
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА И БИОЛОГИЯ

УДК: 616-001.36-002.151:616-092.9

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ГЕМОРРАГИЧЕСКОГО ШОКА

С. Л. Зыблев, З. А. Дундаров, Л. А. Мартемьянова

Гомельский государственный медицинский университет

Цель: разработать и обосновать новый оригинальный метод моделирования геморрагического шока у мелких лабораторных животных.

Материалы и методы. Моделирование геморрагического шока производили на 32 половозрелых беспородных самцах белых крыс (опытная группа). Контрольную группу составили 30 здоровых животных. Стойкую гипотензию вызывали путем интракардиального забора 35–40 % объема циркулирующей крови, что составляет около 5 мл крови. Кровь забирали со скоростью 2 мл/100 г в минуту. Оценивали клинические параметры животных, определяли лабораторные показатели через 24 и 48 часов, проводили морфологические исследования, а также сравнивали полученные данные с показателями контрольной группы.

Результаты. У всех лабораторных животных опытной группы наблюдались выраженные тахипноэ и тахикардия. Показатели красной крови опытной группы отражали тяжесть кровопотери статистически достоверным снижением количества эритроцитов и концентрации гемоглобина в течение 48 часов по сравнению с контрольной группой. Получено комплексное морфологическое подтверждение развившегося геморрагического шока.

Заключение. Представленная модель геморрагического шока является максимально приближенной к естественным процессам, происходящим в обычных условиях. С помощью оригинальной модели можно изучать патогенетические механизмы развития геморрагического шока разной степени, а также исследовать влияние различных препаратов и методов лечения на патогенез шока. Предложенная экспериментальная модель проста в технике выполнения, не требует дорогостоящей материально-технической базы и экономически выгодна.

Ключевые слова: экспериментальная модель, геморрагический шок, морфологическая картина.

EXPERIMENTAL MODEL OF HEMORRHAGIC SHOCK

S. I. Zyblev, Z. A. Dundarov, L. A. Martemyanova

Gomel State Medical University

Objectives: to develop and substantiate a new original method of modeling hemorrhagic shock in small laboratory animals.

Materials and methods. Hemorrhagic shock was simulated on 32 nubilous outbred male albino rats (experimental group). The control group contained 30 healthy animals. Persistent hypotension was caused by 35–40 % intracardiac intake of circulating blood volume, which is about 5 ml of blood. The blood was taken by 2 ml/100 g per minute. The clinical and laboratory parameters of the animals were determined 24 and 48 hours later, then morphological studies were conducted, as well as the results obtained were compared with the control group.

Results. All the laboratory animals of the experimental group observed tachypnea and tachycardia. The indices of red blood test in the experimental group reflected severity of blood loss by a statistically significant decrease of red blood cells and hemoglobin concentration during 48 hours compared to those in the control group. Thus, we obtained complex morphological confirmation of developed hemorrhagic shock.

Conclusion. The presented model of hemorrhagic shock is maximum similar to natural processes which appear under normal conditions. With the help of the original model we can study pathogenetic mechanisms of hemorrhagic shock development, as well as to investigate the effect of various drugs and methods of treatment on the pathogenesis of shock. The proposed experimental model is simple in the technique of its performance and does not require expensive material and technical basis and is economically advantageous.

Key words: experimental model, hemorrhagic shock, morphological picture.

Введение

Успех в терапии той или иной патологии напрямую зависит от этиопатогенетического обоснования применяемого метода. Основу познания сложных механизмов развития патологических процессов в организме составляет биологическое моделирование, которое возникло вместе с развитием экспериментальной биологии и медицины, и его значение в науке трудно преувеличить.

Задача моделирования состоит в том, чтобы по результатам проводимых с помощью моделей экспериментов, выявить свойства и характерные признаки изучаемой болезни, возникающей и развивающейся в живом организме. Для создания оптимальной, максимально полезной модели, необходимо выбрать один или два существенных признака, общих для оригинала и модели.

В настоящее время в литературных источниках описано несколько методов воспроизведения геморрагического шока [1]. Наибольшее распространение получил метод Уиггера (С. J. Wiggers, 1950), который предложил для воспроизведения гипотензии любой степени у собак применять катетеризацию бедренной артерии. Однако в предложенной модели имеются свои недостатки. Воспроизведение геморрагического шока по этому методу у мелких лабораторных животных невозможно в связи с малым диаметром магистральных сосудов (внешний диаметр аорты у крысы не более 3 мм, бедренной артерии — 1–1,5 мм) [2, 3]. В описанном способе используется гепарин, применение которого снижает степень микроциркуляторных расстройств, что, в свою очередь, не может полноценно отражать патогенетические изменения в организме. Использование крупных лабораторных животных требует высоких материальных затрат.

В литературных источниках описано несколько приемов забора крови у крыс [4, 5]. Но известные методы забора крови не могут в полной мере воспроизводить геморрагический шок. Его моделирование путем ампутации хвоста не является, в должной степени, чистым, так как имеет составляющую травматического шока — утрата органа, и получить массивную кровопотерю не удастся в связи с самопроизвольной остановкой кровотечения. Способ моделирования гипотензии у крыс путем пункции ретроорбитального венозного сплетения дает возможность получить около 0,5 мл крови (Cocchetto and Bjornsson, 1983). В свою очередь Grice в 1964 году описал получение 1–2 мл крови из ретроорбитального венозного сплетения. Исследователи также указывали на достаточно высокую травматичность данной манипуляции, и со временем отказались от этого способа. Данная кровопотеря может рассматриваться как метод забора крови, а не как метод воспроизведения геморрагического шока.

Цель работы

Разработать и обосновать новый оригинальный метод моделирования геморрагического шока у мелких лабораторных животных.

Материалы и методы

Геморрагический шок в нашей лаборатории воспроизводили на 32 половозрелых беспородных самцах белых крыс (опытная группа), массой 200–220 г, содержащихся в виварии университета на стандартном рационе питания. Контрольную группу составили 30 здоровых животных.

В день эксперимента животные не получали твердую пищу при свободном доступе к воде. Модель острой массивной кровопотери заключалась в следующем: лабораторное животное в состоянии воздушно-фторотанового наркоза, фиксировали к операционному столику на спине за конечности. Производили пункцию

сердца в 4–5-м межреберьи по левой парастеральной линии на границе средней и нижней трети расстояния от мечевидного отростка до яремной вырезки рукоятки грудины. Введение иглы в данной точке обусловлено близостью сердца, отсутствием легочной ткани и костных структур [2, 3, 6]. Иглу диаметром 0,3 мм вводили перпендикулярно поверхности грудины на 5 мм дорсально, постоянно создавая отрицательное давление в шприце, до появления крови. Стойкую гипотензию вызывали путем интракардиального забора 35–40 % объема циркулирующей крови, что составляет около 5 мл. Кровь забирали со скоростью 2 мл/100 г в минуту. После кровопускания крысу помещали в клетку. На протяжении всего эксперимента животные не получали никакого лечения.

У всех животных оценивали лабораторные показатели через 24 и 48 часов после кровопускания, используя интракардиальный способ забора крови, исследовали активность животных, измеряли частоту дыхательных движений, частоту сердечных сокращений оценивали при помощи электрокардиограмм, проводили лабораторные и морфологические исследования, а также сравнивали полученные данные с показателями контрольной группы.

В число исследуемых не вошли животные, погибшие во время кровопускания.

Все животные были выведены из эксперимента через 48 часов. Материалом для морфологического исследования служили участки лёгких, миокарда, печени, селезенки и почек. Материал фиксировали в 10-процентном растворе нейтрального формалина, применяли стандартную проводку с заливкой в парафин, изготавливали гистологические срезы 5–7 мкм. Окрашивание парафиновых срезов производили гематоксилином-эозином. Микропрепараты изучались при помощи светового микроскопа.

Определение концентрации мочевины и глюкозы в крови проводилось унифицированным методом на приборе «Солар» РМ2111. Показатели красной крови измеряли на гематологическом анализаторе «Nixon».

Все экспериментальные исследования выполнялись в соответствии с требованиями сообщества «Европейская конвенция по защите позвоночных, используемых для экспериментальных и иных научных целей» (Страсбург, 1986).

Данные обработаны с помощью программы «Statistica», 6,0. Согласно критерию Шапиро-Уилка, полученные данные имели распределение, отличное от нормального, таким образом, были использованы методы непараметрической статистики (в качестве описательной статистики использовалась Me (медиана) и интерквартильный размах [LQ; UQ]). Для определения достоверности различий использовал-

ся критерий Вилкоксона (для зависимых групп) и Манн-Уитни (для независимых групп).

Результаты

В день манипуляции до начала вмешательства крыс не кормили, проводился осмотр животного на наличие заболеваний, оценивалось его общее состояние. Во время забора крови у крысы в состоянии наркоза наблюдалось увеличение частоты дыхательных движений до 120 в минуту (норма $70,4 \pm 1,8$) и частоты сердечных сокращений до 410 ударов в минуту (норма $360 \pm 3,3$) [3, 7, 8]. Видимые слизистые бледнели в процессе забора крови с последующим появлением цианоза.

При лабораторном исследовании показателей крови тяжесть кровопотери подтверждалась статистически достоверным снижением количества эритроцитов и концентрации гемоглобина в крови лабораторных животных опытной группы уже через 24 часа с прогрессированием

нарастания анемии в течение 48 часов по сравнению с контрольной группой ($p1 < 0,0001$).

Отмечался рост концентрации мочевины и глюкозы в крови у животных опытной группы в течение 48 часов, что свидетельствует о расстройстве метаболизма. Так, через 24 часа количество мочевины крови животных данной группы статистически достоверно увеличилось по сравнению с контрольной группой ($p1 = 0,000339$) и нарастало в течение 48 часов. Концентрация глюкозы крови животных, перенёвших тяжёлую кровопотерю, также статистически достоверно выросла через 24 часа по сравнению с контрольной группой ($p1 = 0,00014$) с последующей тенденцией к росту. Так, через 48 часов количество глюкозы в опытной группе животных увеличилось по сравнению с показателем через 24 часа. Показатели крови лабораторных животных контрольной и опытной групп представлены в таблице 2.

Таблица 2 — Лабораторные показатели крови животных контрольной и опытной групп (Ме [25 %–75 %]).

Показатель	Группа	Контрольная группа (n = 30)	Опытная группа (n = 32)	
			24 ч	48 ч
$E_r, \times 10^{12}$		7,63 [7,31–8,19]	4,26 [4,11–4,41]*	3,22 [3,11–3,33]***
Hb, г/л		142 [135,5–148]	85 [81,5–88,5]*	67 [62–72]**
Мочевина, ммоль/л		5,3 [5,0–6,0]	7,42 [6,83–8,01]*	9,6 [8,55–10,65]**
Глюкоза, ммоль/л		6,08 [5,78–6,38]	9,3 [8,68–9,93]*	9,8 [9,45–10,15]*

Примечание. * различия достоверны по сравнению с контрольной группой при $p < 0,05$; ** различия достоверны по сравнению с 2-часовым периодом при $p < 0,05$.

Все животные выведены из эксперимента через 48 часов, с последующим морфологическим исследованием органов. При микроскопическом исследовании органов животных опытной группы, выявлены однотипные морфологические проявления геморрагического шока [9, 10].

В печени имелась умеренно выраженная белковая дистрофия гепатоцитов, в отдельных полях зрения выявлены гепатоциты в состоянии мелкокапельной жировой дистрофии. Также об-

наружена пролиферация клеток Купфера, отмечен отек пространств Диссе и полнокровие центральных вен и сосудов триад (рисунок 1).

В почках выявлена анемия коркового слоя, наблюдалась белковая дистрофия эпителия канальцев проксимальных и дистальных отделов нефрона. Определялись отек стромы, стазы и эритроцитарные сладжи в сосудах микроциркуляторного русла мозгового слоя, а также мелкоочаговые периваскулярные кровоизлияния (рисунок 2).

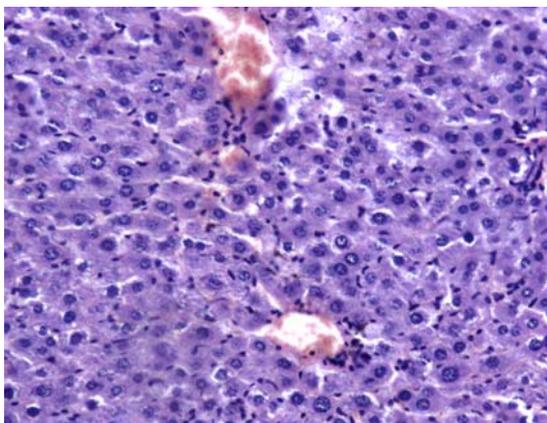


Рисунок 1 — Печень крысы (окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$)

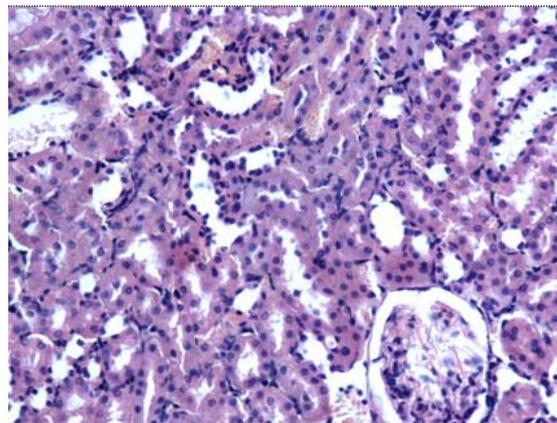


Рисунок 2 — Почка крысы (окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$)

В ткани легких определялась мозаичность поражения; выявлены очаги альвеолярной эмфиземы и очаговые ателектазы с интраальвеолярным отеком. Наблюдалось заустевание крупных артериальных сосудов, в микроциркуляторном русле имелись стазы крови и очаговые периваскулярные кровоизлияния с инфильтрацией макрофагами.

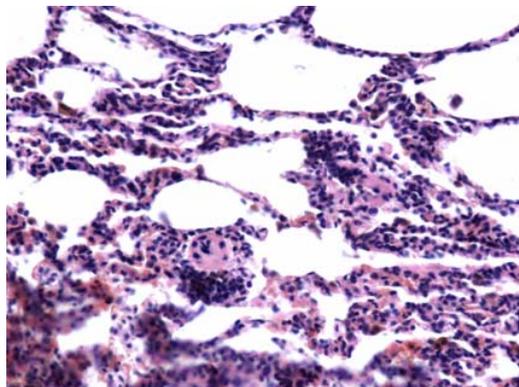


Рисунок 3 — Легкое крысы
(окраска гематоксилином и эозином, ×200)

Также выявлены очаговые кровоизлияния в альвеолы и межальвеолярные перегородки (рисунок 3).

При исследовании ткани миокарда выявлена паренхиматозная (белковая) дистрофия кардиомиоцитов с очаговым межмышечным отеком, обнаружены мелкоочаговые диапедзные кровоизлияния (рисунок 4).

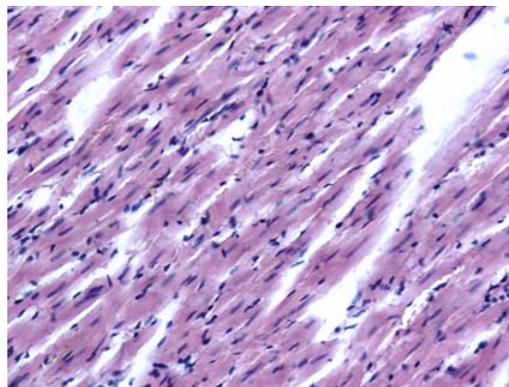


Рисунок 4 — Сердце крысы
(окраска гематоксилином и эозином, ×200)

В селезенке рисунок лимфоидных фолликулов стерт, трабекулярная сеть не выражена. Имелось обеднение красной пульпы, в сосудах

микроциркуляторного русла определялись стазы и сладжи крови с диффузными периваскулярными кровоизлияниями (рисунок 5).

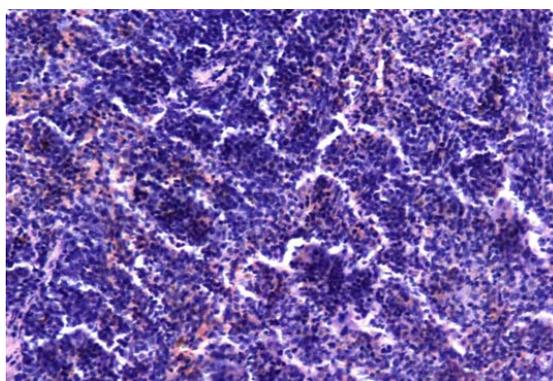


Рисунок 5 — Селезенка крысы
(окраска гематоксилином и эозином, ×200)

Таким образом, при моделировании геморрагического шока по предложенной методике, в паренхиматозных органах морфологические изменения представлены гемодинамическими расстройствами кровообращения различной степени выраженности с признаками альтерации, что отражает комплексное морфологическое подтверждение развившегося геморрагического шока [10].

Обсуждение

Представленная модель геморрагического шока является максимально приближенной к естественным процессам, происходящим в обычных условиях. Не требует применения антикоагулянтов, что наиболее точно отражает патофизиологические процессы при развитии

геморрагического шока. Его глубина зависит от заданных параметров (объем и скорость кровопотери), которые могут четко контролироваться для поставленных задач. С помощью предложенной модели можно изучать патогенетические механизмы развития геморрагического шока разной степени, а также исследовать влияние различных препаратов и методов лечения на патогенез шока. При отработанной методике лабораторное животное находится в наркозе короткое время. Предложенная экспериментальная модель проста в технике выполнения, не требует дорогостоящей материально-технической базы, экономически выгодна в связи с отсутствием затрат на приобретение и содержание более крупных животных.

Выводы

1. Моделирование геморрагического шока у мелких животных представляет определённые трудности в связи с малым калибром магистральных сосудов.

2. Известная модель геморрагического шока включает применение дополнительных препаратов, что нарушает естественный патогенетический механизм развития шока.

3. Описанные методы забора крови у мелких лабораторных животных весьма травматичны и не приводят к развитию геморрагического шока.

4. Предложенная оригинальная модель геморрагического шока проста в исполнении, отличается чистотой эксперимента.

5. Использование в эксперименте мелких лабораторных животных и отсутствие необходимости применения в процессе моделирования сложных устройств делает предложенную модель экономически выгодной.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Кулагин, В. К. Патологическая физиология травмы и шока / В. К. Кулагин. — М., 1978. — 296 с.
2. Ноздрачев, А. Д. Анатомия крысы (лабораторные животные) / А. Д. Ноздрачев, Е. Л. Поляков. — СПб., 2001. — 464 с.
3. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк [и др.]. — Киев, 1983. — 383 с.
4. Michael, W. M. Biological Effects of Blood Loss: Implication for Sampling Volumes and Techniques / W. M. Michael, N. R. Andrew // ILAR Journal. — 1989. — Vol. 31. — P. 4–8.
5. Tsukamoto, T. Animals Model for Trauma Reserch: What Are the Options? / T. Tsukamoto, P. H. Christoph // Shock. — 2009. — Vol. 31. 6 P. 3 – 10.
6. Лопухин, Ю. М. Экспериментальная хирургия / Ю. М. Лопухин. — М.: Медицина, 1971. — 343 с.
7. Пособие по токсикологии для лаборантов / О. Н. Елизарова [и др.]. — М.: Медицина, 1974. — 168 с.
8. Проблема нормы в токсикологии / И. М. Трахтенберг [и др.]. — М.: Медицина, 1991. — 203 с.
9. Шок. Классификация, шоковая клетка, патофизиология лечения / Ю. Шутеу [и др.] — Бухарест. Военное издательство, 1981. — 515 с.
10. Пальцев, М. А. Патологическая анатомия / М. А. Пальцев, Н. М. Аничков. — М.: Медицина, 2001. — 528 с.

Поступила 28.12.2012

УДК 611.343:614.876]-092.9

СИСТЕМНЫЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРНЫХ КОМПОНЕНТОВ ТОЩЕЙ КИШКИ БЕЛОЙ КРЫСЫ ПРИ ИНКОРПОРАЦИИ РАДИОНУКЛИДОВ

¹И. Л. Кравцова, ¹Н. Г. Мальцева, ²А. А. Артишевский

¹Гомельский государственный медицинский университет

²Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

В работе проведен системный анализ эндокриноцитов и других компонентов тощей кишки белых крыс, подвергшихся воздействию инкорпорированных радионуклидов. Выявлена динамика корреляционной структуры органа, заключающаяся в изменении числа, силы и направленности связей между признаками в биосистеме. Стрессовое состояние органа в начальный период характеризуется функциональной дезорганизацией системы связей. Развитие компенсаторных механизмов сопровождается увеличением числа связей, восстановлением показателя интеграции.

Ключевые слова: эндокриноциты, тонкая кишка, белая крыса, инкорпорированные радионуклиды, корреляционный анализ.

SYSTEMIC ANALYSIS OF JEJUNUM STRUCTURAL COMPONENTS IN WHITE RATS IN INCORPORATED RADIONUCLIDES

¹I. L. Kravtsova, ¹N. G. Maltseva, ²A. A. Artishevskiy

¹Gomel State Medical University

²Belarusian State Medical University, Minsk

The work deals with the systemic analysis of endocrinocytes and other components of jejunum in white rats affected by incorporated radionuclides. It also reveals the dynamics of the organ correlative structure which lies in the changing number, strength and direction of the intercorrelations between the signs in the biosystem. The stressive condition of the organ is characterized by functional disorganization of the system intercorrelations in the initial period. The development of the compensatory mechanism is associated with the increase in the number of relations and re-establishment of the integration index.

Key words: endocrinocytes, jejunum, white rat, incorporation radionuclide, correlative analysis.

Введение

Диффузная эндокринная система (ДЭС) играет важную роль в регуляции процессов гомеостаза организма. Ее клетки, расположенные в

эпителии желудка, тонкой, толстой кишки и панкреатических островках, составляют гастроэнтеропанкреатическую (ГЭП) систему [1]. Неосомненный прогресс в изучении диффузной эн-