

УДК 57.082.52

DOI: 10.18413/2409-0298-2016-2-2-3-8

Горбачева А.А.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА НЕКОТОРЫХ СПОСОБОВ ЗАЛИВКИ СОСУДИСТОГО РУСЛА МЛЕКОПИТАЮЩИХ

доцент кафедры экологии, физиологии и биологической эволюции, кандидат биологических наук
ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»
ул. Победы, 85, г. Белгород, 308015, Россия. E-mail: gorbacheva@bsu.edu.ru

Аннотация

Для детального изучения кровеносного русла млекопитающих в настоящее время используются как современные, так и классические методы заливки сосудов. Использование классических методов в основном применяется для изучения сосудистого русла в условиях аудиторных занятий. В данной работе сравниваются некоторые методы заливки кровеносного русла млекопитающих. В качестве инъекционных масс использовались 5% -ный раствор желатина, окрашенный тушью по методике Борисевича В.Б. и раствор, состоящий из клея «Бустилат - М» и воды в пропорции 2:1. Проведенные нами исследования показали, что наиболее удачным с точки зрения простоты исполнения является заливка сосудов раствором, состоящим из клея «Бустилат – М» и воды, так как позволяет без особых усилий и с наименьшими затратами залить как крупные, так и средние сосуды. Для заливки более мелких сосудов предпочтительнее методика, инъекционным раствором для которой является тушь-желатиновая масса, поскольку контрастное вещество затвердевает практически сразу, что исключает вытекание заливочной массы из поврежденного сосуда.

Ключевые слова: кровеносная система; артериальное русло; инъекции; сосуды; вены; аорта; фиксатор; препарирование

Gorbacheva A.A.

COMPARATIVE EVALUATION OF SOME METHODS OF MAMMAL VASCULAR NETWORK FILLING

PhD in Biology, Associate Professor. Department of Ecology, Physiology, and Biological Evolution
Belgorod State National Research University. 85 Pobedy St., Belgorod, 308015, Russia. E-mail: gorbacheva@bsu.edu.ru

Abstract

At present, both new and classical methods of vessel filling are used for a detailed study of the cardiovascular system in mammals. The classical methods are mainly used to research into the vessel network during classroom studies. In this work some methods of mammals' blood vessels filling are compared. The 5% solution of gelatin stained with ink by the V.B. Borisevich method and the solution containing "Bustilat-M" glue and water in the ratio 2:1 were used as injection masses. Our researches demonstrated that the more successful and easy to use method was the technique of vessel filling with the solution containing "Bustilat-M" glue and water. This method allowed to fill the large and middle vessels with small efforts and least costs. The method with ink-gelatin mass as an injection solution is preferable to fill the small vessels because the contrast substance becomes hard practically at the moment of filling, that excludes the flowing-out of the filling mass from the damaged vessel.

Key words: circulatory system; arterial canal; injections; vessels; veins; aorta; fixator; preparation

На современном этапе развития науки, когда обычными стали такие методы изучения, как компьютерная томография или контрастная рентгенография, классические методики не потеряли своей актуальности. Например, при

изучении анатомии сосудистого русла млекопитающих в условиях аудиторных занятий предпочтительнее использовать инъекцию кровеносных сосудов, являющуюся одной из классических методов. Знания, полученные при

помощи данного метода, позволяют более детально изучить кровеносное русло, как конкретного органа, так и организма в целом, что необходимо при проведении оперативного вмешательства на разных уровнях организации животного. В связи с чем, не потеряло актуальности выявление наиболее доступных, быстрых и, что не мало важно, дешевых способов заливки сосудистого русла.

Цель данного исследования – установить наиболее эффективный и простой в исполнении метод заливки кровеносных сосудов.

Задачей же проведенной работы являлась подготовка учебных препаратов для изучения кровеносной системы млекопитающих.

На свежем трупном материале можно рассмотреть и детально изучить только наиболее крупные сосуды, так как на основном фоне мышечной массы, при наличии большого количества крови, стекающей со стенок органа или поврежденных при вскрытии мышц мелкие детали сосудистого русла неразличимы [10]. Так как сосуды обладают высокой эластичностью, то у относительно свежих трупов не исключена их посмертная деформация, что значительно затруднит работу по препарированию кровеносной системы. Так же сложно обнаружить и отличить друг от друга мелкие артериальные и венозные сосуды на фиксированных трупах, поскольку последние меняют как свою консистенцию (уплотняются), так и свой естественный цвет. И те, и другие приобретают практически один и тот же оттенок. При дальнейшем препарировании сосудов, на относительно свежем трупе животного возможны незначительные повреждения, что приводит к вытеканию несвернувшейся части крови и становится невозможной дальнейшая работа с этим сосудом. При препарировании сосудов фиксированного трупа, нет возможности с точностью определить сосуд ли это или часть, например, нервного волокна, попавшая под скальпель. Для идентификации требуется наличие микроскопа или лупы, а также необходимо изъятие небольшой части данного образования. Не всегда метод простого препарирования дает четкую картину взаимосвязей различных сосудов малого диаметра, а при инъецировании проявляются практически все мелкие анастомозы. В связи с вышесказанным препарирование и изучение более мелких сосудистых образований возможна только после предварительной подготовки трупного материала, что и происходит при инъекации сосудов.

В современной практике в качестве инъекционных растворов используется большое количество веществ и их составов. В связи с тем, что для обнаружения наиболее эффективного способа заливки сосудов, необходимо провести серию опытов с различными заполняющими массами. В этом случае исследователь сталкивается с проблемой выбора доступных, относительно дешевых и удобных в работе веществ. На сегодняшний день известно довольно большое количество таких веществ, однако не каждое из них пригодно для заливки мелких сосудов. В качестве недостатков можно выделить следующие: одни быстро застывают, другим, наоборот, требуется достаточно продолжительное время для уплотнения массы внутри сосуда, третьи достаточно дорогие в использовании.

Из всего многообразия инъекционных масс, нами были выбраны несколько способов заливки сосудов.

Материалы и методы исследования

В качестве материала были использованы трупы сельскохозяйственных и мелких домашних животных. Объектами исследований стали трупы двух тридцатидневных поросят, погибших от истощения; и двух взрослых собак, попавших под колеса автомобиля. В качестве дополнительного объекта использовался 6-ти месячный плод крупного рогатого скота. Плод получен в результате вынужденного убоя беременной самки.

Кровеносные сосуды инъецировались контрастирующими массами. В качестве контрастного вещества использовали раствор, состоящий из клея «Бустилат - М» и воды в пропорции 2:1, а также – 5% -ный раствор желатина, окрашенный тушью по методике Борисевича В.Б.(1969) [3].

Результаты исследования и их обсуждение

Для приготовления контрастирующей массы тушь-желатин в качестве основы был взят сухой пищевой желатин. Изначально желатин заливали холодной водой на 2 ч, после чего нагревали на водяной бане до его полного растворения. В теплый желатин добавляли 1-3 мл туши определенного цвета, в зависимости от того, какие сосуды планируется инъецировать. Общепринято – для артериальной системы использовать красную, а для венозной – синюю тушь. Перед смешиванием тушь также растворяют в теплой воде. Для растворения туши использовали небольшое количество воды –

0,5-1 мл. При внесении нерастворенной туши в раствор желатины образуются комочки, которые нежелательны при работе с мелкими сосудами. Полученную смесь тщательно перемешивали и подогревали на водяной бане до температуры 37-40°C. Кроме того, тушь имеет тенденцию к осаждению, поэтому, используя данную массу для заливки сосудов, следует помнить, что чем дольше данная масса стоит, тем больше вероятности ее сгущения и обесцвечивания. В связи с этим, перед каждым набором инъекционного шприца, смесь необходимо тщательно перемешивать. При остывании желатин загустевает, поэтому его необходимо вводить достаточно быстро, пока раствор остается слегка теплым, либо же емкость с раствором должна находиться в горячей воде. Однако, при этом сила давления должна быть умеренной, так как при резком увеличении давления существует вероятность разрыва сосудов. Но и при правильном введении и соблюдении всех нюансов, существуют сосуды, в которые желатин не попадает. В этом случае такой дефект можно несколько исправить, если погрузить всю тушку или часть трупа, которую заливают в горячую воду. Такие манипуляции более удобно проводить на мелких трупах, при заливке же сосудов более крупных животных такой способ довольно трудоемкий [3].

После введения тушь-желатиновой массы место инъекции прошивали лигатурой, а труп животного погружали вначале под холодную воду, а затем фиксировали в 5%-ном растворе формалина в течение 24-48 ч. После чего сосуды осторожно препарировали.

Вторым использованным нами раствором для заливки сосудов был клей «Бустилат-М». Данное вещество изготавливается на основе латекса, к которому добавляют мел, воду, карбоксиметилцеллюлозу в качестве загустителя и другие компоненты, придающие смеси оптимальные свойства. Полное затвердевание этого клея наступает в течение 24-36 ч. При разведении «Бустилата-М» с водой в концентрации 2:1, можно инъецировать сосуды мелких животных и даже их плодов, что позволяет выявить особенности ветвления сосудов, наличие мелких анастомозов, провести их морфометрию и т.д. Заливаемое вещество начинает загустевать только по истечении 12 ч, что позволяет залить максимальное количество сосудов, а его концентрация позволяет под небольшим давлением проникать в мелкие сосуды кровеносного русла. При использовании «Бустилата-М» раствор не подогревают, поскольку при наличии в нем воды данная суспензия не

образует нежелательных комочков, а, следовательно, и тушки животных не нуждаются в дополнительном разогреве для достижения смесью наиболее мелких сосудов. Однако, при заливке данным способом, также требуется лигировать места инъекций во избежание истечения раствора из поврежденного сосуда.

После заливки сосудов трупы погружали в фиксирующий раствор – изначально в 5%-ный раствор формалина, а затем для хранения – в 10%-ный. После фиксации сосуды аккуратно отделяются от окружающих тканей, создавая тем самым объективную картину сосудистого русла.

Все тушки животных, использованных для заливки сосудов, были замороженными. Размораживание проводили при комнатной температуре. После размораживания трупы фиксировали в спинном положении. Вскрывали брюшную полость по белой линии, грудную полость – по хрящам грудной кости; по сухожильному центру разрезали диафрагму, вскрывали висцеральный плевральный листок. Одновременно фиксировали изменения расположения органов, если таковые были и их изменения относительно здоровых. Все органы использованных для подготовки сосудистого русла трупов расположены анатомически правильно и в них патологических изменений не обнаружено.

Для инъекций сосудов использовали шприцы емкостью 10 мл и системы для внутривенного введения.

До начала инъекции сосудистое русло промывали теплым 0,9% физиологическим раствором – до полного вымывания сгустков крови из сосудов. Затем сосуды заполняли теплой водой (40-50°C). В отличие от предложенной разными методиками заливки через желудочек сердца или аорту, мы производили заливку через левую подключичную артерию (a. subclavia sinistra), в которую вводили систему для внутривенного введения. Для введения через систему растворов использовали обычную крупную инъекционную иглу, поскольку обе применяемых смеси имели вид суспензии и при введении через более тонкое отверстие иглы, оно очень быстро забивалось. При нагнетании раствора в левую подключичную артерию, смесь попадала в левую подмышечную артерию (a. axillaris). Одновременно инъекционный раствор у поросят в сосудах образует два ствола – краниальный – реберно-шейный ствол (truncus costocervicalis) и каудальный – плече-шейный (truncus omocervicalis). Последний отдает шейные артерии (a. cervicalis): восходящую, нисходящую

и поверхностную ветви. Восходящая ветвь шейной артерии проходит в околоушную слюнную железу. Нисходящая ветвь слабо развита, довольно тонкая и кровоснабжает только участки шейных мышц. Поверхностная ветвь шейной артерии также снабжает кровью мышцы, а добавочные ветви подходят к шейным лимфатическим узлам [1; 4].

У собаки несколько иной ход ветвления подключичной артерии. Она последовательно отдает позвоночную артерию, которая разбивается на три ветви, идущие одна – к мышцам, вторая – к позвоночнику и третья – в шейные мышцы. Следующим ответвлением подключичной артерии (*a. subclavia*) является реберно-шейный ствол (*truncus costocervicalis*), который по ходу отдает две ветви – поперечную и глубокую шейные артерии [7; 8]. Причем, последнюю будет видно только после препарирования тканей. Около первого ребра от подключичной артерии отходит плече-шейный ствол, от которого отходят четыре ветви. Первая – нисходящая кровоснабжает двуглавую мышцу плеча и грудную мышцу. Восходящая ветвь кровоснабжает лимфатические узлы шеи, а также обеспечивает кислородом и питательными веществами грудинно-плече-головную мышцу. После заливки хорошо видны становятся еще две ветви плече-шейного ствола: поперечная лопаточная и поверхностная шейная артерии. Последняя снабжает ромбовидную и трапециевидную мышцы, а поперечная лопаточная артерия – мышцы лопатки (предостную и заостную).

От подключичной артерии также отходят внутренняя и наружная грудные артерии. У собаки первая довольно хорошо развита и по ходу своего движения она отдает небольшие ветви для кровоснабжения грудной мускулатуры [5]. Наружная грудная артерия (*a. thoracica externa*) плохо наполняется, так как она довольно тонкая и слабо развита. В связи с этим при препаровке необходимо соблюдать особую осторожность, чтобы не перерезать ее волокна. После ответвления грудных артерий от подключичной отходит подмышечная артерия.

Сонные же артерии (*a. carotis*), несмотря на свое мощное развитие заливали незначительно – раствор проникал только в начальные участки. Это можно связать с недостаточным давлением при заполнении сосудов, так как при увеличении последнего артерии, особенно слабо развитые, рвались.

При отделении конечности на медиальной поверхности хорошо становится видна

подмышечная артерия. При инъекции артериальной системы грудной конечности через данный сосуд очень хорошо становятся видны все анастомозы артериальной системы. Подмышечная артерия соединяется с наружной грудной. По ходу своего пути она переходит в плечевую артерию. Дорсально подмышечная артерия отдает подлопаточную ветвь [2]. В свою очередь, от подлопаточной артерии отходят латеральная плечевая, лопаточная артерии и артерия трехглавой мышцы плеча. Латеральная плечевая артерия уходит в трехглавую мышцу плеча (ее длинную и латеральную головки). Лопаточная артерия и артерия трехглавой мышцы плеча, соответственно уходят в названные мышцы.

Спускаясь дистально, подлопаточная артерия переходит в плечевую, которая в свою очередь дает начало артерии двуглавой мышцы плеча (*a. bicipitis*), поверхностную лучевую артерию, глубокую плечевую (*a. profunda brachii*) и локтевых (коллатеральная - *a. collateralis ulnaris* и возвратная – *a. recurrens ulnaris*) артерий [8]. Упомянутая лучевая артерия выходит под кожу, где подразделяется на две тонкие ветви, одна из которых идет к запястью и образует там артериальную сеть; вторая – переходит в дорсальные пальцевые артерии.

Еще более дистальнее плечевая артерия переходит в срединную (*a. mediana*), от которой ветви идут к дорсальной и вентральной поверхностям пальцев. Поскольку для нас было актуально провести заливку сосудов лопаточно-плечевой области, то дальнейшие манипуляции нами не проводились. Сосуды лигировали.

Задняя часть тела была залита на трупах второй собаки и плода крупного рогатого скота. Инъекцию осуществляли через брюшную аорту. Она располагается под телами поясничных позвонков левее от каудальной полой вены. Первой заливали чревную артерию (*a. coeliaca*), которая имеет относительно короткий ствол и разделяется на три ветви: селезеночная (*a. lienalis*), желудочная (*a. gastrici*) и печеночная артерии (*a. hepatica*). Для плода крупного рогатого скота характерно наличие сложного желудка, в связи с чем, чревная артерия отдает помимо перечисленных ветвей еще левую рубцовую артерию (*a. ruminis sinistra*), которая в дальнейшем отдает ветви для преддверия рубца и артерию, идущую в сетку [4; 6]. У плода печеночная артерия (*a. hepatica*) разделяется на ветви для поджелудочной железы, для желчного пузыря и для печени. При дальнейшей инъекции сосудов наиболее ярко выражена печеночная артерия, которая располагается в воротах печени вместе с воротной веной. Печеночная артерия

отдает правую желудочную и желудочно-двенадцатиперстную артерии, последняя переходит в правую желудочно-сальниковую артерию. В связи с таким расположением в первую очередь заливали печень, затем часть сальника и двенадцатиперстная кишка. Селезенка частично заполнилась только у собаки, что можно соотнести с возрастными особенностями (плод и взрослое животное). Далее у плода крупного рогатого скота стала заполняться краниальная и каудальная брыжеечные артерии, почечные, семенные и поясничные артерии. У собаки заливке подверглись почечные (aa. renales), семенные (aa. spermaticae), брыжеечная (a. mesenterica) и поясничные (aa. lumbales) артерии. От брыжеечной артерии собаки ответвление получает подвздошная артерия, которая идет в поясничные и брюшные мышцы и в кожу этих областей. От брыжеечной артерии у собаки и от чревной артерии у плода отходит диафрагмальная артерия. В первом случае она подразделяется на две ветви, одна из которых идет в диафрагму, а другая – к брюшным стенкам, в связи с чем, у собак эта артерия имеет и второе название – диафрагмально-брюшная. У крупного рогатого скота данная артерия направляется только к диафрагме, иногда она может быть представлена несколькими ветвями. От брыжеечной артерии с двух сторон отходят почечные артерии, идущие к почкам и надпочечникам. В почках они разветвляются на более мелкие сосуды, образуя сосудистую сеть [9]. Семенные артерии инъецировались слабо, что не дало возможности проследить их дальнейшее ветвление. Поясничные артерии заполнились в количестве пяти пар – у плода крупного рогатого скота и в количестве семи пар – у собаки. После манипуляций место инъекции на брюшной аорте прошивали.

Следующим этапом, при помощи инъекционной иглы и шприца подключались в воротную вену печени (v. portae). Воротная вена собирает кровь из желудка, поджелудочной железы, селезенки, толстой и тонкой кишок. Короткий ствол воротной вены образуется путем слияния желудочно-селезеночной, краниальной и каудальной брыжеечных вен, входит в ворота печени, где делится на междольковые вены, а затем на капилляры печеночных долек. Внутри каждой дольки капилляры вливаются в центральную вену дольки. Это начальные участки вен, отводящих кровь из печени в каудальную полую вену, образуется так называемая чудесная сеть.

Несколько иное ветвление наблюдается у плода крупного рогатого скота. Так, инъецировался отходящий от пупочной вены (непосредственно перед входом в печень)

венозный проток, который напрямую соединяется с каудальной полую вену, не входя в чудесную сеть печени.

После инъекций все травмированные сосуды лигировали (для предотвращения выхода контрастного вещества), а трупы погружали в фиксирующие растворы. Изначально для фиксации и обезвоживания тканей подготовленный материал полностью погружали в 5%-ный раствор формалина. По истечении 24 ч его перегружали в емкости для хранения, заполненные 10%-ным формалином.

Заключение

Проведенные исследования показали, что наименее трудоемкой и более эффективной получилась заливка раствором, состоящим из «Бустилата – М» и воды, в концентрации 2:1, так как данная смесь затвердевала через довольно продолжительное время, что давало время для тщательного выполнения работы; наличие в растворе воды позволяло проникать ему в относительно далеко расположенные и более мелкие сосуды. Однако, недостатком данной методики является быстрое вытекание контрастирующих масс при небрежных манипуляциях.

Для заливки более мелких сосудов предпочтительнее методика, инъекционным раствором для которой являлась тушь-желатиновая масса, поскольку контрастное вещество затвердевает практически сразу, что практически исключает быстрое вытекание заливочной массы из поврежденного сосуда. Но при этом, следует помнить, что и раствор, и труп животного должны быть как минимум комнатной температуры, иначе заливка мелких сосудов становится невозможной.

Список литературы

1. Анатомия домашних животных / А.И. Акаевский, Ю.Ф. Юдичев, Н.В. Михайлов и др. М.: «Колос». 1984. 543 с.
2. Анатомия собаки / Б.М. Хромов, Н.С. Короткевич, А.Ф. Павлова и др. Л.: «Наука». 1972. 232 с.
3. Борисевич В.Б. Простой способ окраски латекса // Архив АГЭ. 1969. Т.59. Вып. 2. С. 81-82.
4. Гудимов Б.С., Искренко И.А., Родина И.Ф. Практикум по топографической анатомии. Минск: «Виша школа». 1984. 178 с.
5. Гуди П.К. Топографическая анатомия собаки. М.: «Аквариум-Принт». 2006. 175 с.
6. Жеденов В.Н. Общая анатомия домашних животных. М.: «Советская наука». 1958. 562 с.
7. Зеленовский Н.В. Анатомия собаки. СПб.: Право и управление. 1997. 339 с.

8. Зеленовский Н.В. Международная ветеринарная анатомическая номенклатура на латинском и русском языках. М.: «Лань». 2013. 400 с.

9. Иванова Е.И. Функциональная морфология сосудистой системы млекопитающих. М.: «Наука». 1975. с.

10. Современные методы и техника морфологических исследований: Сборник статей под ред. Д.А. Жданова. Л.: «Медгиз». 1955. 272 с.

References

1. Anatomy of Domestic Animals / A.I. Akaevskij, Ju.F. Judichev, N.V. Mihajlov et al. M.: “Kolos”. 1984. 543 p.

2. Dog Anatomy / B.M. Hromov, N.S. Korotkevich, A.F. Pavlova et al. L.: “Science”. 1972. 232 p.

3. Borisevich V.B. The Simple Method of Latex Dyeing // AGE Archives. 1969. V. 59. N. 2. Pp. 81-82.

4. Gudimov B.S., Iskrenko I.A., Rodina I.F. Practical Work on Topographical Anatomy. Minsk: “The Higher School”. 1984. 178 p.

5. Gudi P.K. Dog Topographical Anatomy. M.: “Akvarium-Print”. 2006. 175 p.

6. Zhedenov V.N. Common Anatomy of Domestic Animals. M.: “Soviet Science”. 1958. 562 p.

7. Zelenevskij N.V. Dog Anatomy. SPb.: Right and Control. 1997. 339 p.

8. Zelenevskij N.V. International Veterinary Anatomical Nomenclature in Latin and Russian. M.: “Lan”. 2013. 400 p.

9. Ivanova E.I. Functional Morphology of Mammalian Vascular System. M.: “Science”. 1975. p.

10. Modern Methods of Technics of Morphological Investigations: Collection of Articles Edited by Zhdanov D.A. Leningrad: “Medgiz”. 1955. 272 p.