УДК 617-089.844

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ ПРОВЕДЕНИЯ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЭКСПЕРИМЕНТА НА СВИНЬЯХ

[1]Евдокимов С.В., [2,5]Баулин А.В., [3]Евдокимов М.Е., [3]Серов Е.С., [4]Баряев Г.И., [5]Головин И.А., [6]Ефимова И.В., [2]Середин А.С.

[1]ЗАО НПП «МедИнж», Пенза;
[2]ФГБОУ ВПО «Пензенский государственный университет», Пенза;
[3]ФГБУ «Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии», Пенза;
[4]ФГБОУ ВПО «Пензенская государственная сельскохозяйственная академия», Пенза;
[5]Ветеринарная клиника «Доктор Зоо», Пенза;
[6]ООО «Центр доклинических исследований», Пенза, e-mail: bigbaul@gmail.com

Изучена возможность проведения экспериментальных хирургических вмешательств на свиньях по доклинической апробации изделий и материалов медицинского назначения. Анализированы результаты первых 40 операций, проведенных под общей анестезией. В эксперименте произведены операции по имплантации искусственного клапана сердца в условиях искусственного кровообращения, операции на крупных сосудах, структурах головного мозга, костях и мягких тканях. Отражены общие вопросы подготовки животного к хирургической операции, проведения анестезии и наблюдения в послеоперационном периоде.

Ключевые слова: экспериментальная хирургия, доклинические исследования, биологическая модель

SOME FEATURES ORGANISATION OF SURGICAL EXPERIMENTS ON PIGS

[1]Evdokimov S.V., [2,5]Baulin A.V., [3]Evdokimov M.E., [3]Serov E.S., [4]Baryaev G.I., [5]Golovin I.A., [6]Efimova I.V., [2]Seredin A.S.

[1]Research and Production Enterprise «MedEng», Penza;
[2]Penza State University, Penza;
[3]Federal Center of Cardiovascular Surgery, Penza;
[4]Penza State Agricultural Academy, Penza;
[5]Veterinary Clinic «Doctor Zoo», Penza;
[6]Center of Preclinical Studies Ltd., Penza, e-mail: bigbaul@gmail.com

Was explored the possibility of performing experimental operations in pigs for preclinical testing of products and medical supplies. Analyzed the results of the first 40 operations carried out under general anesthesia. In the experiments was performed several operations on the heart with implant an artificial heart valve with cardiopulmonary bypass, operations on large vessels, operations on the brain structures, operations on the bones and soft tissues. Reflect the general issues of preparation of the animal for surgery, anesthesia and monitoring in the postoperative period.

Keywords: experimental surgery, preclinical studies, biological models

Доклинические исследования – достаточно сложный и затратный как с экономической, так и с научно-практической точки зрения процесс, требующий не только правильного подхода к подбору экспериментальных животных, но и к оснащению самой лаборатории или вивария, где будут проводиться исследования.

В качестве биологической модели свиньи уже достаточно давно привлекают внимание многих исследователей в разных странах [2]. Выведение и использование специальных пород свиней связано с тем, что по строению и функции ряда органов и систем данное животное во многом схоже с человеком. Большинством исследовательских центров предпочтение отдано использованию так называемых миниатюрных пород свиней (в РФ – минисибс, светлогорские свиньи), поскольку указанные породы максимально адаптированы к содержанию в условиях вивария и это содержание сопряжено с меньшими затратами на проведение эксперимента [1].

В рамках программы развития группы компаний «МедИнж» в 2014 году был создан «Центр доклинических исследований», как экспериментальная площадка по апробации новых изделий, производимых компанией «МедИнж» и ее дочерними структурами, разработке новых медицинских технологий и способов лечения больных кардио-, ангио-, нейро-, общехирургического, травматолого-ортопедического и стоматологического профиля. Основной биологической моделью для проведения экспериментальных исследований выбрана свинья. Приступая к экспериментальной работе, мы

столкнулись с проблемой отсутствия сколь-либо подробной информации об анестезиологическом обеспечении при продолжительных и травматичных вмешательствах в отечественных источниках. Опыт наших зарубежных коллег главным образом базировался на экспериментах с миниатюрными породами свиней. Что же касается проведения операций на открытом сердце в условиях искусственного кровообращения, то подобным опытом располагают лишь немногие исследовательские центры не только в нашей стране, но и в мире [3].

Цель исследования. Определить возможности использования крупных пород свиней в хирургическом эксперименте. Основная задача исследования – определение возможности выполнения экспериментальных операций на открытом сердце, что продиктовано спецификой деятельности НПП «МедИнж». Кроме того, определенный интерес представляют исследования в области нейрохирургии, травматологии и ортопедии, реконструктивно-восстановительной хирургии, по которым ведется активная научно-исследовательская и опытно-конструкторская работа, направленная на разработку и внедрение в клиническую практику имплантов различного как происхождения, так и назначения. Очевидно, что подобные исследования возможны исключительно в условиях общей анестезии.

Материалы и методы исследования

Экспериментальные исследования проведены на базе центра доклинических исследований группы компаний «МедИнж». Центр доклинических испытаний (далее ЦДкИ) является научным и исследовательским центром, предоставляющим свои услуги по проведению медико-биологических экспериментов научным организациям, а так же юридическим и физическим лицам. В своей работе ЦДкИ руководствуется правилами гуманного обращения с лабораторными (экспериментальными) животными в соответствии с «Хельсинкской Декларацией» Всемирной Медицинской Ассоциации от 2000 года, основными морально-этическими принципами проведения биомедицинских экспериментов на животных, сформулированными Международным советом медицинских научных обществ (CIOMS), «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» Этического Кодекса от 1985 года, «Санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» № 1045-73 от 6.04.1973 г., «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации» (GLP), утвержденными Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 267 от 19.06.2003, а так же локальными актами Этического комитета центра доклинических исследований.

В эксперименте нами использованы свиньи пород «Крупная белая» и «Белорусская черно-пестрая» обоего пола, как наиболее распространенной в РФ, в возрасте от 6 до 12 месяцев и весом от 70 до 110 кг. Данные возрастные и весовые характеристики являются наиболее приемлемыми для проведения экспериментальных исследований, в рамках которых планируется выполнение сложных хирургических вмешательств на органах грудной и брюшной полостей, а так же ЦНС, сосудах и опорно-двигательном аппарате.

За 3-5 дней до назначенного эксперимента животное переводили из места общего содержания в отдельный изолированный бокс. В случае если во время эксперимента прогнозировали большую кровопотерю требовался перевод животного в индивидуальный бокс не позднее чем за 14 дней до даты эксперимента, что связано с необходимостью заготовки аутокрови.

В течение первых суток исследовали общий статус животного. Проводили термометрию, исключали совместно с ветеринарами возможные скрытые или явные заболевания. В обязательном порядке животное взвешивали. Проводили исследование общего анализа крови. Не позднее чем за 12 часов до начала эксперимента животное ограничивали в приеме пищи с сохранением достаточного количества воды с целью профилактики обезвоживания. для профилактики возможного образования острых язв ЖКТ назначали блокаторы протонной помпы (омепразол 20-40 мг 1 раз в сутки).

Санитарно-гигиеническую обработку животного проводили за 1,5-2 часа до операции. Адекватная обработка животного требует полного обездвиживания, что достигается введением животного в медикаментозный сон.

Медикаментозный сон (вводная анестезия) является самой важной и ответственной частью на этапе подготовительных мероприятий. В ЦДкИ для обеспечения медикаментозного сна нами применялась комбинация препаратов ветеринарного назначения (ксилазин и золетил) с препаратами, хорошо известными в анестезиологической практике (пропофол).

После введения ксилазина и золетила в стандартных для вида дозировках, и достижения обездвиживания животного проводили пункцию и катетеризацию вены на ухе. Венозный доступ необходим для поддержания медикаментозного сна, что достигается болюсным внутривенным введением пропофола (60-100 мг) с интервалами в 10-15 минут, а так же по необходимости в случае появления признаков пробуждения животного.

Непосредственно гигиеническая обработка животного предусматривала помывку от загрязнений, а так же первичную подготовку операционного поля (сбривание щетины в зоне вмешательства и обработка кожи моющими средствами и антисептическими растворами).

По завершении санитарно-гигиенической обработки животное доставляли в операционный блок ЦДкИ. Поддержание животного в состоянии медикаментозного сна до начала активных мероприятий осуществляли введением раствора пропофола через инфузомат в установленный венозный катетер со скоростью 0,25 – 0,5 мл на кг веса животного в час.

В операционной животное укладывали на операционный стол на спину и фиксировали за конечности ремнями. Такое положение нами было выбрано как наиболее функционально выгодное для проведения

подготовительных мероприятий в условиях операционной. Анестезиологическая и вспомогательная операционная бригады налаживали полноценный мониторинг состояния животного на время операции, для чего устанавливали на ухо датчик пульсоксиметра, интраназально вводили датчик температуры, выполняли пункцию и катетеризацию центральной (яремной) вены для проведения инфузионно-трансфузионной терапии и контроля центрального венозного давления, пункцию и катетеризацию мочевого пузыря, установку электродов для снятия ЭКГ, трахеостомию с введением в трахею интубационной трубки и перевод животного на ИВЛ, пункцию и катетеризацию бедренной артерии для последующего мониторинга артериального давления.

Таким образом, подготовка животного к операции нами была разделена на два этапа. Первый этап («грязный») – санитарно-гигиенический, который проводят в условиях индивидуального изолированного бокса и заключается в введении анестетиков для обездвиживания животного (вводный наркоз) с последующим поддержанием медикаментозного сна, а так же непосредственно в проведении санитарно-гигиенической обработки. Второй этап проводят в асептических условиях, и он включает выполнение манипуляций по обеспечению мониторинга за экспериментальным животным, а так же начало проведения общей анестезии и ИВЛ.

Общую анестезию достигали посредством комбинированного эндотрахеального наркоза, включающего применение ветеринарных препаратов (золетил и ксилазин) в сочетании с такими препаратами как пропофол, изофлюран, ардуан в стандартных дозировках. Наш опыт проведения анестезии показал, что продолжительность действия указанных препаратов у свиньи значительным образом отличается от такового у человека. Так, продолжительность действия такого миорелаксанта как ардуан, не превышала 10-15 минут, что требовало более частого дробного введения препарата и тщательного контроля за состоянием мышечного тонуса животного, особенно при выполнении вмешательств на открытом сердце, а так же при выполнении чреспищеводной ЭхоКГ.

Если во время операции предполагали большую кровопотерю или планировали проведение кровяной кардиоплегии, то за 14-17 дней до эксперимента производили забор аутокрови. После предварительной санитарной подготовки животного, в асептических условиях, под общей анестезией выполняли пункцию и катетеризацию яремной вены справа или слева. Непосредственно забор крови осуществляли по стандартной технологии с применением комплекта «Гемакон» в объеме 350-400 мл, с возмещением объема циркулирующей крови коллоидными и кристаллоидными растворами. После процедуры осуществляли контроль показателей общего анализа крови через 5-7 дней и непосредственно накануне операции. Осложнений, связанных с забором и последующей интраоперационной реинфузией консервированной крови, нами отмечено не было.

Результаты исследования и их обсуждение

За период с июня 2013 года по декабрь 2014 в ЦДкИ было выполнено 40 операций на 37 свиньях (3 животных были оперированы дважды). Характер оперативных вмешательств представлен в таблице.

Послеоперационное наблюдение осуществляли непосредственно в операционном блоке в течение первых 4 – 6 часов поддерживая медикаментозный сон введением раствора пропофола через инфузомат, с последующим переводом животного в индивидуальный бокс, после восстановления адекватного самостоятельного дыхания при показаниях SpO2 не менее 90 – 94% и систолического артериального давления не ниже 100 мм рт ст. В первые часы после операции проводили инфузионную терапию с применением полиионных и коллоидных растворов (плазмалит, тетраспан, аспаркам, хлорид натрия) под контролем показателей кислотно-щелочного равновесия, диуреза и центрального венозного давления. Обезболивание обеспечивали введением ненаркотических аналгетиков из группы НПВС.

Название операции	Кол-во оперированных животных
Протезирование бедренной артерии биологическим протезом	4
Отработка торакотомии в условиях искусственного кровообращения с протезированием аорты биологическим протезом (в т.ч. с отработкой технологии кровяной кардиоплегии)	3
Пластика твердой мозговой оболочки биологическим материалом. Имплантация новых биологических материалов для реконструктивной хирургии в мягкие ткани брюшной стенки	3
Ксенопластика артифициального дефекта бедренной кости	3
Протезирование клапана легочной артерии	7
Протезирование митрального клапана	7
Транскатетерная имплантация стент-графта в грудную аорту	4
Транскатетерная имплантация аортального клапана	3
Прочие операции	6
Всего	40

Летальность составила 32,5% (13 животных, в т.ч. 3, оперированных повторно). Высокая летальность отмечена на этапе освоения технологии проведения эксперимента. Однако эта жертва была не напрасна. Нами получен уникальный опыт, позволяющий правильно спланировать эксперимент, рассчитать возможные осложнения и предотвратить их. Разработаны рекомендации по подготовке животных к эксперименту, а так же краткое руководство по технике основных манипуляций на подготовительном этапе (пункция и катетеризация яремной вены, трахеостомия, пункция и катетеризация бедренной артерии и т.д.).

Сроки наблюдения после операции от 3 до 6 месяцев. Выведение животных из эксперимента производили путем обездвиживания и выключения чувствительности введением препаратов для наркоза с последующим обескровливанием, либо обездвиживанием при помощи миорелаксантов.

Выводы. Первые эксперименты, проведенные нами на базе центра доклинических исследований, позволяют сделать следующие выводы:

1. Проведение хирургического эксперимента на свинье требует наличия слаженных хирургической, анестезиологической и ветеринарной бригад, не говоря о должном оснащении вивария или лаборатории с полноценным операционным блоком и местами для послеоперационного содержания животных.

2. При проведении хирургического эксперимента следует знать о возможных вариантах воздействия на животное фармпрепаратов, применяемых в медицинской и ветеринарной практике.

3. Свинья, как наиболее близкая с точки зрения анатомического строения биологическая модель человека, может быть использована для проведения хирургического эксперимента по изучению поведения новых изделий и материалов, подлежащих имплантации человеку.

Список литературы

1. Капанадзе Г.Д. Использование миниатюрных свиней в биомедицинских экспериментах // Биомедицина.– 2006.– № 2.– С. 40-51.

2. Bustad L.K., McClellan R.O., Burns M.P. (Eds) Swine in biomedical research // Battele Memorial Institute. For Pacific North-west National Laboratory, Seattle: Fryan Printing Co.– 1966.

3. Swindle M.M. Swine in the laboratory // CRS Press Taylor & Francis Group. – 2007. – 494 pp.