

УДК 612.141
DOI: 10.56871/RBR.2024.74.45.011

НОВЫЙ МАЛОИНВАЗИВНЫЙ МЕТОД ИЗМЕРЕНИЯ АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ В ХВОСТОВОЙ ВЕНТРАЛЬНОЙ АРТЕРИИ У КРЫС — ОЦЕНКА

© Елена Валерьевна Белянина, Армен Александрович Овсепян, Екатерина Олеговна Пчелинцева, Виктория Николаевна Гаранова, Максим Валерьевич Лыков

АО «ГЕНЕРИУМ» — R&D парк. 601125, Владимирская обл., Петушинский район, пос. Вольгинский, ул. Владимирская, 14

Контактная информация: Елена Валерьевна Белянина — к.в.н., научный сотрудник Центра доклинических исследований.
E-mail: belyanina@ibcgenerium.ru ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1304-9009> SPIN: 8813-2932

Для цитирования: Белянина Е.В., Овсепян А.А., Пчелинцева Е.О., Гаранова В.Н., Лыков М.В. Новый малоинвазивный метод измерения артериального давления в хвостовой вентральной артерии у крыс — оценка. Российские биомедицинские исследования. 2024;9(4):68–73. DOI: <https://doi.org/10.56871/RBR.2024.74.45.011>

Поступила: 14.10.2024

Одобрена: 25.11.2024

Принята к печати: 17.12.2024

Резюме. Введение. Артериальное давление (АД) — важный гемодинамический показатель, характеризующий состояние сердечно-сосудистой системы, выполняющий важную роль при экспериментальном моделировании патологических состояний, связанных с нарушением гемодинамики (например, кровопотери или геморрагического шока) в биологических тест-системах. В современной практике при проведении исследований применяются инвазивные и неинвазивные методы измерения АД. Однако если в задачи исследования входит регистрация АД при моделировании патологических состояний, связанных с нарушением процессов гемодинамики, таких как геморрагический шок, то с существующими методами измерения АД получение точных, достоверных данных зачастую бывает затруднительно. **Цель исследования** — разработка малоинвазивного, непрерывного метода регистрации АД в хвостовой артерии у крыс, как под анестезией, так и без нее, в том числе без использования антикоагулянтов; сравнительный анализ различных методик измерения АД у интактных животных, при экспериментальном моделировании геморрагического шока. **Материалы и методы.** К работе привлечено 110 самцов крыс, Sprague Dawley, весом 360 ± 20 г. В процессе эксперимента разработан малоинвазивный метод регистрации АД, выполнено хирургическое моделирование геморрагического шока, проведен сравнительный анализ различных методик измерения АД. **Результаты исследования.** Установлено, что разработанный метод можно считать точным и малотравматичным, позволяющим выполнять быстрые, непрерывные измерения АД в режиме реального времени, как под общей анестезией, так и без нее, без использования антикоагулянтов. Точность измерений не зависит от характера, сложности экспериментального исследования и общей гемодинамической картины животного.

Ключевые слова: артериальное давление, хвостовая вентральная артерия, геморрагический шок, гепаринизированный физиологический раствор, биологическая тест-система

A NEW MINIMALLY INVASIVE METHOD FOR MEASURING BLOOD PRESSURE IN THE CAUDAL VENTRAL ARTERY IN RATS — EVALUATION

© Elena V. Belyanina, Armen A. Ovsepyan, Ekaterina O. Pchelintseva, Victoria N. Garanova, Maxim V. Lykov

JSC "GENERIUM" — R&D park. 14 Vladimirskaia str., Vladimir Region Petushinsky District village Volginsky 601125 Russian Federation

Contact information: Elena V. Belyanina — Candidate of Veterinary Sciences, research fellow at the Center for Preclinical Research.
E-mail: belyanina@ibcgenerium.ru ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1304-9009> SPIN: 8813-2932

For citation: Belyanina EV, Ovsepyan AA, Pchelintseva EO, Garanova VN, Lykov MV. A new minimally invasive method for measuring blood pressure in the caudal ventral artery in rats — evaluation. Russian Biomedical Research. 2024;9(4):68–73. DOI: <https://doi.org/10.56871/RBR.2024.74.45.011>

Received: 14.10.2024

Revised: 25.11.2024

Accepted: 17.12.2024

Abstract. Introduction. Blood pressure is an important hemodynamic indicator characterizing the state of the cardiovascular system, which plays an important role in the experimental modeling of pathological conditions associated with impaired hemodynamics (for example, blood loss or hemorrhagic shock) in biological test systems. In modern practice, invasive and non-invasive blood pressure measurement methods are used in conducting research. However, if the objectives of the study include the registration of blood pressure in modeling pathological conditions associated with impaired hemodynamic processes, such as hemorrhagic shock, then with existing methods of measuring blood pressure, obtaining accurate, reliable data is often difficult. **The aim of the study** was to develop a minimally invasive, continuous method for recording blood pressure in the caudal artery in rats, both under anesthesia and without it, including without the use of anticoagulants; comparative analysis of various blood pressure measurement techniques in intact animals, in experimental modeling of hemorrhagic shock. **Materials and methods.** 110 male rats, Sprague Dawley, weighing 360 ± 20 g were involved in the work. During the experiment, a minimally invasive method of blood pressure registration was developed, surgical modeling of hemorrhagic shock was performed, and a comparative analysis of various blood pressure measurement methods was carried out. **The results of the study.** It was found that the developed method can be considered accurate and low-traumatic, allowing fast, continuous blood pressure measurements in real time, both under general anesthesia and without it, without the use of anticoagulants. The accuracy of measurements does not depend on the nature, complexity of the experimental study and the general hemodynamic picture of the animal.

Keywords: blood pressure, caudal ventral artery, hemorrhagic shock, heparinized saline solution, biological test system

ВВЕДЕНИЕ

Согласно общепринятым методикам, инвазивное измерение артериального давления (АД) у крыс осуществляется непосредственно в выделенных сосудах (аорта, бедренная или сонная артерии) или в полости сердца «жидкостным» и «безжидкостным» способами [2, 3, 4].

«Жидкостный» метод регистрации АД основан на постановке в «выделенный» сосуд катетера/канюли, соединенных через жидкостную магистраль, заполненную гепаринизированным физиологическим раствором с датчиком регистрации давления. Данная система позволяет максимально точно измерять артериальное давление, однако при определенных условиях (промывка катетера) гепаринизированный физиологический раствор может попадать в организм животного, что в ряде случаев является недопустимым или критичным для экспериментального исследования [1–7].

Для измерения АД «безжидкостным» методом используется микродатчик давления, который состоит из чувствительной сенсорной части, соединенной с основным блоком системы измерения давления, что позволяет проводить быстрые измерения без введения в организм животных антикоагулянтов [2, 3].

При регистрации АД инвазивными методами требуется хирургическое выделение сосуда.

В свою очередь, среди неинвазивных способов измерения АД наибольшее распространение получил электроплетизмографический (манжеточный) метод, связанный с хвостовой артерией (tail-cuff) крыс. Данный метод основан на том же принципе, что и измерение АД у человека способом Рива–Роччи [1–3]. По сравнению с инвазивными способами, метод Рива–Роччи обходится для животных без анестезии,

в том числе при многократном применении, отличаясь, правда, меньшей точностью (пример: в модели геморрагического шока (ГШ) при эксфузии более 40% объема циркулирующей крови (ОЦК) АД данным методом не регистрируется).

Таким образом, в доклинической практике актуальной остается задача поиска и разработки малоинвазивного метода регистрации артериального давления в организме крыс.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цель нашего исследования — разработка малоинвазивного, непрерывного метода регистрации АД в хвостовой артерии у крыс, как с анестезией, так и без нее, без использования антикоагулянтов, а также сравнительный анализ различных методик измерения АД у интактных животных (без анестезии и с инъекционной анестезией), включая экспериментальное моделирование ГШ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. В качестве биологических тест-систем к эксперименту привлекли 110 самцов крыс, Sprague Dawley, весом 360 ± 20 г, SPF-категории, полученных из НПП «Питомник лабораторных животных» филиала ИБХ РАН, г. Пущино. Содержание, уход за животными и экспериментальное моделирование проводили в соответствии с международными европейскими биоэтическими стандартами, российскими этическими стандартами по содержанию и обращению с лабораторными животными, нормами и правилами «Политики работы с животными АО «ГЕНЕРИУМ»».

Оборудование. Для регистрации артериального давления у крыс использовали модули и датчики аппарата для

электрофизиологических исследований MP150WSW (BIOPAC Systems Inc., США):

- 1) малоинвазивный и безжидкостный методы — блок MPMS100 и микродатчик давления TSD175A;
- 2) манжеточный метод — модуль NIBP200A2 и датчик давления RXTCUFSENSOR;
- 3) жидкостный метод — модуль DA100C и датчик давления инвазивный TSD104A.

Дизайн исследования. Эксперимент состоял из четырех этапов.

I этап — разработка малоинвазивного метода регистрации АД в хвостовой артерии у крыс (n=10).

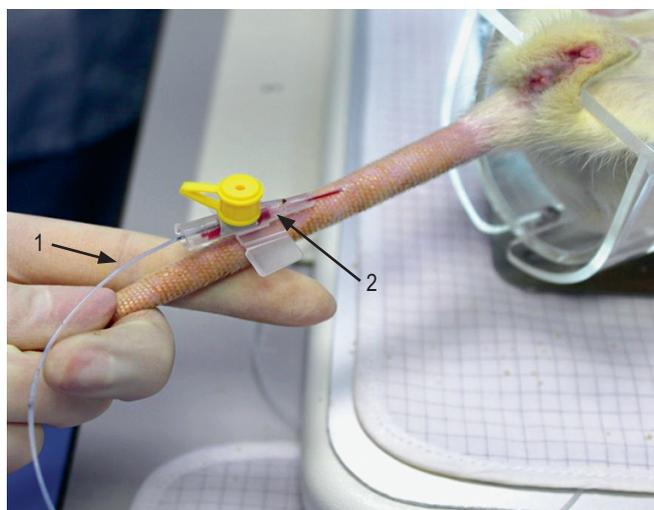
II этап — сравнительный анализ различных методик регистрации АД у крыс без анестезии: 1) малоинвазивный метод (n=10); 2) манжеточный метод (n=10).

III этап — сравнительный анализ различных методик регистрации АД у крыс с анестезией (n=40): 1) малоинвазивный метод (n=10); 2) манжеточный метод (n=10); 3) жидкостный метод (n=10); 4) безжидкостный метод (n=10).

IV этап — сравнительный анализ различных методик регистрации АД у крыс в модели ГШ (n=40): 1) малоинвазивный метод (n=10); 2) манжеточный метод (n=10); 3) жидкостный метод (n=10); 4) безжидкостный метод (n=10).

I этап — разработка малоинвазивного метода регистрации АД в хвостовой артерии у крыс

В основе разработки такого метода регистрации артериального давления у крыс лежит техника катетеризации хвостовой артерии и постановка в сосуд микродатчика давления.



a/a

Рис. 1. Малоинвазивный метод регистрации артериального давления (АД) в хвостовой артерии у интактного животного без анестезии: а — техника постановки катетера и микродатчика давления в хвостовую артерию (1 — внутривенный катетер; 2 — микродатчик давления TSD175A); б — график регистрации АД (1 — АД систолическое, мм рт.ст.; 2 — АД диастолическое, мм рт.ст.; 3 — АД среднее, мм рт.ст.)

Fig. 1. Minimally invasive method of recording blood pressure in the caudal artery in an intact animal without anesthesia: a — technique of placing a catheter and a pressure sensor into the caudal artery (1 — intravenous catheter; 2 — micro pressure sensor TSD175A); b — schedule of blood pressure registration (1 — systolic blood pressure, mmHg; 2 — diastolic blood pressure, mmHg; 3 — average blood pressure, mmHg)

Для постановки микродатчика животное размещали в спинальном положении на операционной панели с подогревом (Mediheat V500DVsta (PecoServices LTD, Великобритания)) и проводили визуализацию хвостовой артерии путем плавного массирования хвоста. Далее катетеризировали хвостовую артерию при помощи периферического внутривенного катетера (внутривенный катетер G24/26 (HELMFLON®ptfe, Германия)). Катетер в сосуд устанавливали под острым углом (~10–15°); при правильной установке в порте катетера появлялась кровь. В этом случае артерию пережимали проксимальнее места прокола, чтобы приостановить кровотечение; из катетера извлекали иглу, в просвет катетера вводили микродатчик давления, после чего снимали пережатие с артерии и проводили регистрацию АД (рис. 1).

II этап — сравнительный анализ различных методик регистрации АД у крыс без анестезии

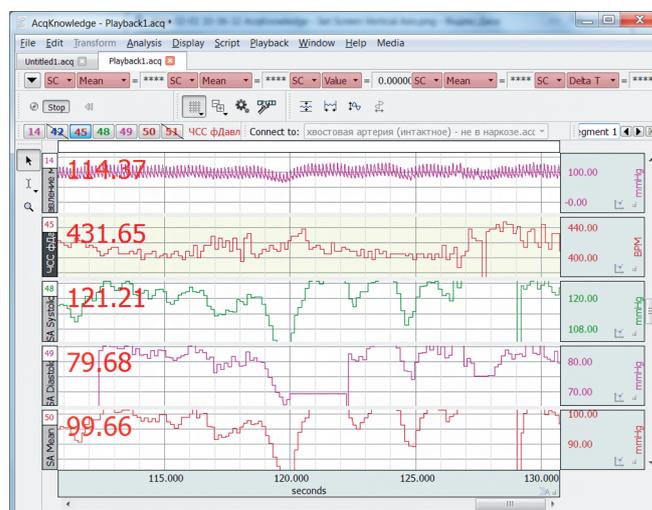
Регистрацию артериального давления в рамках исследования без анестезии проводили у крыс как малоинвазивным методом, так и манжеточным методом в области хвостовой артерии средней трети хвоста животного.

III этап — сравнительный анализ различных методик регистрации АД у крыс под анестезией

Для измерения артериального давления у крыс под анестезией применяли жидкостный, безжидкостный, малоинвазивный методы.

При подготовке животного к работе для общей анестезии использовали инъекционный золетил-ксилазиновый наркоз.

При регистрации АД безжидкостным и жидкостным способами проводили катетеризацию бедренной артерии.



б/б

IV этап — сравнительный анализ различных методик регистрации АД у крыс в модели ГШ

При регистрации АД у крыс в модели ГШ исследователи выполняли экспериментальное моделирование геморрагического шока методом «фиксированного объема» без введения в организм гепаринизированного физиологического раствора. Для проведения эксфузии выполняли артериосекцию бедренной артерии с последующей контролируемой эксфузией. Эксфузия составляла 2,8–3,0% массы тела животного, что соответствовало 40–50% общего объема циркулирующей крови. Для реперфузии использовали раствор Рингера–Локка. Измерение АД проводили: 1) до эксфузии; 2) во время эксфузии; 3) в промежутке времени от эксфузии до реперфузии; 4) во время реперфузии; 5) через 10 мин после реперфузии.

Для регистрации АД использовали малоинвазивный, манжеточный, безжидкостный и жидкостный методы.

В модели ГШ эксфузию и измерение АД безжидкостным и жидкостным методами проводили в одной бедренной артерии, поскольку дополнительное выделение второй бедренной артерии приводило к травматизму животного и существенно увеличивало трудозатраты, затраты времени.

Таким образом, в данных вариантах измерения АД его мониторинг был возможен только в периоды: 1) во время эксфузии (в нашем случае на 5, 10, 15 и 20-й мин, что соответствовало 40, 70, 90 и 100% расчетного объема эксфузии); 2) в промежутке времени от эксфузии до реперфузии; 3) во время и после реперфузии.

Регистрацию АД малоинвазивным и манжеточным способом при моделировании ГШ выполняли непрерывно.

Статистическая обработка результатов. Полученные в ходе работы данные проверены на нормальность распределения. Статистический анализ включал в себя вычисление среднего значения, стандартного отклонения. Для сравнения значений использовали параметрический показатель — *t*-критерий Стьюдента, так как выборка соответствовала закону нормального распределения. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Статистическую обработку данных проводили с использованием IBM SPSS Statistics (23 v (IBM SPSS Statistics 23) (IBM Corp., США)).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе эксперимента был разработан малоинвазивный метод регистрации артериального давления в хвостовой артерии крыс, проведен сравнительный анализ АД с имеющимися методами регистрации артериального давления у интактных животных без анестезии, с анестезией и в модели ГШ.

Сравнительный анализ различных методик регистрации АД у крыс с анестезией и без анестезии. При регистрации АД у животных с анестезией и без нее статистически значимых отличий выявлено не было (табл. 1).

Сравнительный анализ различных методик регистрации АД в динамике при экспериментальном моделировании ГШ. Использование манжеточного метода в модели ГШ было затруднительно, поскольку при эксфузии более 40% от расчетного объема оборудование не регистрировало АД.

Применение безжидкостного метода позволяло достоверно, точно измерять АД на протяжении всего эксперимента, но в определенные периоды: 1) во время эксфузии (в нашем случае на 5, 10, 15 и 20-й мин, что соответствовало 40, 70, 90 и 100% расчетного объема эксфузии); 2) в промежутке времени от эксфузии до реперфузии; 3) во время и после реперфузии. Для проведения непрерывной регистрации АД данным методом требовалось дополнительное хирургическое вмешательство для выделения другой бедренной артерии.

Регистрация артериального давления жидкостным методом была возможна только в период эксфузии, поскольку по мере увеличения объема эксфузии и повышения вязкости крови возникало тромбирование катетера, что приводило к искажению данных.

При регистрации АД малоинвазивным методом в течение эксперимента выполняли непрерывный мониторинг параметров АД, при этом были получены корректные данные на протяжении всех этапов работы по модели ГШ.

Параметры АДср у крыс в модели ГШ при регистрации различными методами отражены на рисунке 2 и в таблице 2.

Таблица 1

Показатели среднего артериального давления у животных без анестезии и под анестезией

Table 1

Indicators of average blood pressure in animals without anesthesia and under anesthesia

Методы регистрации артериального давления / Blood pressure registration methods	Среднее артериальное давление, мм рт.ст., $x \pm \text{ст. откл.}$ / Average blood pressure, mmHg, $x \pm \text{standard deviation}$	
	без анестезии / without anesthesia	с анестезией / under anesthesia
Малоинвазивный метод / Minimally invasive method	92,0 \pm 7,1	76,5 \pm 2,7
Манжеточный метод / The cuff method	91,3 \pm 6,7	72,0 \pm 2,7
Жидкостный метод / The liquid method	–	76,3 \pm 2,0
Безжидкостный метод / The non-liquid method	–	81,5 \pm 2,2

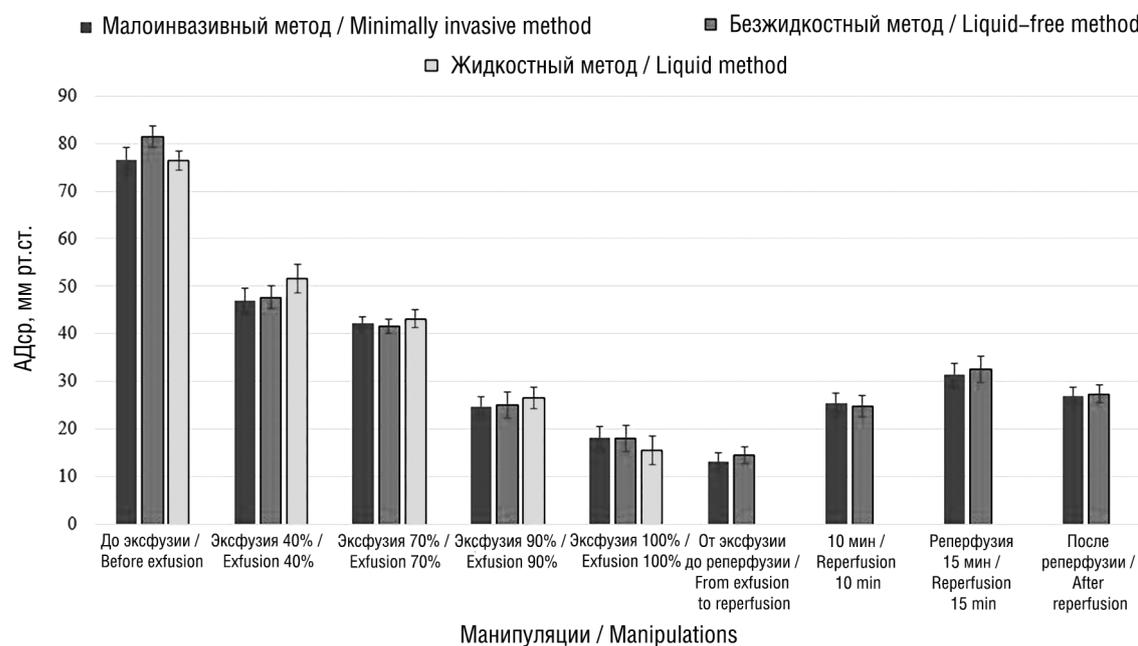


Рис. 2. Параметры АДср у крыс в модели ГШ при регистрации различными методами

Fig. 2. Parameters of the mean pressure in rats in the CS model during registration by various method

Таблица 2

Параметры среднего артериального давления у крыс в модели геморрагического шока

Table 2

Parameters of mean blood pressure in rats in a hemorrhagic shock model

Манипуляции / Manipulations	Время, мин / Time, min	%	АДср, мм рт.ст., $\bar{x} \pm \text{откл.}$ Методы измерения АД / Average blood pressure, mmHg, $\bar{x} \pm \text{standard deviation}$. Blood pressure measurement methods		
			малоинвазивный метод / minimally invasive method	жидкостный метод / the liquid method	безжидкостный метод / the non-liquid method
До эксфузии / Before exfusion	–	–	76,5±2,7	76,3±2,0	81,5±2,2
Эксфузия / Exfusion	5	40	46,9±2,6	51,6±2,9	47,7±2,4
	10	70	42,3±1,3	43,1±1,9	41,6±1,5
	15	90	24,7±2,1	26,5±2,2	25,1±2,8
	20	100	18,0±2,4	18,5±2,9	18,0±2,7
От эксфузии до реперфузии / From exfusion to reperfusion	30	–	13,2±1,7	–	14,5±1,7
Реперфузия / Reperfusion	10	–	25,3±2,3	–	24,8±2,2
	15	–	31,2±2,4	–	32,5±2,7
После реперфузии / After reperfusion	10	–	26,9±1,8	–	27,4±1,9

Примечание: % — процент от расчетного объема эксфузии.

Note: % is a percentage of the estimated volume of exfusion.

ВЫВОДЫ

Таким образом, разработанный малоинвазивный метод регистрации АД в сравнении с общепринятыми методами отличается следующими характеристиками.

1. Малоинвазивный, непрерывный, не требует хирургического вмешательства;

2. Позволяет проводить измерения на животных, как без анестезии, так и с общей анестезией;

3. Дает возможность регистрировать АД без использования антикоагулянтов;

4. Позволяет выполнять измерения АД в режиме реального времени независимо от общей гемодинамической картины животного.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Эксперименты с животными проводили в соответствии с международными правилами (Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях).

ADDITIONAL INFORMATION

Author contribution. Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Experiments with animals were carried out in accordance with international rules (Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union of September 22, 2010 on the protection of animals used for scientific purposes).

ЛИТЕРАТУРА

1. Калакутский Л.И., Манелис Э.С. Аппаратура и методы клинического мониторинга. Самара: СГАУ; 1999.

2. Кондрахин И.П., ред. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики. М.: КолосС; 2005.
3. Люсов В.А., Волов Н.А., Кокорин В.А. Проблемы и достижения в измерении артериального давления. Русский Медицинский журнал. 2003;11(11(191)):1093–1096.
4. Фетодов А.А., Акулов С.А. Измерительные преобразователи биомедицинских сигналов систем клинического мониторинга. М.: Радио и связь; 2013.
5. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Eighth Edition. National Research Council. 2010.
6. Diehl K.H., Hull R.A. Good Practice Guide to the Administration of Substances and Removal of Blood, Including Routes and Volumes. J Appl Toxicol. 2001;21:15–23.
7. Webster J.G. Medical instrumentation. Application and design. John Wiley & Sons. 2009.

REFERENCES

1. Kalakutskiy L.I., Manelis E.S. Equipment and methods of clinical monitoring. Samara: SGAU; 1999. (In Russian).
2. Kondrakhin I.P. Methods of veterinary clinical laboratory diagnostics. Moscow: KolosS; 2005. (In Russian).
3. Lyusov V.A., Volov N.A., Kokorin V.A. Problems and advances in blood pressure measurement. Russian Medical journal. 2003;11(11(191)):1093–1096. (In Russian).
4. Fetodov A.A., Akulov S.A. Measuring transducers of biomedical signals systems clinical monitoring. Moscow: Radio i svyaz'; 2013. (In Russian).
5. Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Eighth Edition. National Research Council. 2010.
6. Diehl K.H., Hull R.A. Good Practice Guide to the Administration of Substances and Removal of Blood, Including Routes and Volumes. J Appl Toxicol. 2001;21:15–23.
7. Webster J.G. Medical instrumentation. Application and design. John Wiley & Sons. 2009.