

УДК 612.13:532.5.032

Н. А. Дмитренко¹, П. С. Ласачко², Ю. И. Седакова³

1 – Донецкий национальный университет, г. Донецк;

2 – Донецкий областной противоопухолевый центр, г. Донецк;

3 – Донецкий национальный медицинский университет, г. Донецк

ВЛИЯНИЕ НА ГЕМОДИНАМИКУ МИКРОДОБАВОК ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ПОЛИМЕРОВ ПРИ ВВЕДЕНИИ В ОРГАНИЗМ КРЫСЫ (IN VIVO)

Описано постановку экспериментов по перфузии задних конечностей крысы специальными растворами с добавлением в них высокомолекулярного линейного полимера полиокс WSR-301 в концентрациях от $5 \cdot 10^{-6}$ до $5 \cdot 10^{-5}$ (5–50 ppm). Приведена разработка измерительной установки и методики проведения экспериментов.

Ключевые слова: гидродинамически активные добавки, гемодинамика, снижение гидродинамического сопротивления, перфузия

Состояние вопроса

Возрастающая техногенная нагрузка приводит к сложной экологической ситуации, оказывающей влияние на увеличение заболеваний человека, зависящих, в том числе и от кровообращения.

Анализ научно-технической литературы, патентов и авторских свидетельств на изобретения, а также проведенные предварительные экспериментальные исследования позволяют сделать вывод о больших перспективах применения микродобавок гидродинамически активных полимеров при гемодинамических патологиях [1, 2]. Не смотря на важность проблемы и полученные исследователями положительные результаты, на сегодняшний день отсутствуют научно-технические основы применения микродобавок полимеров в кровеносных системах.

Многочисленные исследования движения крови, которые были предприняты за последние годы в условиях «чистого» физического эксперимента, стимулировали развитие теоретических работ в области гидродинамики крови. При этом на первый план выдвигается общая и весьма непростая проблема: как проявляются особенности движения крови, наблюдаемые в чистом лабораторном опыте, в сосудах живого организма и каково реальное физиологическое значение этих особенностей.

Цель исследования

Определены возможности компенсации вредных воздействий на живой организм за счет применения гидродинамически активных микродобавок для: 1) увеличения скоростей кровотока в живом организме и 2) уменьшения артериального давления. Использование добавок полимеров позволит улучшить функции системы кровообращения – доставку кислорода и других питательных веществ к органам и тканям тела, удаление от клеток продуктов их жизнедеятельности (метаболитов), что позволит значительно ускорить процессы восстановления нормальной работы органов после патологии, а также сократить время заживления ран, полученных в результате травматизма или операционного вмешательства.

© Дмитренко Н. А., Ласачко П. С., Седакова Ю. И., 2012

Разработка методики проведения экспериментов

К первым публикациям по определению влияния микродобавок гидродинамически активных полимеров на снижение гидродинамического сопротивления крови в кровеносных сосудах можно отнести работы, выполненные в НИИ механики и в лаборатории кафедры физиологии животных и человека Московского государственного университета [3]. Результаты исследований на белых крысах показали, что при введении в кровь животных высокомолекулярного полиэтиленоксида концентрацией $2 \cdot 10^{-5}$ г/см³ наблюдается значительное снижение кровяного давления. При этом снижение давления происходит сразу же после введения препарата.

Проведенная в ДонНУ предварительная работа [4] позволила в сотрудничестве с Донецким медицинским университетом приступить к исследованиям влияния полимерных добавок на гемодинамику кровотока при перфузии задних конечностей крыс.

Для экспериментов использовались крысы белые лабораторные, обоего пола, средних размеров, весом от 150 до 250 граммов. Крысы подвергались эфирному наркозу, в некоторых случаях для вводного наркоза использовался галотан (C₂HBrClF₃). На протяжении всего времени проведения эксперимента тщательно отслеживалось дыхание и сердцебиение подопытных крыс. По окончании измерений подопытные крысы подвергались эвтаназии при помощи галотана, в связи с тем, что при проколе внутренней подвздошной артерии и вены, остановка кровотечения из них и дальнейшая реабилитация, не смотря на теоретическую возможность, представляет практическую сложность и на данном этапе исследований технически трудно выполнима.

Предварительные измерения показали, что объем крови, возможный при заборе у одной особи без летального исхода, недостаточен для проведения эксперимента (обусловлено рабочим объемом разработанной измерительной установки – ~10 мл при полном заполнении системы). Эксперименты с забором крови у нескольких крыс показали, что при смешивании наблюдается повышенная свертываемость, что вероятно обусловлено несовместимостью групп крови. По результатам ряда опытов было принято решение на первых этапах использовать крове- и плазмозаменители. В процессе проведенных экспериментов задние конечности крысы перфузировались физиологическим раствором (NaCl) или раствором Рингера (отличается более сбалансированным набором солей), а также раствором гелофузина (плазмозамещающее средство на основе желатина).

В отличие от исследований в работе [5], в которых крысы предварительно умерщвлялись, разработанная методика позволяет проводить измерения *in vivo*. Вследствие смерти животного происходит парез сосудов – их тонус падает, что приводит к их расширению и упрощает измерения. Однако проведение экспериментов в «естественных» условиях дает больше возможностей для исследования научно-технических основ применения микродобавок полимеров в кровеносных системах.

На начальных этапах выполнения исследований была проверена возможность перфузии обеих задних конечностей *in vivo*, но более целесообразно проводить перфузию одной конечности, т. к. сосудистое русло такого контура получается более изолированным, имеет меньшее количество анастомозов с бассейнами других артерий, что приводит к меньшим потерям перфузирующего раствора и большей точности измерений. Все дальнейшие измерения проводились при перфузии одной задней конечности.

Общий вид установки приведен на рисунке 1. На уровне нижних поясничных сегментов в аорту вставлялся приемный катетер 1 (Volex Catheter (Cathy)/ Size: 24GX 3/4"/0,7x19mm; Flow Rate: 13 mL/min), через который поступала исследуемая жидкость 2 под заданным постоянным давлением. Предварительно исследуемый раствор выдерживался в термостатированном сосуде 3, в котором при помощи термостата 4 подогревался до температуры 37° С. Избыточное давление в сосуде создавалось с помощью компрессора 6 и контролировалось манометром 5 Romed (0-300 mm Hg/2 mm Hg). На том же уровне в нижнюю полую вену вставлялся отводящий катетер 10, соединенный с трубкой 9, по которой оттекающая жид-

кость направлялась к приемной емкости 8. Частоту падения капель регистрировали разработанным на физическом факультете ДонНУ электронным фотоэлектрическим датчиком 8. Время протекания определенного объема жидкости отмечали с помощью секундомера Casio HS-70W-1DF.

На этапе освоения методики было опробовано несколько различных вариантов доступа к внутренней подвздошной артерии и вене, а также определены некоторые технические особенности. Наиболее удобным путем доступа была признана срединная лапаротомия с переходом разреза на бедро в проекции бедренной артерии и вены. Визуализация данных сосудов целесообразна с двух позиций: 1) позволяет проверить правильность установки катетера путем визуального определения пульсации в дистальном участке сосуда; 2) при неудачной катетеризации в проксимальном отделе остается возможность осуществить ее на уровне бедренной артерии.

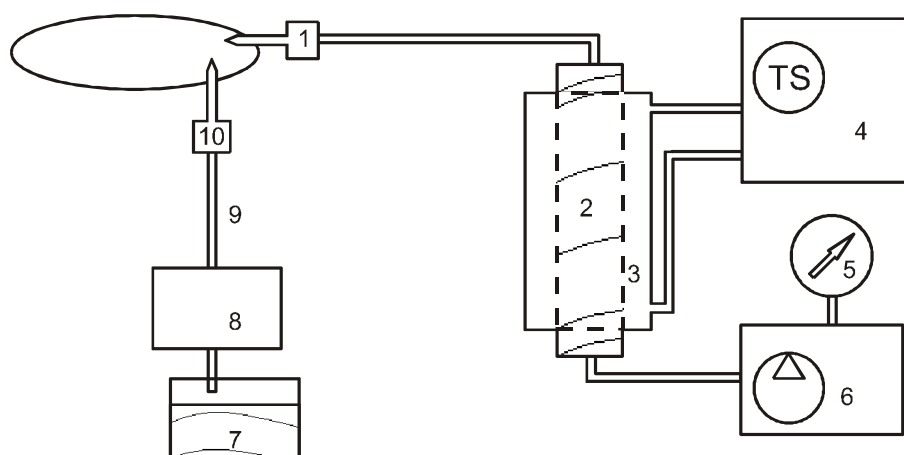


Рисунок 1 – Схема экспериментальной установки:

1 – приемный катетер; 2 – исследуемая жидкость; 3 – термостатированный сосуд;

4 – термостат; 5 – манометр; 6 – компрессор; 7 – приемная емкость;

8 – фотоэлектрический датчик; 9 – соединительная трубка (канюля); 10 – отводящий катетер

Для визуализации бифуркации нижней полой вены и аорты требуется дополнительная мобилизация, которую производили тупым способом при помощи небольших анатомических или офтальмологических пинцетов, клетчатка и мелкие фасции убирались марлевым шариком на зажиме. После выделения бифуркации указанных сосудов проводилась мобилизация нижележащих сосудов на всем протяжении.

Технически наиболее сложными для хирурга являются 2 этапа: первый – отделение общей подвздошной артерии от вены, без чего не представляется возможным провести дальнейшую катетеризацию и подвести под сосуд лигатуру для фиксации катетера. Данная манипуляция производилась тупым способом при помощи пинцетов, в редких случаях использовались тупоконечные сосудистые ножницы или остроконечные ножницы небольшого размера. Важно не зажимать стенку вены между рабочими частями пинцета во избежание повреждения сосуда. Стенка артерии более устойчива к травматизации, ни в одном наблюдении не было ее разрыва. Однократно наблюдали гематому стенки вследствие сильного сжатия, что не повлияло на ход эксперимента. После выделения артерии и вены под них проводятся шелковые лигатуры № 3.

При установке катетеров важна последовательность действий: хирургу-правше при катетеризации сосудов правой конечности в направлении на себя следует начинать с артерии, т. к. она располагается латерально. В противном случае, уже установленный катетер будет препятствовать постановке второго. В обратном порядке следует поступить при катетеризации сосудов левой конечности. Сосуд наиболее удобно фиксировать путем растягивания на пинцете.

Катетеризация является вторым, наиболее сложным и ответственным моментом и требует большой точности. Непосредственно перед данным этапом следует проверить, достаточно ли в глубоком наркозе находится животное. Проводник катетера следует предварительно разработать, достав несколько раз и вставив обратно в канюлю. Во время нахождения в сосуде, ассистент должен извлекать проводник с большой осторожностью, при помощи расшатывающих боковых движений.

При успешном попадании в просвет сосуда происходит заброс крови в катетер, который с одной стороны, позволяет говорить о правильной его установке, а с другой стороны может приводить к тромбированию просвета катетера, что наблюдалось в нескольких первых опытах. Для предотвращения образования тромбов, после фиксации катетера, его необходимо промыть при помощи инсулинового шприца, который оставляют в просвете катетера, тем самым предотвращая дальнейший заброс. Аналогично поступают со вторым сосудом, после чего переходят к измерительной части эксперимента.

Для устойчивых измерений и обеспечения приемлемой скорости кровотока, в емкость с исследуемым раствором подается избыточное давление. Проходимость системы раствором начиналась при давлении в емкости от 60 мм рт. ст., а устойчивое течение (равномерное падение капель) – при 90 мм рт. ст., при этом расход составил 3 мл/мин. В работе [5] измерения проводились в диапазоне от 40 до 120 мм рт. ст., при этом исходный «кровоток» был в 2–5 раз выше полученных нами результатов, что объясняется отсутствием центральных регуляторных влияний у предварительно забитой крысы и максимальным расширением сосудов ацетилхолином. В нашем случае, проведение измерений на крысах *in vivo* даёт возможность сравнить реакцию организма с физиологической нормой, а также выполнять измерения при давлениях, которые сопоставимы с давлениями в артериях человека.

Проведение тестовых экспериментов

В процессе постановки экспериментов нами были выделены основные этапы проведения измерений. Они отображены на схеме, представленной на рисунке 2.

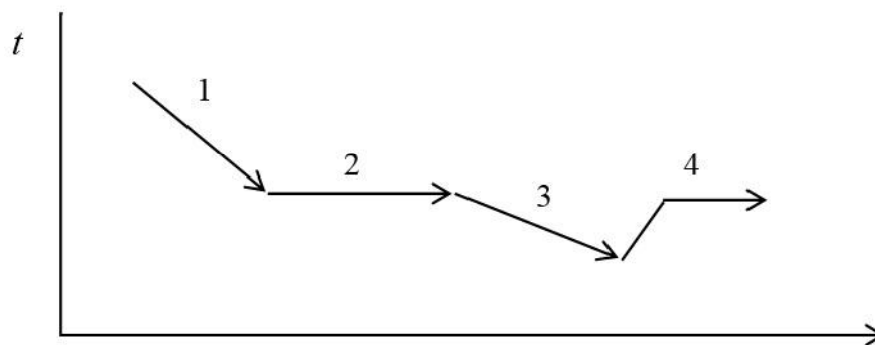


Рисунок 2 – Этапы проведения измерений:

1 – установочный; 2 – контрольный; 3 – ожидаемый; 4 – контрольный дополнительный

На этапе 1 подаваемый раствор смешивается с оставшейся кровью в основных и периферийных сосудах, замещая ее. Концентрация крови и общая вязкость смешанных с ней растворов постепенно уменьшается, соответственно, сокращается время прохождения контрольного объема исследуемой жидкости через систему. Этап 2 характеризуется установившимся режимом течения раствора, в котором проводится серия контрольных замеров, после чего необходимо переходить к этапу 3 – добавлению полимера в перфузат с результирующей концентрацией полиокса в перфузате $1,5 \cdot 10^{-5} \div 1 \cdot 10^{-4}$ (15–100 ppm). Во время четвертого этапа измерений через систему вновь пропускают «чистый» перфузат для дополнительного контроля эффекта.

В проведенных экспериментах числа Рейнольдса, вычисленные по диаметру выходного катетера и расхода оттекающей жидкости, находились в пределах 30–60 для физраствора и 15–25 для гелофузина. Вязкость исходного перфузата и после добавления в него полиокса контролировали с помощью капиллярного вискозиметра ВПЖ-2. Добавление полиокса в концентрации $1,5 \cdot 10^{-5}$ и $5 \cdot 10^{-5}$ вязкость перфузата (физраствор, раствор Рингера) практически не изменяло (изменение вязкости не регистрировалась имеющимися средствами измерения). Вязкость гелофузина при добавлении полиокса концентрации 55 ppm, разведенного на основе физиологического раствора, изменялась в пределах 7–9 %.

На рисунке 3 приведен один из примеров измерений при перфузии задней конечности крысы раствором гелофузина чистого и с добавлением полиокса в концентрации 50 ppm. На графике увеличение расхода наблюдается практически сразу после введения микродобавки, кроме того, прослеживается снижение разброса значений: истечение перфузата становится более равномерным.

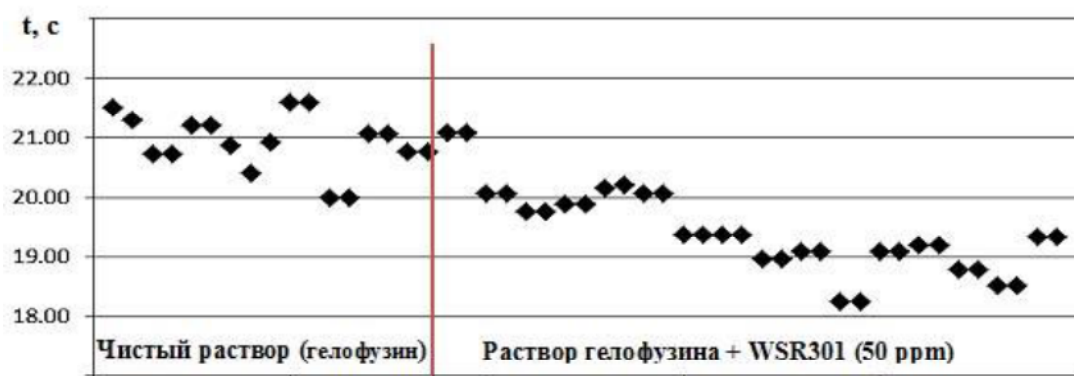


Рисунок 3 – Время истечения 1,5 мл гелофузина без и с добавкой полиокса

Выводы

Разработана методика и экспериментальная установка для вредных воздействий окружающей среды, изучено влияние на живой организм, в частности, изменение гемодинамики крови. Методика позволяет производить множественные измерения, необходимые для наработки статистических данных по изучению влияния на гемодинамику микродобавок высокомолекулярных полимеров при введении их в организм крысы *in vivo*.

Список литературы

1. Научная школа Ивана Лукича Повха: монография / под общ. ред. Ступина А. Б. – Донецк: ДонНУ, 2009. – 318 с.
Nauchnaya shkola Ivana Lukicha Povkha: monografiya (Ivan Lukich Povkh scientific school: monograph) / pod obshch. red. Stupina A. B. – Donetsk: DonNU, 2009. – 318 s.
2. Отчет о НИР «Применение гидродинамически активных микродобавок для увеличения скорости кровотока в живом организме» (промежуточный) / научный руководитель А. Б. Ступин. – Донецк: ДонНУ, 2011. – 67 с.
Otchet o NIR "Primeneniye gidrodinamicheski aktivnykh mikroobavok dlya uvelicheniya skorosti krovotoka v zhivom organizme" (promezhutochnyy) (Report on the scientific and research work "The use of hydrodynamically active microadditives for increasing the blood flow velocity in the living organism" (intermediate) / nauchny rukovoditel A. B. Stupin. – Donetsk: DonNU, 2011. – 67 s.
3. О влиянии растворимых в крови высокомолекулярных соединений на гемодинамику / С. С. Григорян, М. В. Каменева, А. А. Шахназаров и др. // докл. АН СССР. – 1977. – Т. 236. – С. 319–320.
O vliyaniy rastvorimyykh v krovi vysokomolekulyarnyykh soedineniy na gemodinamiku (Concerning the effect of blood-soluble high molecular compositions on hemodynamics) / S. S. Grigoryan, M. V. Kameneva, A. A. Shakhnazarov i dr. // dokl. AN SSSR. – 1977. – T. 236. – S. 319–320.

4. Влияние добавок высокомолекулярных полимеров на гемодинамику: материалы научовой конференції професорсько-викладацького складу, наукових співробітників і аспірантів Донецького національного університету за підсумками науково-дослідної роботи за період 2009–2010 рр / Г. В. Бондарь, А. В. Ступин, Р. В. Ищенко и др. – Донецьк: Цифрова типографія, 2011. – Т.1. – С. 123–124.

Vliyanie dobavok vysokomolekulyarnykh polimerov na gemodinamiku: materialy naukovoi konferentsii profesorsko-vykladatskogo skladu, naukovykh spivrobitnykiv i aspirantiv Donetskogo natsionalnogo universytetu za pidsumkamy naukovo-doslidnytskoi roboty za period 2009–2010 rr. (The effect of high molecular polymers on hemodynamics: the proceedings of scientific conference of the faculty, the scientific officers and the postgraduate students of Donetsk National University according to the results of research work in a period of 2009–2010) / G. V. Bondar, A. V. Stupin, R. V. Ishchenko i dr. – Donetsk: Tsifrova typografiya, 2011. – T.1. – S. 123–124.

5. О снижении гидродинамического сопротивления при перфузии задних конечностей крысы полимерным раствором / С. С. Григорян, М. В. Каменева, О. Д. Мещерякова и др. // докл. АН СССР. – 1978. – Т. 241. – № 2. – С. 316–317.

O snizhenii gidrodinamicheskogo soprotivleniya pri perfuzii zadnikh konechnostey krysy polimernym rastvorom (Concerning the reduction of hydrodynamical resistance on perfusion of hind legs of the rat using polymer solution) / S. S. Grigoryan, M. V. Kameneva, O. D. Meshcheryakova i dr. // dokl. AN SSSR. – 1978. – T. 241. – № 2. – S. 316–317.

Рецензент: д-р техн. наук, проф. С. П. Висоцький, АДІ ДонНТУ.

Стаття надійшла до редакції 24.12.12

Н. О. Дмитренко¹, П. С. Ласачко², Ю. І. Седакова³

1 – Донецький національний університет, м. Донецьк;

2 – Донецький обласний протипухлинний центр, м. Донецьк;

3 – Донецький національний медичний університет, м. Донецьк

Вплив на гемодинаміку мікродобавок високомолекулярних полімерів при введенні в організм щура

Застосування гідродинамічно активних полімерів при гемодинамічних патологіях має великі перспективи. Мета досліджень: розробка науково-технічних основ застосування мікродобавок полімерів у кровоносних системах.

Розглянуто методику й постановку експериментів з перфузії задніх кінцівок щура спеціальними розчинами з додаванням до них високомолекулярного лінійного полімеру Wsr-301 в концентраціях від $5 \cdot 10^{-6}$ до $5 \cdot 10^{-5}$ (5–50 рт); розробку вимірювальної установки.

ГІДРОДИНАМІЧНО АКТИВНІ ДОБАВКИ, ГЕМОДИНАМІКА, ЗНИЖЕННЯ ГІДРОДИНАМІЧНОГО ОПОРУ, ПЕРФУЗІЯ

N. A. Dmytrenko¹, P. S. Lasachko², Yu. I. Sedakova³

1 – Donetsk National University, Donetsk;

2 – Donetsk Regional Antineoplastic Centre, Donetsk;

3 – Donetsk National Medical University, Donetsk

High Molecular Polymers Effect on Microadditives Haemodynamics when Injected to Rat (In Vivo)

The increasing man-caused impact results in a complicated ecological situation which affects the increase of human diseases depending also from blood circulation. The use of hydrodynamically active polymers in case of hemodynamic pathology has great prospects. The purpose of the present study is to develop the scientific and technical bases of use polymer microadditives in blood circulatory systems.

The method and experimental technique on perfusion of hind limbs of a rat with the help of the solution by adding into it WSR-301 high molecular linear polymer in the concentration of $5 \cdot 10^{-6}$ to $5 \cdot 10^{-5}$ (5–50 рт) are considered. The measuring equipment development is also considered. The developed method allows to do multiple measuring required for statistical data operating on study of the high molecular polymers effect on microadditives hemodynamics when injected to the rat (in vivo). The difference from the previous works consists in conducting measurements on rats in vivo (not in vitro) which allows to compare the reaction of the organism with the physiological norm and to conduct measurements at pressures compared with pressures in human arteries.

HYDRODYNAMICALLY ACTIVE ADDITIVES, HAEMODYNAMICS, HYDRODYNAMIC RESISTANCE DECREASE, PERFUSION