



(19) KG (11) 1042 (13) C1 (46) 31.05.2008

ГОСУДАРСТВЕННАЯ ПАТЕНТНАЯ СЛУЖБА
КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

(51) G09B 23/28 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

к патенту Кыргызской Республики под ответственность заявителя (владельца)

(19) KG (11) 1040 (13) C1 (46) 31.05.2008

(21) 20070038.1

(21) 20060028.1

(22) 07.04.2006

(46) 31.05.2008, Бюл. №5

(76) Волкович О.В. (KG)

(56) Патент RU №2264657, кл. G09B 23/28, 2005

(54) Способ моделирования повышенного внутрибрюшного давления у лабораторных животных

(57) Изобретение относится к медицине, а именно к хирургии и может быть использовано для моделирования повышенного внутрибрюшного давления на лабораторных животных. Задачей изобретения является создание экспериментальной модели внутрибрюшной гипертензии у лабораторных животных. Задача решается в способе моделирования повышенного внутрибрюшного давления у лабораторных животных, путем пункции и катетеризации брюшной полости с фиксацией катетера к коже животного П-образным швом с последующим нагнетанием стерильного вазелинового масла, контролируя давление, создаваемое в брюшной полости, периодически переключая линию с катетера на линию манометра, при этом, для изучения патофизиологических изменений происходящих при высоком уровне внутрибрюшного давления и проводят запись ЭКГ, берут кровь для определения показателей перекисного окисления липидов и ферментов антиоксидантной защиты. 1 п. ф., 2 табл., 2 ил.

Изобретение относится к медицине, а именно к хирургии, и может быть использовано для моделирования повышенного внутрибрюшного давления на лабораторных животных.

В последнее десятилетие интерес многих ученых и врачей значительно возрос к такому известному, но до сих пор недостаточно изученному и довольно часто встречающемуся состоянию, как повышенное внутрибрюшное давление.

Внутрибрюшным давлением принято считать давление в брюшной полости, измеренное в конце выдоха в положении пациента на спине, при расслабленных мышцах передней брюшной стенки. В норме оно колеблется около нуля, в соответствии с фазами дыхательного цикла. Внутрибрюшное давление кратковременно повышается и у здоровых людей при кашле, дефекации, физической активности (прыжки, поднятие тяжестей), во время смеха и при других состояниях, сопровождающихся напряжением мышц передней брюшной стенки. Синдром повышенного внутрибрюшного давления - внутрибрюшная гипертензия

является частным случаем повышения давления в замкнутом пространстве. В медицине известно немало синдромов такого рода: внутричерепная гипертензия, тампонада сердца, напряженный пневмоторакс, субфасциальный отек и напряжённая межмышечная гематома при синдроме длительного сдавления, глаукома. Многие патологические процессы сопровождаются внутри-брюшной гипертензией. Она может возникнуть при внутрибрюшном и забрюшинном кровотечениях, перитонитах, абсцессах брюшной полости, послеоперационных отеках внутренних органов, ожогах, массивной инфузационной терапии, острым панкреатите, острой кишечной непроходимости и других состояниях. Однако данная патология привлекла внимание исследователей и практикующих врачей относительно недавно потому что, во-первых, относительно большая эластичность брюшной стенки способствует компенсации возникших изменений в течение длительного промежутка времени и, во-вторых, симптоматика внутрибрюшной гипертензии зачастую скрывается манифестацией симптомов основного заболевания.

Распространенность внутрибрюшной гипертензии по данным различных авторов варьирует в широких пределах. По наблюдениям одного из наиболее авторитетных исследователей в этой области М. Малбрайна данное состояние встречается у 18% больных, находившихся в отделении интенсивной терапии. У больных не хирургического профиля повышение внутрибрюшного давления зарегистрировано в 19,8%, у хирургических больных после плановых операций - в 6.1%, а после экстренных - в 39.4%. По данным R.R. Ivatury и др. проникающие ранения брюшной полости осложняются ВБГ в 32.9% случаев. Принято также считать, что внутрибрюшное давление существенно повышенено примерно у 30% больных, находившихся в критическом состоянии в отделениях абдоминальной хирургии. При перitonите, панкреонекрозе и тяжелой сочетанной травме синдром абдоминальной компрессии развивается у 5.5% пациентов.

Летальность при синдроме абдоминальной компрессии чрезвычайно высока. По данным V. Eddy и др. она доходит до 68% и без лечения приближается к абсолютному значению.

Несмотря на достижения в области изучения физиологии и патофизиологии ВБГ, раскрытие механизмов адаптационных и дизадаптационных реакций организма, актуальной проблемой остается разработка методов повышения его резистентности, профилактики дизадаптационных сдвигов, изучение особенностей физиологических функций и течения патологических процессов при повышении внутрибрюшного давления.

Известен способ измерения давления на стенку толстой кишки при пневмокомпрессии, путем дозированного нагнетания воздуха в толстую кишку экспериментального животного, причем осуществляют поперечный доступ в брюшную полость, тонкую кишку перевязывают в зоне баугиниевой заслонки, баллон-катетер вводят в правое подпеченочное пространство и устанавливают в брюшной полости перпендикулярно толстой кишке, анальное отверстие сжимают руками, внутрикишечное давление поднимают до 200мм рт.ст. и по разнице давлений в кишечнике и баллоне-катетере судят о давлении на стенку толстой кишки (RU № 2264657, кл. G09B 23/28, 2005).

Недостатком является то, что определение истинного внутрибрюшного давления значительно отличается от определения внутрикишечного давления. Недостатком является так же то, что поддержание созданного давления сколько-нибудь продолжительное время не представляется возможным т.к., во-первых, введенный воздух всасывается, а во-вторых, сжатие руками анального отверстия у животного продолжительное время требует от экспериментатора высокой физической подготовки, что весьма затрудняет воспроизведение эксперимента, в-третьих, способ позволяет измерять давление путем нагнетания воздуха в прямую кишку, что очень болезненно для животного, и к изменениям в состоянии организма, вызываемым внутрибрюшным давлением, добавляются изменения, вызванные болевым шоком. Указанные недостатки обусловлены, главным образом тем, что экспериментальное моделирование проводилось при помощи воздуха.

Не все интересующие данные представляется возможным получить в клинических условиях. В частности, у больных проблематично изучать изолированное влияние ВБГ на функции организма (невозможно исключить воздействие сопутствующей патологии, индивидуальных, возрастных особенностей и т.п.), а также неосуществимы морфологические

исследования органов и тканей. Кроме того, необходимо отметить, что, несмотря на наличие достаточного числа публикаций в зарубежной и отечественной литературе, есть основания констатировать отсутствие удобной в практике экспериментальной модели повышения внутрибрюшного давления у лабораторных животных для изучения влияния внутрибрюшной гипертензии на функциональное состояние организма.

Задачей изобретения является создание экспериментальной модели внутрибрюшной гипертензии у лабораторных животных.

Задача решается в способе моделирования повышенного внутрибрюшного давления у лабораторных животных, путем пункции и катетеризации брюшной полости с фиксацией катетера в коже животного П-образным швом с последующим нагнетанием стерильного вазелинового масла, контролируя давление создаваемое в брюшной полости, периодически переключая линию с катетера на линию манометра, при этом, для изучения патофизиологических изменений происходящих при высоком уровне внутрибрюшного давления (более 25мм рт. ст.) в организме у животных проводят запись ЭКГ, берут кровь для определения показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ) и ферментов антиоксидантной защиты.

Способ осуществляют следующим образом.

После введения в наркоз лабораторную крысу переворачивают на спину и фиксируют. Затем, оттягивая вверх двумя пальцами брюшную стенку, производят пункцию и последующую катетеризацию брюшной полости (катетер для внутривенных введений G18). Катетер фиксируют на коже животного П-образным швом. Затем Y-образный тройник первым портом соединяют с катетером. Второй порт тройника соединяют с манометром. В третий порт вводят при помощи шприца стерильное вазелиновое масло, при этом периодически контролируют давление, создаваемое в брюшной полости, переключая зажимом направление потоков стерильного вазелинового масла. При достижении требуемого внутрибрюшного давления катетер извлекают из брюшной полости и накладывают на место катетеризации П-образный шов.

Материалы исследований получены на базе лаборатории экспериментального моделирования патологических процессов при кафедре физиологических дисциплин Кыргызско-российского (Славянского) университета имени Б.Н. Ельцина.

Объектом экспериментального исследования являлись 25 половозрелых крыс линии Вистар с массой от 160 до 210 г. Исследования выполняли на двух группах животных. В первой группе были интактные животные (контроль). Во второй - крысы, у которых моделировалось острое повышение внутрибрюшного давления (опыт).

Регистрацию ЭКГ проводили в трех стандартных отведениях, под эфирным наркозом у животных, фиксированных на спине.

Состояние свертываемости крови изучали на коагулографе Н-334 у здоровых животных и у животных после повышения внутрибрюшного давления. На коагулограмме определяли: начало, продолжительность, окончание свертывания крови, её вязкость и плотность кровяного сгустка.

Состояние ПОЛ оценивали по концентрации диеновых коньюгатов и оснований Шиффа в тканях сердца, печени, почке и тонком кишечнике. О состоянии антиоксидантной защиты в этих органах судили по активности ферментов супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы, которые являются главным образом внутриклеточными антиоксидантами.

Определение продуктов ПОЛ проводили в липидном экстракте по J.Folch: после иссечения органы, быстро и тщательно отмыты от крови 0,9% раствором хлорида калия, погружались в жидкий азот в сосуд Дьюара марки СДС-30, где и находились до исследования. Такой способ существенно препятствует развитию гипоксических нарушений в тканях при их фиксации.

Определение диеновых коньюгатов производили по Plazer J. и др.(1968). В ходе перекисного окисления на стадии образования радикалов в молекулах полиненасыщенных высших жирных кислот возникает система сопряженных двойных связей, что сопровождается появлением нового максимума в спектре поглощения. Определение проводили в липидном экстракте при ультрафиолетовом облучении, спектр поглощения 233 нм. Измеряется в нмоль/мг липидов.

Определение оснований Шиффа проводили по Fletcher B.L. и др. (1973)

Принцип метода основан на люминесцентном свечении приготовленного экстракта. Определение проводили на флюориметре при длине волны 380-460 нм. В качестве стандарта использовали 1% раствор хинидин-сульфата, приготовленный на 1% растворе серной

кислоты. Полученные данные измеряют в условных единицах.

Определяли активность СОД в исследуемых тканях. В основе метода лежит количественное определение активности СОД в биологических жидкостях с помощью индикатора н-Нитротетразолия хлористого.

Активность каталазы определяли по Конвай В.Д. и Лукошкину А.В. (1988). Последующее разрушение перекисей осуществляется каталазой, которая относится к ферментам, наиболее длительно сохраняющим свою высокую активность Принцип метода основан на способности перекиси водорода образовывать с солями титана стойкий окрашенный комплекс. Интенсивность окрашивания определяют калориметрически (светофильтр №5).

Содержание электролитов определяли методом пламенной фотометрии на пламенном фотометре ПФМ-УХЛ4.2.

Полученные данные ЭКГ свидетельствуют, что при повышении внутрибрюшного давления до высоких значений частота сердечных сокращений урежается. Это происходит из-за возросшего сосудистого сопротивления вследствие сдавливания сосудистого русла под влиянием повышенного внутрибрюшного давления. А появление аритмии, изменение высоты зубцов и конфигурации зубца Т говорят об ишемии миокарда, преимущественно его задней стенки, нарушениях процессов реполяризации и функции проводимости.

Повышение внутрибрюшного давления у крыс вызвало замедление свертывания крови, снижение вязкости и плотности сгустка. Сдвиги можно объяснить развивающейся гипоксией, которая вызвала существенные изменения в организме, обусловившие гипокоагуляционные сдвиги крови, что может привести к геморрагическим нарушениям и развитию тромбогеморрагического синдрома.

При изучении процессов ПОЛ (табл. 1 и 2) выявлено, что при повышении внутрибрюшного давления активацией перекисного окисления в первую очередь реагирует тонкий кишечник. Но в тоже время более значительная его активация сдерживается повышенной активностью ферментов антиоксидантной защиты. Судя по всему, стабильная, или даже несколько повышенная активность СОД и каталазы уменьшает активацию процессов свободнорадикального окисления в других исследуемых органах (сердце, печень, почки). Об этом свидетельствует повышение уровня ДК и оснований Шиффа. Наиболее ярко этот процесс проявляется в тонком кишечнике, когда значительно снижается активность СОД и каталазы, а это приводит к более значительному возрастанию процессов пероксидации.

Изучение содержания электролитов в органах и тканях показало, что после повышения внутрибрюшного давления у крыс наибольшие изменения регистрируются в тех органах и тканях, которые непосредственно подвергаются действию повышенного давления. Это тонкий и толстый кишечник и почки. При этом снижается как уровень ионов натрия, так и ионов калия, что может свидетельствовать о нарушении проницаемости мембран клеток в этих тканях. Наряду с этим, наблюдалась потеря ионов натрия сердечной и скелетной мышцами. О том, что имеющиеся сдвиги существенны, свидетельствовали статистически значимые изменения коэффициента K^+/Na^+ во всех исследуемых нами органах и тканях.

Пример. На фиг. 1 показана крыса в возрасте 3 месяцев с массой 200 г, самка. Под наркозом ей пунктируют брюшную полость с последующей катетеризацией. Катетер фиксируют на коже животного герметичным П-образным швом. Затем Y-образный тройник первым портом соединяют с катетером. Второй порт тройника соединен с манометром. В третий порт вводят при помощи шприца стерильное вазелиновое масло, периодически контролируя давление, создаваемое в брюшной полости, переключая зажимом направление потоков стерильного вазелинового масла.

На фиг. 2 отчетливо видно увеличение в размерах брюшной полости (с некоторой ее асимметрией), вызванное введенным маслом.

Использование предложенного способа моделирования повышенного внутрибрюшного давления у лабораторных животных для изучения влияния внутрибрюшной гипертензии на функциональное состояние организма позволяет осуществлять наблюдение за животным в условиях острого опыта и значительно упрощает изучение синдрома абдоминальной компрессии.

Таблица 1

Изменения перекисного окисления липидов и активности ферментов антиоксидантной защиты при повышенном внутрибрюшном давлении у крыс (25-35мм рт. ст.)

| ПОКАЗАТЕЛИ | Сердце | | Печень | |
|---------------------------------------|-----------|--------------------|-----------|--------------------|
| | контроль | опыт | контроль | опыт |
| Количество животных (n) | 8 | 17 | 8 | 17 |
| Диеновые коньюгаты (нмоль/мг липидов) | 0.33±0.03 | 0.35±0.05 +6.1% | 0.26±0.05 | 0.25±0.04 -3.8% |
| Основания Шиффа (в усл. ед.) | 0.36±0.04 | 0.36±0.05 ±0% | 0.46±0.03 | 0.44±0.04 -4.3% |
| Супероксид-дисмутаза (в усл. ед.) | 624±27 | 650±33 +4.2% | 825±23 | 860±30 +4.2% |
| Катализ (в усл. ед.) | 41.2±2.4 | 46.4±2.1 +12.6% | 39.5±0.7 | 42.1±0.8* +6.6% |

Примечание: * - статистически значимое различие величин контрольной и опытной групп (* - P <0.05).

Таблица 2

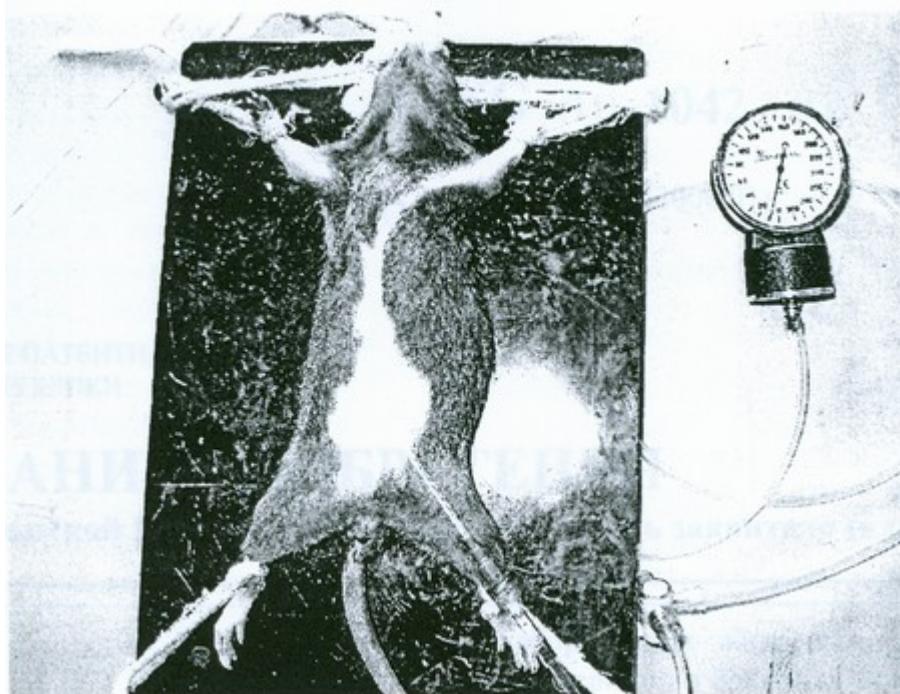
Изменения ПОЛ и активности ферментов АОЗ при повышенном внутрибрюшном давлении у крыс (25-35мм рт.ст.)

| ПОКАЗАТЕЛИ | Почка | | Тонкий кишечник | |
|---------------------------------------|-----------|--------------------|-----------------|----------------------|
| | контроль | опыт | контроль | опыт |
| Количество животных (n) | 8 | 17 | 8 | 17 |
| Диеновые коньюгаты (нмоль/мг липидов) | 0.35±0.04 | 0.42±0.03 +20% | 0.28±0.03 | 0.38±0.04* +35.7% |
| Основания Шиффа (в усл. ед.) | 0.45±0.04 | 0.5±0.05 +11.1% | 0.40±0.03 | 0.49±0.03* +22.5% |
| Супероксид - дисмутаза (в усл. ед.) | 780±22 | 800±30 +2.6% | 720±20 | 770±23 +6.9% |
| Катализ (в усл. ед.) | 42±1.5 | 45.1±1.8* +7.4% | 40.2±12 | 44.1±1.0* +9.7% |

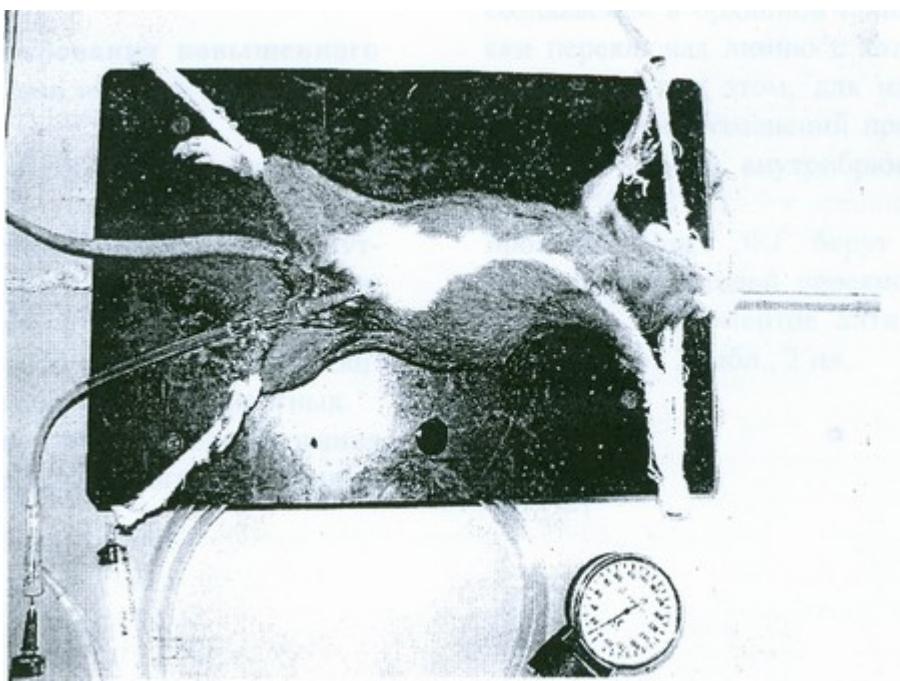
Примечание: * - статистически значимое различие величин контрольной и опытной групп (* - P<0.05).

Формула изобретения

Способ моделирования повышенного внутрибрюшного давления у лабораторных животных, заключающийся в создании внутрибрюшной гипертензии, отличающейся тем, что производят пункцию и катетеризацию брюшной полости с фиксацией катетера на коже животного с последующим нагнетанием в брюшную полость стерильного вазелинового масла.



Фиг. 1



Фиг. 2

Составитель описания
Ответственный за выпуск

Нургазиева А.С.
Чекиров А.Ч.

Государственная патентная служба КР, 720021, г. Бишкек, ул. Московская, 62, тел.: (312) 68 08 19, 68 16 41; факс: (312) 68 17 03