



УКРАЇНА

(19) UA (11) 27140 (13) U

(51) МПК (2006)

A61B 5/0484 (2006.01)

A61N 5/10

G01N 23/00

G01N 23/22

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ АРТЕРІАЛЬНОГО СКЛЕРОЗУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

1

2

(21) u200702481

(22) 06.03.2007

(24) 25.10.2007

(72) ОСТРОВСЬКА СВІТЛАНА СЕРГІЙВНА, UA

(73) ОСТРОВСЬКА СВІТЛАНА СЕРГІЙВНА, UA

(56)

(57) 1. Спосіб оцінки артеріального склерозу в експерименті, що включає готування гістологічних і напівтонких зрізів зі зразків біологічної тканини, вимірювання товщини стінки й діаметра просвіту судин, обчислення судинного індексу по відношенню товщини стінки до діаметра просвіту судини і встановлення склерозу шляхом верифікації значення судинного індексу з його контрольною величиною, який **відрізняється** тим, що додатково перед узяттям зразків біологічної тканини тварин піддають однократному гамма-опроміненню в дозі 0,5 Гр, через 3 місяці - 10-денній затравці хлоридом кадмію при концентрації 1:10 ЛД50, 15-денному відновленню, гамма-опроміненню в дозі 0,5 Гр і затравці ацетатом свинцю в тій же концентрації, при цьому виявляють прогресуючий склероз артерій з діаметром менше 50 мкм, якщо значення судинного індексу перевищує його контрольну величину в 2,1 рази після впливу хлориду кадмію, або в 2,6 рази після сумарного гамма-опромінення

й впливу хлориду кадмію, або в 3,1 рази після 15-денного відновлення, або в 1,2 рази після впливу ацетату свинцю, або в 1,6 рази після сумарного гамма-опромінення й впливу ацетату свинцю, або в 1,9 рази після остаточного відновлення, а також визначають прогресуючий склероз артерій з діаметром понад 200 мкм, якщо значення судинного індексу перевищує його контрольну величину в 1,2 рази після впливу хлориду кадмію, або в 2,4 рази після сумарного гамма-опромінення й впливу хлориду кадмію, або в 3,0 рази після 15-денного відновлення, або в 4,3 рази після впливу ацетату свинцю, або в 6,0 разів після сумарного гамма-опромінення й впливу ацетату свинцю, або в 6,9 разів після остаточного відновлення.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що контрольне значення величини судинного індексу для артерій з діаметром, меншим 50 мкм, відповідає $0,40 \pm 0,04$.

3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що контрольне значення величини судинного індексу для артерій з діаметром понад 200 мкм відповідає $0,39 \pm 0,05$.

4. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що як біологічні тканини залучають шматочки міокарда із середньої третини передньої стінки лівого шлуночка серця щурів лінії Вістар.

Корисна модель відноситься до медицини, переважно, до вимірів з діагностичною ціллю на основі відповідних реакцій, а також досліджень або аналізу матеріалів з використанням опромінення, до використання засобів опромінення досліджуваного зразка й може бути затребуваною в біології, токсикології, радіобіології для оцінки змін органів і тканин після комбінованого впливу шкідливих факторів навколишнього середовища, у т.ч. радіації та важких металів на біологічні істоти.

З досліджуваного рівня техніки встановлено, що облітерацію просвітів приносячих артеріол

клубочків нирок у хворих на артеріальну гіпертензію можливо виявити під час досліджень біопсійних матеріалів. Результати досліджень доводять, що початкова стадія розвитку ниркових артеріальних гіпертензій супроводжується потовщенням стінок і звуженням просвітів приносячих артеріол клубочків, як самих дрібних артерій у нирках, що призводить до зменшення просвітів судин, сприяє розвитку ішемії та стимулює вироблення реніну, спричиняючи тим самим підвищення артеріального тиску [1].

Найбільш близьким серед об'єктів аналогічного призначення за сукупністю істотних

(13) U

(11) 27140

(19) UA

ознак до корисної моделі, що заявляється є спосіб оцінки артеріального склерозу, який включає готування гістологічних і напівтонких зрізів зі зразків біологічної тканини, вимірювання товщини її стінки й діаметра просвіту судин, обчислення судинного індексу, по відношенню товщини стінки до діаметра просвіту судини, і встановлення склерозу шляхом верифікації значення судинного індексу з його контрольною величиною. Слід зазначити, що цей спосіб був запропонований для характеристики нефросклерозу різної етіології та оцінки артеріальної гіпертензії у людей [2-4]. На біопсійному матеріалі вивчали морфологію нефросклерозу при артеріальній гіпертензії, хронічному гломерулонефриті, хронічному пієлонефриті й амілоїдозі нирок. Виміри товщини стінки й діаметра просвіту судин здійснювали з використанням мікроскопу й окулярної лінійки, а за допомогою судинного індексу також, як і у попередньому способі, оцінювали склероз тільки приносячих артеріол клубочків. Було показано, що при різній патології величина судинного індексу в цих судинах, що дорівнює у контролі $0,58 \pm 0,01$, варіює від $0,68 \pm 0,02$ при дифузійному фібропластичному гломерулонефриті, до $1,13 \pm 0,04$ при первинному зморщуванні нирок. Був зроблений висновок про те, що комплексна морфометрична оцінка нефросклерозу, у т.ч. динаміка величини судинного індексу приносячих артеріол клубочків, надають можливість кількісно визначати ступінь склерозу окремих структур нирок, виявляти та об'єктивізувати морфологічні розходження нозологічних форм нефросклерозу. Але, блок кровотоку на рівні клубочків, що супроводжується збільшенням судинного індексу в приносячих артеріолах, призводить до ішемії паренхіми нирок і прогресуванню нефросклерозу. При цьому, у даному рішенні не проводили кількісну оцінку склерозу інших артеріальних басейнів у нирках, утворених більш крупними судинами, що знижує об'єктивність і точність діагностики. Це зумовлене тим, що при різних стадіях артеріальної гіпертензії й інших патологіях, послідовному склерозуванню піддаються не лише приносячі артеріоли клубочків, але й великі судини нирок, а також артерії інших органів, у т.ч. й серця, а прискорений склероз великих судин міокарду відіграє визначальну роль у наступі термінальної стадії артеріальної гіпертензії [5].

Від того, кількісна оцінка склерозу судин різного калібру не лише в нирках але й в інших органах, здійснювана на основі величини судинного індексу може набути значень високоінформативного артеріально-гіпертензивного маркера, наприклад, при встановленні стадії артеріальної гіпертензії або диференційованій оцінці важко контрольованих впливів шкідливих екологічних факторів.

В основу дійсної корисної моделі поставлена задача створити такий спосіб оцінки артеріального склерозу, використання якого дозволило б шляхом штучного індукування артеріальної гіпертензії, за рахунок використання опромінення та агресії солей важких металів при зміні інтенсивності навантаження, і розширення можливості

інтерпретації величини судинного індексу, підвищити точність та інформативність.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі оцінки артеріального склерозу, що включає готування гістологічних і напівтонких зрізів зі зразків біологічної тканини, вимірювання товщини стінки й діаметра просвіту судин, обчислення судинного індексу по відношенню товщини стінки до діаметра просвіту судини і встановлення склерозу шляхом верифікації значення судинного індексу з його контрольною величиною, відповідно до корисної моделі, додатково перед узяттям зразків біологічної тканини тварин піддають однократному гамма-опроміненню в дозі 0,5Гр, через 3 місяці - 10-денній затравці хлоридом кадмію в концентрації 1:10 ЛД50, 15-денному відновленню, гамма-опроміненню в дозі 0,5Гр і затравці ацетатом свинцю в тій же концентрації, при цьому виявляють прогресуючий склероз артерій з діаметром менше 50мкм, якщо значення судинного індексу перевищує його контрольну величину в 2,1 рази після впливу хлориду кадмію, або в 2,6 рази після сумарного гамма-опромінення й впливу хлориду кадмію, або в 3,1 рази після 15-денного відновлення, або в 1,2 рази після впливу ацетату свинцю, або в 1,6 рази після сумарного гамма-опромінення й впливу ацетату свинцю, або в 1,9 рази після остаточного відновлення, а також визначають прогресуючий склероз артерій з діаметром понад 200мкм, якщо значення судинного індексу перевищує його контрольну величину в 1,2 рази після впливу хлориду кадмію, або в 2,4 рази після сумарного гамма-опромінення й впливу хлориду кадмію, або в 3,0 рази після 15-денного відновлення, або в 4,3 рази після впливу ацетату свинцю, або в 6,0 разів після сумарного гамма-опромінення й впливу ацетатом свинцю, або в 6,9 разів після остаточного відновлення; за умов, що контрольне значення величини судинного індексу для артерій з діаметром меншим 50мкм відповідає $0,40 \pm 0,04$, що контрольне значення величини судинного індексу для артерій з діаметром понад 200мкм відповідає $0,39 \pm 0,05$, що як біологічні тканини являють собою шматочки міокарда із середньої третини передньої стінки лівого шлуночка серця щурів лінії Вістар.

Причинно-наслідковий зв'язок сукупності істотних ознак заявлених об'єктів з вищевикладеним технічним результатом полягає в наступному.

Порівняння заявленого рішення задачі з прототипом показує, що заявлений об'єкт відрізняється від відомого тим, в умовах диференційованого збільшення навантажень на досліджувану тканину, насамперед, поетапним гамма-опроміненням заданої інтенсивності та впливом навантажень важкими металами виникає збільшення можливостей інтерпретації величини судинного індексу, відносно його контрольного значення для судин різних калібрів. Разом із тим, оцінка впливу використаних токсикантів на серцево-судинну систему наближає дію радіації й важких металів, серед яких провідна роль належить кадмію та свинцю, до реальних умов,

пов'язаних з наслідками ЧАЕС і зростанням динаміки артеріальної гіпертензії в Україні. Підвищення точності та інформативності способу ґрунтується й на тому, що судинний індекс у процесі одного дослідження визначається в судинах різних діаметрів й інших органах, наприклад у серці, що дозволяє порівнювати ступінь склерозу артеріальних басейнів, утворених артеріями різного калібру в усіх органах, завдяки чому виявляється специфіка дії того чи іншого ушкоджуючого фактора на артеріальне русло всього організму, а відтак збільшується діагностична та прогностична цінність кінцевих результатів дослідження. Водночас, оцінка склерозування судин здійснюється на кількісній основі, з можливістю інтерпретації даних, адаптованих до різноманітної інтенсивності дії природних факторів, найбільш негативних для людини й тварин.

Таким чином, сукупність ознак способу оцінки артеріального склерозу є суттєвою та відповідає критерію «новизна», оскільки має причинно-наслідковий зв'язок з реалізацією вищезазначеного технічного результату та не впливає з досліджуваного рівня техніки явним чином.

На малюнку зазначений характер змін судинного індексу артерій міокарду лівого шлуночка у щурів після комбінованого впливу гамма-опромінення з важкими металами (а - через 10 діб після ін'єкції; б - через 15 діб відновного періоду; 1,2 - артерії \varnothing до 50мкм й понад 200мкм, відповідно).

Відомості, які підтверджують можливість відтворення способу оцінки артеріального склерозу з досягненням заявленого технічного результату полягають в наступному.

Представлений спосіб оцінки склерозу артерій по величині судинного індексу реалізується у наступній послідовності.

Спочатку щурів лінії Вістар піддають однократному гамма-опроміненню в дозі 0,5Гр, через 3 місяці - 10-денній затравці хлоридом кадмію в концентрації 1:10 ЛД50, 15-денному відновленню, гамма-опроміненню в дозі 0,5Гр і затравці ацетатом свинцю. Після виведення щурів з експерименту, під ефірним наркозом вичленовують серце, відбирають шматочки міокарда із середньої третини передньої стінки лівого шлуночка. Готують напівтонкі зрізи зі зразків тканини міокарда, вимірюють товщину стінки та діаметр просвіту судин. Обчислюють судинний індекс по відношенню товщини стінки й діаметра просвіту судин \varnothing до 50мкм й понад 200мкм. Значення індексів верифікують з їх контрольними величинами індексів, які для артерій з \varnothing до 50 дорівнюють $0,40 \pm 0,04$, а для артерій \varnothing понад 200мкм - $0,39 \pm 0,05$. При цьому виявляють прогресуючий склероз артерій \varnothing до 50мкм, якщо значення судинного індексу перевищує його контрольну величину в 2,1 рази після впливу хлоридом кадмію, або в 2,6 рази після сумарного гамма-опромінення й впливу хлоридом кадмію,

або в 3,1 рази після 15-денного відновлення, або в 1,2 рази після впливу ацетатом свинцю, або в 1,6 рази після сумарного гамма-опромінення й впливу ацетату свинцю, або в 1,9 рази після остаточного відновлення, а також визначають прогресуючий склероз артерій \varnothing понад 200мкм, якщо значення судинного індексу перевищує його контрольну величину в 1,2 рази після впливу хлоридом кадмію, або в 2,4 рази після сумарного гамма-опромінення й впливу хлориду кадмію, або в 3,0 рази після 15-денного відновлення, або в 4,3 рази після впливу ацетату свинцю, або в 6,0 разів після сумарного гамма-опромінення й впливу ацетату свинцю, або в 6,9 разів після остаточного відновлення.

Для експериментальної перевірки способу оцінки артеріального склерозу залучали 60 статевозрілих щурів-самців лінії «Вістар» з масою тіла 200-230г. Тварин ділили на 6 груп, по 10 особин у кожній. Щурів з 1,2 і 3 груп піддавали тотальному одноразовому гамма-опроміненню в умовах терапевтичної установки «Рокус» з джерелом ^{60}Co , при потужності дози 0,54Гр/хв. Одноразова доза опромінення становила 0,5Гр. Через 3 місяці після опромінення щурам з 1,2 груп й неопроміненним тваринам з 4 й 5 групи навантажували важкими металами, щодня протягом 10 днів шляхом внутрішньочеревинного введення хлориду кадмію, при концентрації 6,7мг/кг маси тіла, в 1мл 0,9% NaCl, що відповідало 1:10 LD50. На щурів з 1 і 4 груп впливали ацетатом свинцю при концентрації 10мг/кг маси тіла в 1мл 0,9% NaCl, що також відповідало 1:10 LD50. Організовували 15-денний період відновлення. Паралельно щурам з 3 і 6 груп вводили внутрішньочеревним шляхом по 1мл 0,9% NaCl. Через 10 діб після початку і через 15 діб після припинення ін'єкцій (відновного періоду) тварин виводили з експерименту під ефірним наркозом, вичленовували серце. Брили шматочки міокарда із середньої третини передньої стінки лівого шлуночка, які фіксували в суміші 2% параформальдегіду й 2,5% глутаральдегіду, виготовленої на 0,1М фосфатному буфері з рН 7,4 при 4°C. Матеріал дофіксували в 1% розчині Os_4 й заливали в епон і аралдит. Робили серії напівтонких зрізів міокарда, які фарбували толуїдиновим синім. Дослідження напівтонких зрізів проводили за допомогою окулярної лінійки з шагом поділів 1,73мкм. Вимірювали товщину стінки й діаметр просвіту артерій різного калібру в різних гісто-топографічних зонах серця, відповідно з ангіоархітектонікою артеріального русла. У внутрішніх пучках міокарда й м'ясистих трабекулах вимірювали артерії калібром менше 50мкм, у зовнішніх пучках міокарда шлуночка - найбільш великі коронарні артерії калібром більше 200мкм. Розраховували судинний індекс, як відношення товщини стінки судини до діаметру її просвіту, за допомогою якого оцінювали склероз артерій. Отримані дані піддавали математичній обробці шляхом варіаційної статистики за допомогою програмного пакета «Statgraphics 4.0» на персональному комп'ютері.

Через 10 діб за результатами морфометричних досліджень у 3-й групі щурів (опромінення + NaCl) усереднені значення судинного індексу в артеріях дрібного й великого калібру мали чітко виражену тенденцію до збільшення (див. мал. чи табл.). У 4-й групі (введення хлориду кадмію) судинний індекс в артеріях дрібного калібру збільшувався в 2,1 рази, величина судинного індексу у великих коронарних судинах практично не змінювалась. Зворотний ефект відзначався при свинцевій інтоксикації, де судинний індекс в артеріях дрібного калібру у середньому залишався в межах контролю, а в артеріях з більшим діаметром збільшувався в 4,3 рази. В 5 групі (опромінення + кадмій) судинний індекс зростав у переважній більшості дрібних артерій в 2,6 рази, у великих - в 2,4 рази, в 6 групі (опромінення + свинець), судинний індекс зростав також, відповідно, в 1,6 рази й 6,0 разів. Через 15 діб відновлення в 3 групі щурів (опромінення + NaCl) величини судинного індексу в дрібних і великих артеріях залишались на колишньому рівні. В 4 і 5 групах (вплив металів без опромінення) досліджувані показники поверталися до вихідних величин. Після сполученого впливу опромінення й металів до кінця періоду відновлення в кадмієвій групі щурів судинний індекс збільшувався в дрібних артеріях в 3,1 рази, у великих - в 3,0 рази, у групі свинцевої інтоксикації цей показник зростав в дрібних артеріях у 1,9 разі, у великих - в 6,9.

Аналіз величин судинного індексу свідчив про те, що вплив солей важких металів після опромінення в дозі 0,5Гр сприяв прискореному розвитку в серці склерозу артерій різного калібру. Останнє надало підставу стверджувати, що ушкодження судин артеріального русла носить системний характер і знижує робочу дієздатність всієї серцево-судинної системи, оскільки просвіт судин та їх зовнішній діаметр є найбільш важливими показниками, що визначають величину артеріального тиску та генез артеріальної гіпертензії [6]. Нормалізація величин судинного індексу в артеріях серця до кінця періоду відновлення тканин після роздільної затравки кадмієм і свинцем свідчила про оборотний характер їхнього впливу на серцево-судинну систему.

Таким чином, на підставі отриманих результатів можливо підкреслити, що прискорений склероз артерій серця виникає внаслідок сполученого впливу на серцево-судинну систему енергії опромінення, агресивності хлориду кадмію та ацетату свинцю, причому в першому випадку йому піддаються, здебільше, дрібні артерії, а в другому - великі.

Надані тлумачення дозволяють дійти висновку, що діагностична цінність заявленого способу збільшується завдяки підвищенню точності ($p > 0,96$) та його інформативності, і зв'язується з можливістю достовірної оцінки змін органів і тканин, які виникають внаслідок комбінованого впливу шкідливих факторів навколишнього середовища, більше, за рахунок розширення інтерпретації величин судинного

індексу, а від того, відповідає умові «промислова придатність».

Морфометричні показники артерій у щурів після комбінованого впливу опромінення, с

Показники	L	D	
	ширина стінки судини, мкм	просвіт судини, мкм	судинний індекс
	через 10 діб ін'		
NaCl	5,98±0,30	15,10±0,24	
0,5Гр+NaCl	6,18±0,22	12,87±0,35	
Cd	8,43±0,43	9,80±0,22	
Pb	7,41±0,68	14,81±1,98	
0,5Гр+Cd	9,43±0,72	8,90±0,67	
0,5Гр+Pb	8,22±0,34	12,84±2,35	
NaCl	20,88±2,10	129,89±1,72	
0,5Гр+NaCl	25,83±4,82	129,13±12,6	
Cd	24,54±3,12	129,17±10,2	
Pb	87,93±2,23	127,44±3,45	
0,5Гр+Cd	49,96±1,78	128,10±9,81	
	0,5Гр+Pb	78,62±2,34	
через 15 діб періоду відновлення			
NaCl	6,20±0,12	15,4±0,56	
0,5Гр+NaCl	6,36±0,44	12,72±9,22	
Cd	6,82±0,56	14,82±8,99	
Pb	6,29±0,78	14,99±1,22	
0,5Гр+Cd	8,10±0,33	8,15±0,51	
0,5Гр+Pb	7,90±0,29	10,13±2,31	
NaCl	22,54±1,10	125,86±2,34	
0,5Гр+NaCl	37,67±4,10	129,89±10,11	
Cd	24,86±3,12	124,28±13,30	
Pb	26,22±3,11	124,87±2,79	
0,5Гр+Cd	65,64±2,89	121,56±8,74	
0,5Гр+Pb	95,06±3,44	76,66±8,99	

* достовірне відрізнєння від показника контролю (ін'єкція NaCl)

Джерела інформації:

1. Kernohaar J.W., Anderson E.W., Keith N.M. // Arch, intern. Med. - 1929. - Vol.44. - P.395-423.
2. Яргин С.В. Морфологическая характеристика нефросклероза различной этиологии // Арх. патол. - 1985. - Вып.10. - С.62-70.
3. Яргин С.В. Нозологические особенности морфогенеза нефросклероза // Арх. патол. - 1986. - С.55-63.
4. Серов В.В., Яргин С.В. Морфо-, патогенез нефросклероза: клинко-мор-фологический анализ // Терап. архив. -1986. -№8. - С.4-9.
5. Кушаковский М.С. Гипертоническая болезнь (эссенциальная гипертензия). Причины, механизмы, клиника, лечение / С. - Пб.: СОТИС. - 1995. - 311с.
6. Куприянов В.В. Пути микроциркуляции. - Кишинев: «Карта молдовеняскэ», 1969. - 259с.

