



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

Статус: действует (последнее изменение статуса: 28.07.2014)
Пошлина: не взимаются - статья 1366 ГК РФ

На основании пункта 1 статьи 1366 части четвертой Гражданского кодекса Российской Федерации патентообладатель обязуется заключить договор об отчуждении патента на условиях, соответствующих установившейся практике, с любым гражданином Российской Федерации или российским юридическим лицом, кто первым изъявил такое желание и уведомил об этом патентообладателя и федеральный орган исполнительной власти по интеллектуальной собственности.

(21)(22) Заявка: [2013135366/14](#), 26.07.2013

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
26.07.2013

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 26.07.2013

(45) Опубликовано: [27.07.2014](#) Бюл. № 21

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: САБИРОВ А.Г. и др. Модификация метода экспериментальной ахалазии у крыс и анализ его эффективности. Казанский медицинский журнал, 2009, Т. 90, N2, С. 282-284. RU 2318247 С, 27.02.2008. RU 2241392 С1, 10.12.2004. RU 2432961 С1, 10.11.2011. EA 1406 В1, 26.02.2001. SINGARAM С et al. Evaluation of early events in the creation of amyenteric opossum

model of achalasia. Neurogastroenterol Motil. 1996 Dec;8(4):351-61. VESPUCIO MV et al. A new experimental model to study preneoplastic lesions in achalasia of the esophagus Acta Cir Bras. 2005 Nov-Dec;20(6):418-21

Адрес для переписки:

634050, г.Томск, Московский тракт, 2, СибГМУ,
Отдел ИС и В, Зубаревой Н.Г.

(72) Автор(ы):

Кошель Андрей Петрович (RU),
Алексеев Владимир Александрович (RU),
Клоков Сергей Сергеевич (RU),
Завьялова Марина Викторовна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Кошель Андрей Петрович (RU),
Алексеев Владимир Александрович (RU),
Клоков Сергей Сергеевич (RU),
Завьялова Марина Викторовна (RU)

(54) СПОСОБ МОДЕЛИРОВАНИЯ АХАЛАЗИИ КАРДИИ

(57) Реферат:

Изобретение относится к экспериментальной медицине, а именно к экспериментальной хирургии, и может быть использовано для моделирования ахалазии кардии. Способ включает верхнесрединную лапаротомию, обеспечение доступа к нижней трети пищевода и последующее введение раствора бензалкония хлорида в область гастроэзофагеального перехода. При этом указанный реагент вводят посредством инъекций в концентрации 0,02% в 4 точки, расположенные на 3, 6, 9 и 12 часах в проекции кардиального сфинктера, объемом 0,2-0,3 мл на каждую точку введения. 8 ил.

Изобретение относится к экспериментальной медицине, а именно к экспериментальной хирургии, и может быть использовано для моделирования ахалазии кардии.

В связи с трудностями создания «искусственной» ахалазии кардии описано мало способов моделирования данного заболевания.

Известен способ моделирования ахалазии [А. Etzel (1942)], заключающийся в лигировании пищевода собаки у места перехода в желудок, суживая его просвет на $2/3$. Через 4 месяца наблюдалось резкое супрастенотическое расширение пищевода. Известен способ моделирования [Шалимов С.А. с соавт., 1989], при котором накладывали пластмассовое кольцо, которое плотно охватывало, но не сдавливало пищевод, на кардиоэзофагеальный переход у 6-8 месячных щенков. По мере роста животного стеноз нарастал, что приводило к развитию супрастенотического расширения, достигающего к году значительных размеров. При этом следует отметить, что в обоих случаях интрамуральный нервный аппарат пищевода оставался интактным.

Известен способ моделирования ахалазии кардии [К. Alnor, 1956], включающий обнажение торакоабдоминальным доступом кардиального отдела желудка у собак, затем охлаждение его струей углекислоты из баллона или обкладывание на 2-3 мин сухим льдом. В результате ткани пищевода и кардиального отдела желудка промерзали, в зоне воздействия нарушалось кровообращение, возникала циркуляторная и тканевая гипоксия и появлялись очаги некробиоза, эти нарушения приводили к дегенеративным изменениям во внутривисцеральных нервных сплетениях, и через 3-9 месяцев после операции у подопытных животных развивалась типичная картина ахалазии кардии.

Известен способ моделирования ахалазии кардии у лабораторных животных [Н. Corelli, 1957] после механического сдавления эзофагокардиальной области и длительной ишемии участка пищевода. Известен способ моделирования [F. Koble и соавт. 1958], путем заражения собак культурой трипаномы Круса, токсин трипаномы вызывал в интрамуральном нервном сплетении дегенеративные изменения, аналогичные наблюдавшимся при ахалазии кардии, и таким образом добивались возникновения у них кардиоспазма [1].

Однако вышеуказанные способы моделирования ахалазии кардии имеют следующие недостатки:

- необходимость длительно содержать собак, что требует специально оборудованных клеток и вивария, а соответственно и высокой стоимости эксперимента;
- при механическом воздействии на кардиоэзофагеальный переход нет морфологического субстрата ахалазии, а именно повреждения нервных ганглиев области кардии;
- относительная сложность оперативных вмешательств увеличивающая операционный риск и соответственно послеоперационную летальность экспериментальных животных.

Наиболее близким к предлагаемому является способ моделирования ахалазии кардии у крыс, предложенный в 2009 году Л.Г. Сабировым и соавт [2]. Выполнялась верхнесрединная лапаротомия, после обеспечения доступа к нижней трети пищевода, под мобилизованный сегмент подкладывался протектор из плотного полиэтилена, предотвращающий растекание бензалкония хлорида по брюшной полости. После чего, на пищевод апплицировалась марлевая турунда, которую в течение 30 минут смачивали 0,2% раствором бензалкония хлорида.

Моделирование ахалазии кардии на крысах наиболее удобный способ создания экспериментальной модели, т.к. они имеют пищеварительный тракт, схожий с человеческим, питаются продуктами органического происхождения, их содержание не требует особых условий и больших затрат на экспериментальную работу.

Недостатками вышеуказанного способа являются длительность выполнения оперативного вмешательства, сохранение опасности попадания нейротоксина на окружающие ткани, что может вызвать повреждение их нервных сплетений, а также интоксикацию животного и летальный исход, которые обусловлены высокой абсорбирующей способностью брюшины.

Новый технический результат - упрощение способа, снижение числа осложнений, вызванных попаданием реагента на окружающие ткани, уменьшение количества и дозы нейротоксина и анестетиков, а соответственно, снижение летальности на фоне передозировки вышеуказанных препаратов, сокращение времени операции в среднем с 40 мин при аппликационном способе введения нейротоксина до 15 мин и длительности эксперимента с 40 суток до 30 суток.

Для решения поставленной задачи в способе моделирования, включающем верхнесрединную лапаротомию, с обеспечением доступа к нижней трети пищевода с последующим введением раствора бензалкония хлорида в область гастроэзофагеального перехода, указанный реагент вводят посредством инъекций в концентрации 0,02% в 4 точки, расположенные на 3, 6, 9 и 12 часах в проекции кардиального сфинктера объемом 0,2-0,3 мл на каждую точку введения.

Способ осуществляют следующим образом.

Используют белых крыс линии Вистар массой тела 150-200 г. Анестезиологическое пособие обеспечивают посредством использования анестетика золетил 100 и миорелаксанта рометар в дозировке по от 0,2 до 0,3 мл в зависимости от размеров и массы животного. Шерсть на животе выстригают. После наркотизации выполняют фиксацию животного на операционном столе, лапаротомию, осуществляют доступ к кардиальному отделу желудка. Затем в операционную рану выводят гастроэзофагеальный комплекс, отграничивают область интереса салфетками с целью предупреждения попадания нейротоксина на окружающие ткани и инсулиновым шприцом вводят раствор бензалкония хлорида 0,02% объемом 0,2-0,3 мл внутримышечно в 4 точки: на 3, 6, 9 и 12 часах в проекции кардиального сфинктера. Затем удаляют салфетки из брюшной полости и послойно ушивают рану.

Доза, кратность и место введения были подобраны эмпирически, что позволило

снизить гибель животных и сократить время формирования модели. Доза ниже указанной была не эффективной для формирования модели.

Животные выводились из эксперимента на 1, 3, 15, 30, 60-е сутки после первичного вмешательства для забора гистологического материала путем внутримышечного введения анестетика золетил 100 в количестве 1 мл. После введения анестетиков выполнялась релaparотомия, визуально оценивалось и фиксировалось с помощью фотоаппаратуры состояние верхнего этажа брюшной полости, после чего извлекался органокомплекс, включающий в себя желудок с кардиоэзофагеальным переходом и $n/3$ пищевода.

Полученные в ходе эксперимента макро- и микроскопические данные сравнивались с гистологической картиной пищеводно-кардиального перехода у 2-х интактных крыс, которые составили контрольную группу.

Результаты эксперимента изучались на основании гистологического исследования на препаратах, изготовленных по стандартной методике и окрашенных гематоксилином и эозином. При этом оценивался ряд признаков:

- состояние выстилающего эпителия, наличие и выраженность лимфоплазмочитарной инфильтрации стромы слизистой оболочки (нет, слабо, умеренно, резко выраженная);
- наличие и выраженность межэпителиальной лимфоидной инфильтрации (нет, слабо, умеренно, резко выраженная);
- количество подслизистых и межмышечных нервных ганглиев (при увеличении $\times 400$ в 10 полях зрения);
- наличие и выраженность дистрофических изменений в клетках нервных ганглиев (Фиг.1-8).

Получены следующие результаты.

В группе контроля видимых изменений со стороны серозной оболочки желудка и адвентиции пищевода в зоне гастроэзофагеального перехода нет. При изучении гистологической картины имела слабовыраженная лимфоплазмочитарная инфильтрация стромы. В подслизистых и межмышечных нервных ганглиях дистрофических изменений не выявлено (Фиг.1, Фиг. 2).

У оперированных крыс макроскопически при заборе материала обращал на себя внимание спаечный процесс в области кардиоэзофагеального перехода с вовлечением окружающих тканей, у одной из крыс в месте инъекции бензалкония хлорида обнаружена гранулема до 0,5 см диаметром. Начиная с 30-х суток, пищевод был несколько расширен выше места инъекций: $3\pm 0,47$ мм в сравнении с диаметром до операции $2,66\pm 0,38$ мм, $p=0,05$.

На 10 сутки в пищеводно-желудочном переходе гиперплазия эпителия, акантоз, дисплазия 2 степени. Лимфоплазмочитарная инфильтрация выражена слабо, признаков межэпителиальной лимфоидной инфильтрации не выявлено. Нервные ганглии в подслизистом слое отсутствуют. В мышечном слое один нервный ганглий с резко выраженными дистрофическими изменениями клеток (Фиг.3, Фиг.4).

На 30-е сутки в области пищеводно-желудочного перехода эпителиальный слой без особенностей, слабо выраженная лимфоплазмочитарная инфильтрация стромы, лимфоидной межэпителиальной инфильтрации нет. Визуализируется один нервный подслизистый ганглий с резко выраженными дистрофическими изменениями. Межмышечных нервных ганглиев нет (Фиг.5).

На 60-е сутки эпителий без особенностей, слабо выраженная лимфоплазмочитарная инфильтрация стромы, межэпителиальной лимфоидной инфильтрации нет. Нервных подслизистых ганглиев нет. Имеется два межмышечных нервных ганглия с резко выраженными дистрофическими изменениями (Фиг.6, Фиг. 7, Фиг.8).

Таким образом, предлагаемый способ обладает следующими преимуществами:

- выполнение хирургического вмешательства не требует от хирурга специальных оперативных навыков;
- нет необходимости в сложном оборудовании и специальном хирургическом инструментарии;
- вероятность осложнений, вызванных попаданием реагента на окружающие ткани, сведена к минимуму;
- количество бензалкония хлорида, необходимого для одной операции, не превышает 1,2 мл;
- время операции не превышает 15 минут. Малая длительность оперативного вмешательства позволяет снизить количество анестетика и миорелаксанта, а уменьшение дозы нейротоксина, анестетика и миорелаксанта, соответственно, уменьшают летальность на фоне передозировки;
- длительность создания экспериментальной модели равна 30 суткам, что значительно меньше по сравнению с ранее описанными способами.

Источники информации, принятые во внимание при составлении описания

1. Шалимов С.Л., Радзиховский А.П., Кейсевич Л.В. Руководство по экспериментальной хирургии. - М.: Медицина, 1989.

2. Сабиров Л.Г., Бурмистров М.В., Мухамедьяров М.А. и др. Модификация метода экспериментальной ахалазии у крыс и анализ его эффективности // Казанский медицинский журнал, 2009 г., том 90, №2., стр. 282-284.

Формула изобретения

Способ моделирования ахалазии кардии, включающий верхнесрединную лапаротомию с обеспечением доступа к нижней трети пищевода и последующее введение раствора бензалкония хлорида в область гастроэзофагеального перехода, отличающийся тем, что указанный реагент вводят посредством инъекций в концентрации 0,02% в 4 точки, расположенные на 3, 6, 9 и 12 часах в проекции кардиального сфинктера объемом 0,2-0,3 мл на каждую точку введения.

[Увеличенное изображение \(открывается в отдельном окне\)](#)



[Увеличенное изображение \(открывается в отдельном окне\)](#)



[Увеличенное изображение \(открывается в отдельном окне\)](#)

[Увеличенное изображение \(открывается в отдельном окне\)](#)

[Увеличенное изображение \(открывается в отдельном окне\)](#)

[Увеличенное изображение \(открывается в отдельном окне\)](#)

[Увеличенное изображение \(открывается в отдельном окне\)](#)

[Увеличенное изображение \(открывается в отдельном окне\)](#)