щур 1	щур 2
Фібриноген, г/л	4,5	4,5	5,6	4,0	2,6	1,8
Етаноловий тест	-	-	+	+	+	+
К-ть тромбоцитів, $\cdot 10^9/\text{л}$	520	540	410	520	290	380
Антитромбін III, %	86,0	100,0	51,1	51,5	14,0	15,0
ТФ-4, сек.	9	12	14	14	14	15
Наявність ДВЗ	-	-	+	+	+	+

З вищеподаної таблиці видно, що у обидвох тварин уже на 7-у добу розвивається синдром дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові, набираючи максимальної вираженості на 14-у добу (найвираженіше зменшуються вміст фібри-

ногену в крові, кількість тромбоцитів, антитромбін III і максимально зростає ТФ-4).

Всі одержані результати вказують на те, що при тривалому безперервному попаданні біологічних речовин через кров однієї тварини іншій при їх сполученні шкірно-м'язево-очеревинним парабіо-

тичним анастомозом практично у 100% тварин розвивається синдром дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові. Початкові його прояви помітні вже на 3-ю добу після сполучення, максимальної вираженості синдром набуває на 14-у добу і розрішується до 21-ої

Отримані дані дають можливість рекомендувати застосування даного способу в експериментальну практику для вивчення підгострої і хронічної форм синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові

Література

1 Балуда В П. Внутрисосудистое свёртывание крови - компонент патогенеза различных заболеваний // Пат физиол -1977 - №2 - С 3-13

2 Гаврилов О К. Проблемы и гипотезы в учении о свёртывании крови -М Медицина, 1981 - С 112-119

3 Захария Е А, Кинах М Б, Темник И В. Лабораторная диагностика диссеминированного внутрисосудистого свёртывания (Метод реком) - Львов, 1988 -С 8-9

4 Зербино Д Д. Диссеминированное внутрисосудистое свёртывание крови - М Медицина, 1989 - С 239 - 240

5 Соколов А Б. Методика парабיוза у мышей // Проблемы эндокринологии -1987 -Т 3 -№2 - С 101-104

6 Фёдоров Н А, Горбунова Н А, Балакина Т А, Колпиков В Н. Модель диссеминированного внутрисосудистого свёртывания крови // Бюлл. экспер биол - 1978,- №7 -С 116 -120

Тираж 50 экз

Відкрите акціонерне товариство «Патент»

Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагарина, 101

(03122) 3 - 72 - 89 (03122) 2 - 57 - 03

