

УДК 615.035.4

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ АТЕРОГЕННОЕ ВОСПАЛЕНИЕ МАГИСТРАЛЬНЫХ АРТЕРИЙ У КРОЛИКОВ. МАЛОИНВАЗИВНАЯ ТЕХНОЛОГИЯ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ РЕКОНСТРУКЦИИ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ НА РАННИХ СТАДИЯХ АТЕРОГЕНЕЗА

Большаков И.Н., Шестакова Л.А., Котиков А.Р., Каптюк Г.И.

ГБОУ ВПО «Красноярский государственный медицинский университет

им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России»,

Красноярск, e-mail: bol.bol@mail.ru

В работе дана морфометрическая оценка действия имплантации полисахаридных биополимеров в сосудистой фасциальной футляр на стенку артерий при ранних признаках экспериментальной хронической ишемии задних конечностей у 36 кроликов породы шиншилла. Оценивались следующие морфометрические параметры: диаметр артерии; площадь среднего слоя бедренной артерии; толщина среднего слоя; диаметр просвета артерии; отношение толщины средней оболочки бедренной артерии к диаметру просвета; коэффициент гладкомышечных клеток субинтимальной области; число микрососудов в параадвентициальном пространстве; наличие ксантомных клеток. В работе показано, что использование холестериновой диеты у кроликов в течение 80–110 дней приводит к увеличению в плазме крови высокого уровня триглицеридов, холестерина, фракции ЛПНП, уровня фракции ЛПОНП, формирует очень высокий коэффициент атерогенности. Высокий уровень гиперлипидемии у животных соответствует высокому уровню липидных фракций в тканях сосудистой стенки магистральных артерий, формируя в интимной оболочке скопления ксантомных клеток, «мягких» бляшек. Введение в паравазальное пространство магистральной артерии гелевой формы сульфатированного хитозана и кислых протонированных его форм стимулирует новообразование микрососудистого ложа на месте резорбции полимеров, увеличивая число новых сосудов на 56–66%, а у интактных животных – на 96%. Морфологическая реконструкция магистральных артерий заключается в снижении удельного объема сосудистой стенки за счет снижения удельного объема средней оболочки и коэффициента субинтимальных гладкомышечных клеток, в увеличении просвета сосуда и росте числа микрососудов параадвентициального ложа.

Ключевые слова: экспериментальное атерогенное воспаление, морфологическая реконструкция артерий, кролики, гиперлипидемия, хитозановые имплантаты, терапевтический ангиогенез

THE EXPERIMENTAL ATHEROSCLEROTIC INFLAMMATION OF THE MAIN ARTERIES IN RABBITS. LOW TRAUMATIC TECHNOLOGY OF MORPHOLOGICAL RECONSTRUCTION OF THE VASCULAR WALL AT THE EARLY ATHEROSCLEROTIC STAGES

Bolshakov I.N., Shestakova L.A., Kotikov A.R., Kaptyuk G.I.

Krasnoyarsk State Medical University named

after Prof. V.F. Voyno-Yasenetsky, Krasnoyarsk, e-mail: bol.bol@mail.ru

In work the morphological estimation of action polysaccharide biopolymers implantation in vascular fascia case on a wall of arteries is given by early attributes of an experimental chronic ischemia of the hinder legs in 36 Shinshilla rabbits. The morphological parameters were estimated following : diameter of an artery; the area of an average layer of a femoral artery; thickness of an average layer; diameter of a gleam of an artery; the relation of thickness of an average environment of a femoral artery to diameter of a gleam; quantity of smooth cells in sub-intima areas; number of micro-vessels in para-adventitial space; presence of fat cells. In work it is shown, that use of a cholesterol diet in rabbits within 80–110 days results in blood plasma increase of a high level three-glycerol, cholesterol, lipoprotein low density fraction, a level of lipoprotein very low density fraction, are formed with very high atherosclerotic index. The high blood plasma cholesterol level in animals correspond to a high level cholesterol fractions in a vascular wall of the main arteries, forms in an intimate environment of the fat cells congestion, of the «soft» cholesterol plaque- caps. The introduction in para-vessels space of the main artery of sulfate chitosan gel form and sour forms is stimulated the formation of micro-vessels on a place of degradation of polymers, increases number of new vessels by 56–66%, and at healthy animals by 96%. Morphological reconstruction of the main arteries consists in decrease in specific volume of a vascular wall due to reduction in specific volume of an media environment and quantity sub-intima smooth cells, increase of a vessel gleam and growth of the micro-vessels number in para-adventitial space.

Keywords: experimental atherosclerotic inflammation, morphological arterial vessels reconstruction, rabbits, hypercholesterolemia, chitosan implants, therapeutic angiogenesis

В 1913 году Н.Н. Аничков и С.С. Халатов создали экспериментальную модель атеросклероза у кроликов путем кормления их пищей, богатой холестерином, что позволило сформулировать комбинационно-инфильтрационную теорию патогенеза атеросклероза. Ее появление стало важной

вехой в развитии учения о патогенезе этого заболевания и предопределило не только направление дальнейших работ Н.Н. Аничкова и созданной им научной школы, но и многих других отечественных и зарубежных исследовательских коллективов. Холестериновая модель атеросклероза вы-

держала испытание временем, и многочисленные исследования в разных странах, касающиеся тех или иных сторон патогенеза атеросклероза, выполнены и выполняются сегодня именно на этой модели [3, 4, 6]. Но только в работе Н.Н. Аничкова и С.С. Халатова (1912) было выяснено, что в развитии атеросклероза у кроликов в этих условиях опыта имеет значение содержащийся в продуктах холестерин. Н.Н. Аничкову и С.С. Халатову удалось воспроизвести изменения аорты, сходные с атеросклерозом человека, при введении кроликам с пищей чистого холестерина [7]. В настоящее время опыты с воспроизведением холестеринового атеросклероза у кроликов могут быть повторены в любой лаборатории. Подобный алиментарный способ получения атеросклероза у кроликов является общепризнанным завоеванием экспериментальной патологии, а сам эксперимент можно назвать классическим [8]. Одним из перспективных научных направлений методов лечения хронической (критической) ишемии нижних конечностей у больных, не являющихся кандидатами на хирургическую или эндоваскулярную реваскуляризацию, может стать терапевтический ангиогенез. Ангиогенез представляет собой сложный процесс, включающий серию событий, происходящих в строгой последовательности [9]. Интересы ангиологии сосредоточены на «терапевтическом ангиогенезе» – процессе, который направлен на лечение нарушений при недостаточной перфузии ткани путем стимуляции роста и арборизации кровеносных сосудов или модуляции функции эндотелия [10]. Хитозановые биополимеры не использовались до сих пор для реконструкции сосудистой стенки при локальном их введении. Общая закономерность биологического эффекта полимера хитозана выражается в деградации воспалительной реакции при любой локализации процесса как в месте дислокации полимера, так и в непосредственной близости от него. Сущность эффекта заключается в том, что при введении или имплантации хитозана или хитозансодержащих материалов в органы и ткани формируется электростатический и концентрационный градиенты для клеток, метаболитов и воды, приводящие к трансляции их в сторону полимера и к снижению воспалительной реакции в результате дренирующего эффекта как за пределами, так и в пределах его дислокации. Такое дренирование может объяснить морфологическую сохранность тканей в месте дислокации полимера и в непосредственной близости от него на фоне общих деструктивных воспалительных процессов в организме [12–15]. Предварительные ис-

следования показали, что локальное введение хитозановых полимеров в гелевой форме у крыс и кроликов в фасциальные футляры задних конечностей приводит к локальному изменению характеристик в сосудистой стенке не только липидных фракций, но и клеточно-межуточного матрикса стенки магистральной артерии конечности [1, 2, 5, 11].

Цель исследования – разработать малоинвазивную технологию терапевтического ангиогенеза путем морфологической реконструкции стенки магистральных сосудов нижних конечностей при экспериментальном атерогенном процессе с помощью полисахаридных биополимеров.

Материалы и методы исследования

В исследование включены 36 кроликов породы Shinhilla, мужского пола, массой $3,5 \pm 0,5$ кг, животные были разделены на 6 групп, по шесть животных в каждой группе. С первой по третью группы входили животные, получавшие холестериновую диету (ХД) (ежедневно на протяжении всего эксперимента, 110 суток, 0,8 г холестерина на 1 кг массы тела в нерафинированном подсолнечном растительном масле, к воде доступ свободный), которым на 80-е сутки эксперимента в околососудистое фасциальное пространство магистральных артерий левой задней конечности в области голеностопного сустава с помощью инъекций помещался один из трех образцов биополимера полисахаридной природы, объемом 4 мл. С четвертой по шестую группы – животные, содержащиеся на стандартном рационе вивария. Этим животным идентично в околососудистое фасциальное пространство магистральных артерий левой задней конечности в области нижней трети голени с помощью инъекций помещался один из трех образцов биополимера полисахаридной природы, объемом 4 мл.

Имплантируемые биополимеры:

группа 1 (6 кроликов, получавших ХД) – полиионный комплекс «Болхит» (изделие медицинского назначения (ИМН), содержащий 2% хитозан молекулярной массы (Мм) от 100 до 700 kDa и степени дезацетилирования (СД) 95%, на 1 г сухого хитозана – аскорбиновую кислоту 1,8 г, хондроитинсерную кислоту – 10 мг, гиалуроновую кислоту (D- глюкуроновую) – 10 мг, сывороточный фактор роста крупного рогатого скота «адгелон» – 10 мкг, гепарин – 2,5 мг);

группа 2 (6 кроликов, получавших ХД) – 1% гель сульфатированного водорастворимого хитозана ($\beta_{1,4}$ D-глюкопиранозин-N-метил-сульфатил натрия), Мм 250 kDa, СД 85%;

группа 3 (6 кроликов, получавших ХД) – 1% гель хитозана аскорбата, Мм 700 kDa, СД 98%;

группа 4 (6 кроликов, не получавших ХД) – полиионный комплекс «Болхит»;

группа 5 (6 кроликов, не получавших ХД) – 1% гель хитозана сульфата ($\beta_{1,4}$ D – глюкопиранозин – N – метил – сульфатил натрия), Мм 250 kDa, СД 85%;

группа 6 (6 кроликов, не получавших ХД) – 1% гель хитозана аскорбата, Мм 700 kDa, СД 98%.

Кролики с первой по третью группы в течение 110 дней получали ХД. На 1-е, 80-е, 100-е и 110-е сутки эксперимента всем группам животных было проведено измерение показателей микроциркуля-

ции в трех точках на левой и правой задних конечностях (метод лазерной доплеровской флоуметрии, ЛАКК-02, Россия), а также забор крови для анализа липидного спектра. Подопытные животные были выведены из эксперимента на 110-е сутки. У всех групп был отпрепарирован комплекс мягких тканей бедра и голени обеих конечностей, включающий магистральный сосудисто-нервный пучок, для выполнения гистологических исследований. Образцы тканей после фиксации в забуференном растворе нейтрального формалина по общепринятой методике заключались в парафиновые блоки. Гистологическая проводка тканей, выполнение серийных срезов сосудисто-нервного комплекса и окраска проводились на автоматизированной системе Leica (Германия). Гистологические срезы для обзорного анализа окрашивались гематоксилином и эозином, а также суданом III. Морфометрическое исследование полученных срезов проводилось при помощи программы «JMicroVision 1.2.5». Светооптическое исследование и фотографирование микропрепаратов осуществляли на микроскопе «Axiostar» (Германия) при увеличении (x100, x200 и x400). Морфометрическое исследование полученных срезов сосудов проводилось при помощи программы «Image Tool»: сфотографированные в цифровом формате срезы (при увеличении x100 и x400) вводились в компьютер (операционная система Windows XP) в формате BMP и посредством копирования из буфера обмена анализировались данной программой. В отношении каждого случая производилось измерение определенного критерия в 5 срезах. Для морфометрической оценки артерий кроликов использовались следующие критерии: удельный объем просвета артерии (Vvnp); удельный объем стенки артерии (Vvst); удельный объем средней оболочки артерии (Vvm); коэффициент гладких миоцитов субинтимальной области (вычислялся как отношение численной плотности субинтимальных миоцитов к площади средней оболочки бедренной артерии); число сосудов в паравазальном пространстве, исключая крупные магистральные сосуды; наличие ксантомных клеток оценивалось в формате дихотомической переменной (да, нет).

Результаты исследования и их обсуждение

ХД в течение 80 дней вызывала у кроликов гиперлипидемию, о чем свидетельствует рост показателей липидного спектра в плазме крови кроликов по сравнению с интактными животными. При кормлении кроликов ХД в течение 80 дней происходило увеличение показателей общего холестерина в крови в 29 раз ($0,77 \pm 0,13$ – у интактных животных до $22,95 \pm 2,13$ – при ХД), ТГ в 2,5 раза ($1,68 \pm 0,35$ до $4,16 \pm 0,91$ соответственно), ЛПНП в 61 раз ($0,33 \pm 0,18$ до $18,14 \pm 1,55$ соответственно), ЛПОНП в 2,4 раза ($0,76 \pm 0,16$ до $1,89 \pm 0,41$), коэффициент атерогенности возрос в 7 раз ($1,18 \pm 0,72$ до $10,95 \pm 1,81$ соответственно).

При имплантации биополимеров (1 % геля хитозана аскорбата; 1 % сульфатированного водорастворимого хитозана) кроликам, содержащимся в течение 110 суток на ХД, гистоло-

гическая картина в стенке левой бедренной артерии с наличием липидной фиброзной бляшки существенно отличается от таковой в артериях правых конечностей. Параллельно с процессами биологической деградации полимера отмечается резорбция компонентов бляшки под воздействием макрофагов, индуцированных имплантированным полимером (рис. 1).

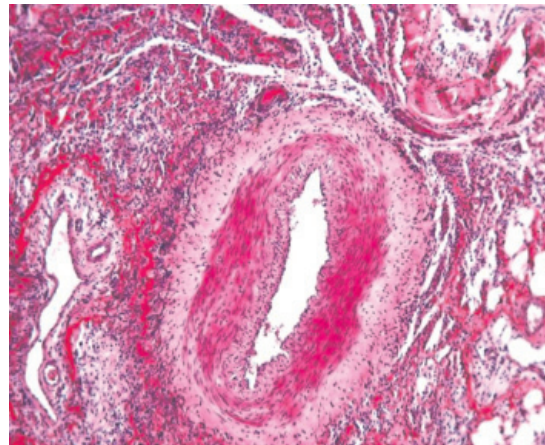


Рис. 1. Гистологический препарат бедренной артерии кролика, содержащегося в течение 110-ти суток на ХД в условиях имплантации 1 % геля сульфатированного водорастворимого хитозана. Окрашка гематоксилином и эозином. X 200

В некоторых образцах средней трети левых бедренных артерий выявляется отек различной степени выраженности (от слабо выраженного до выраженного). В интима правой бедренной артерии (между внутренней эластической мембраной и эндотелиоцитами) выявляются ксантомные клетки (рис. 2).

Численная плотность гладких миоцитов субинтимально и в медиі снижается, липидная фиброзная бляшка уплотняется и уменьшается в размере. Характер и плотность распределения клеток средней оболочки во всех образцах были приблизительно одинаковыми. В паравазальном пространстве артерии левой голени отмечается выраженная васкуляризация по сравнению с правой (рис. 3).

В случае, когда производилась имплантация биополимеров кроликам, которые содержались на стандартном рационе вивария, отличие заключается в том, что ни в одном из образцов не обнаружены ксантомные клетки, численная плотность гладких миоцитов правой и левой задних конечностей не отличается от интактных животных. Отмечается, что в паравазальном пространстве, как в случае имплантации на фоне ХД, наблюдается выраженная васкуляризация в левой голени по сравнению с правой.

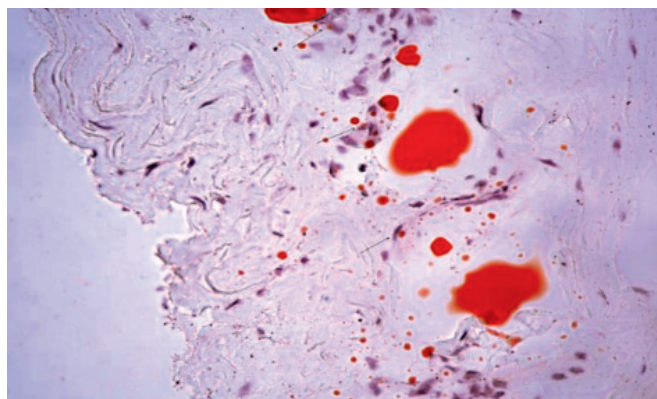


Рис. 2. Гистологический препарат бедренной артерии кролика, содержащегося в течение 110-ти суток на ХД в условиях имплантации 1% геля сульфатированного водорастворимого хитозана. Окраска судан III. X 400

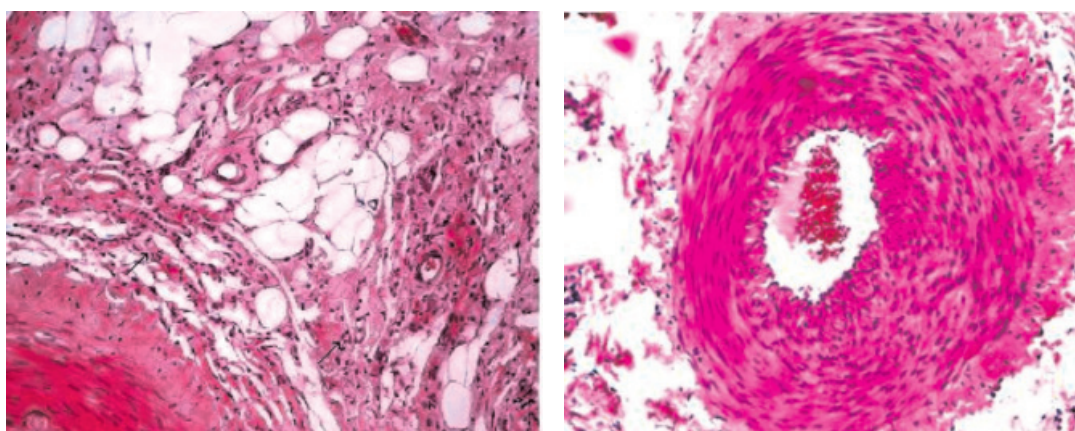


Рис. 3. Гистологические препараты бедренных артерий кролика, содержащегося в течение 110-ти суток на ХД в условиях имплантации 1% геля сульфатированного водорастворимого хитозана. Окраска гематоксилином и эозином:

а – выраженная васкуляризация паравазального пространства левой конечности X 400;
б – отдельные кровеносные сосуды в виде капилляров и венул в паравазальном пространстве правой конечности. Окраска гематоксилином и эозином. X 200

Анализ показывает, что удельный объем сосудистой стенки артерии голени интактных животных на 39% меньше, чем у кроликов, которые в течение 110 суток получали ХД, и составляет соответственно $50,17 \pm 5,80\%$ против $82,04 \pm 8,10\%$ ($p < 0,05$). Этот морфометрический показатель достоверно уменьшается соответ-

ственно на 27 и 15,2% при имплантации в паравазальное пространство левой голени кроликов, получавших ХД, 1% геля сульфатированного водорастворимого хитозана ($60,12 \pm 3,58\%$) и 1% геля хитозана аскорбата ($70,29 \pm 8,86\%$) по сравнению с правой конечностью – $82,46 \pm 7,65\%$ (биополимер не вводился) ($p < 0,05$) (рис. 4).

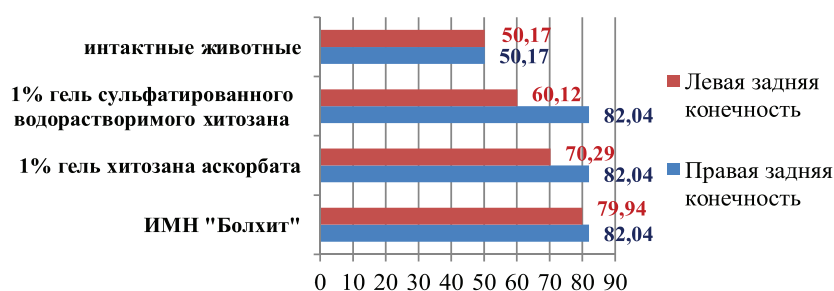


Рис. 4. Удельный объем сосудистой стенки голени интактных животных и кроликов, получавших ХД, после имплантации различных биополимеров (110-е сутки эксперимента)

Имплантация исследуемых биополимеров в паравазальное пространство голени кроликам, содержащимся на стандартном рационе вивария, не приводит к достоверному уменьшению удельного объема сосудистой стенки артерии голени. Однако следует отметить, что прослеживается явная тенденция уменьшения этого показателя при имплантации 1% геля сульфатированного водорастворимого хитозана и 1% геля хитозана аскорбата по сравнению в конечностью, в которую биополимер не вводился.

Холестериновая диета в течение 110 суток приводит к достоверному уменьшению на 40% удельного объема просвета артерии правой голени ($16,47 \pm 2,48\%$) по сравнению с интактными животными ($27,69 \pm 4,65\%$) ($p < 0,05$). При сравнении между собой этого морфометрического показателя левой и правой голени подопытных животных выявлено, что имплантация 1% геля сульфатированного водорастворимого хитозана приводит к его увеличе-

нию в левой голени на 87% и составляет $30,87 \pm 3,4\%$.

Анализ показывает, что удельный объем меди артерии голени интактных животных на 34% меньше, чем в голени правой конечности кроликов, которые в течение 110 суток получали холестериную диету и составляет соответственно $50,86 \pm 5,68\%$ против $76,82 \pm 4,71\%$ ($p < 0,05$). Этот морфометрический показатель достоверно уменьшается на 22% при имплантации в паравазальное пространство левой голени кроликов, получавших ХД, 1% геля сульфатированного водорастворимого хитозана ($60,13 \pm 3,22\%$) по сравнению с правой конечностью – $76,82 \pm 4,71\%$, $p < 0,05$. Следует отметить, что нахождение в течение 30 суток в околососудистом пространстве 1% геля хитозана аскорбата и ИМН «Болхит» приводит к явной тенденции к уменьшению удельного объема меди артерии голени левой конечности по сравнению с правой, хотя статистически эти показатели неразличимы $p > 0,05$ (рис. 5).

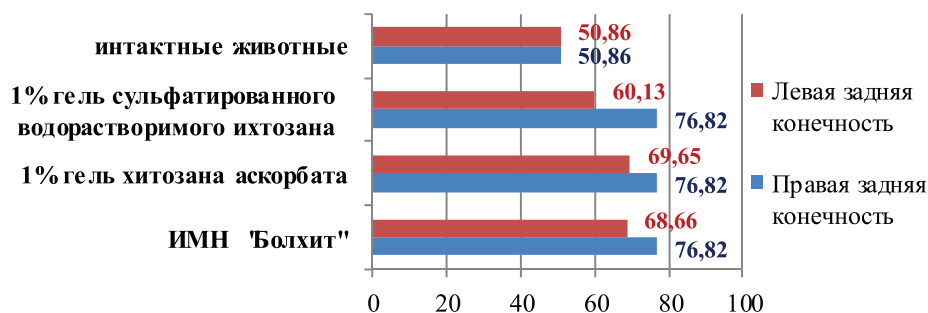


Рис. 5. Удельный объем меди голени интактных животных и кроликов, получавших ХД, после имплантации различных биополимеров (110-е сутки эксперимента)

Холестериновая диета в течение 110 суток приводит к увеличению на 64% коэффициента субинтимальных миоцитов артерии правой голени ($85,56 \pm 9,34$) по сравнению с интактными животными ($52,09 \pm 7,04$), $p < 0,05$. При сравнении данного морфометрического показателя левой

и правой голени подопытных животных выявлено, что имплантация 1% геля сульфатированного водорастворимого хитозана приводит к его уменьшению в левой голени на 27% и составляет $62,76 \pm 4,71$ по сравнению с правой – $85,56 \pm 9,34$, $p < 0,05$ (рис. 6).

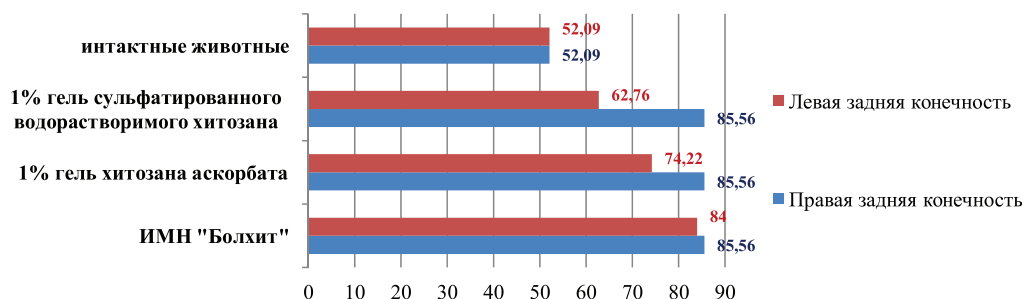


Рис. 6. Коэффициент субинтимальных миоцитов голени интактных животных и кроликов, получавших ХД, после имплантации различных биополимеров (110-е сутки эксперимента)

На 110-е сутки холестериновой диеты (ХД) после имплантации 1% геля аскорбата хитозана и 1% геля сульфатированного водорастворимого хитозана происходит достоверное увеличение количества сосудов паравазального пространства голени (непосредственная локализация биополимера) по сравнению с конечностью, в которую биополимер не вводился. При имплантации 1% геля аскорбата хитозана этот показатель увеличивается в левой конечности по срав-

нению с правой на 66% и составляет соответственно $30,67 \pm 5,89$ против $18,42 \pm 3,92$ ($p < 0,05$). Дислокация 1% сульфатированного водорастворимого хитозана в фасциальном ложе магистральной артерии в течение 30 суток приводит к увеличению количества сосудов паравазального пространства на месте деградации полимера на 56%. В левой конечности этот параметр равен $28,75 \pm 3,11$, а в правой – $18,42 \pm 3,92$ ($p < 0,05$) (рис. 7).

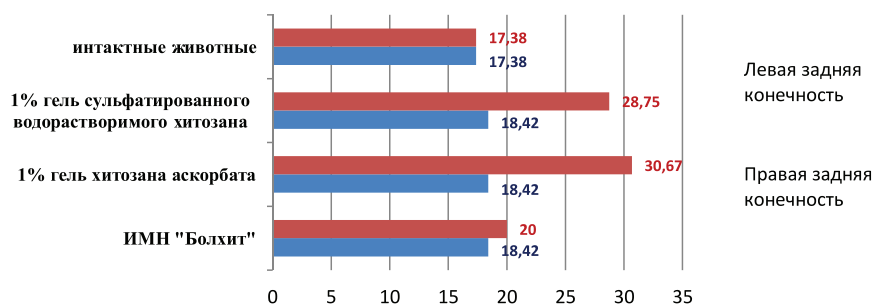


Рис. 7. Количество сосудов паравазального пространства голени интактных животных и кроликов, получавших ХД, после имплантации биополимеров (110-е сутки эксперимента)

Анализ показывает, что на 30-е сутки после имплантации 1% геля аскорбата хитозана и 1% сульфатированного водорастворимого хитозана кроликам, содержащимся на стандартном рационе вивария, происходит достоверное увеличение количества сосудов паравазального пространства голени (на месте резорбции хитозановой конструкции) по сравнению с конечностью, в которую биополимер не вводился. При имплантации 1%

геля аскорбата хитозана этот показатель увеличился в левой конечности по сравнению с правой на 88% и составил соответственно $23,3 \pm 3,45$ против $12,38 \pm 2,03$ ($p < 0,05$). Дислокация 1% сульфатированного водорастворимого хитозана в течение 30 суток приводит к увеличению количества сосудов паравазального пространства в месте дислокации в 2,1 раза. В левой конечности этот параметр равен $26,0 \pm 4,21$, а в правой – $12,38 \pm 2,03$ ($p < 0,05$) (рис. 8).

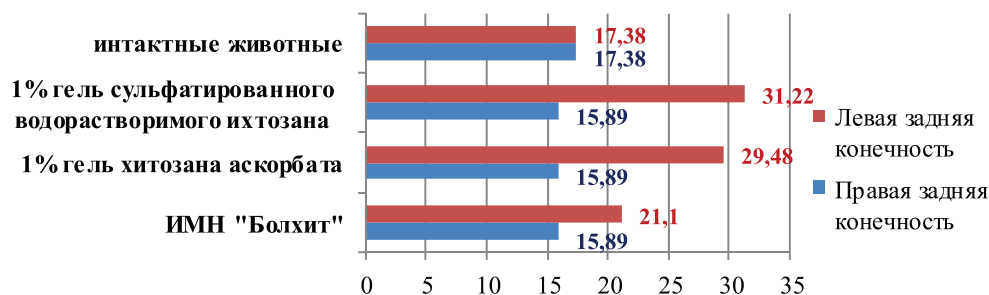


Рис. 8. Количество сосудов паравазального пространства голени интактных животных и кроликов, не получавших ХД, после имплантации биополимеров (110-е сутки эксперимента)

Реконструкция паравазального пространства вышележащих сегментов артерии, не контактировавших с биополимерной «рубашкой», не происходит, что указывает на строго локальный эффект терапевтического ангиогенеза.

Холестериновая диета в течение 80 суток приводит к уменьшению показателя микроциркуляции (ПМ) во всех исследуемых точках по сравнению с животными,

получавшими стандартный рацион вивария. В точке 1, которая расположена в области паховой складки, этот показатель у кроликов, получавших ХД, составляет $2,79 \pm 0,33$ перф.ед., а у интактных – $5,32 \pm 0,56$ перф.ед. ($p < 0,05$). В точке 2, расположенной чуть ниже коленного сустава, где непосредственно располагался биополимерный имплантат, у животных с ХД ПМ составлял $3,43 \pm 0,35$ перф.ед.,

у кроликов без ХД – $7,88 \pm 0,78$ перф.ед., $p < 0,05$. Это указывает на то, что ХД в течение 80-ти суток приводит к достоверному уменьшению ПМ соответственно в точке 1 на 48%, а в точке 2 – на 56%. Результаты исследования величин артериальной перфузии тканей показывает, что локализация 1% геля сульфатированного водорастворимого хитозана в паравазальном пространстве голени кроликов, получавших ХД, в течение 20-ти суток приводит к увеличению ПМ в точке 2 левой задней конечности на 80% по сравнению с исходным уровнем и на 86% по сравнению с сегментом правой конечности и составляет соответственно $6,16 \pm 0,51$ перф.ед. против $3,43 \pm 0,35$ и $3,31 \pm 0,53$ перф.ед., $p < 0,05$. Через

30 суток после имплантации биополимера (110-е сутки ХД) происходит снижение ПМ как в левой задней конечности, так и в правой, но в левой он остается выше на 34%, чем в правой и составляет соответственно $4,36 \pm 0,25$ перф.ед. против $3,25 \pm 0,29$ перф.ед., $p < 0,05$. Показатель микроциркуляции в точке 2 левой задней конечности у животных, не получавших ХД, также возрастал после имплантации указанного биополимера: на 20-е сутки – на 26% (составляет соответственно $9,70 \pm 0,27$ перф.ед. против $7,67 \pm 0,34$ перф.ед., $p < 0,001$), на 30-е сутки на 31% (составляет соответственно $9,87 \pm 0,45$ перф.ед. против $7,52 \pm 0,61$ перф.ед., $p < 0,05$) (рис. 9).

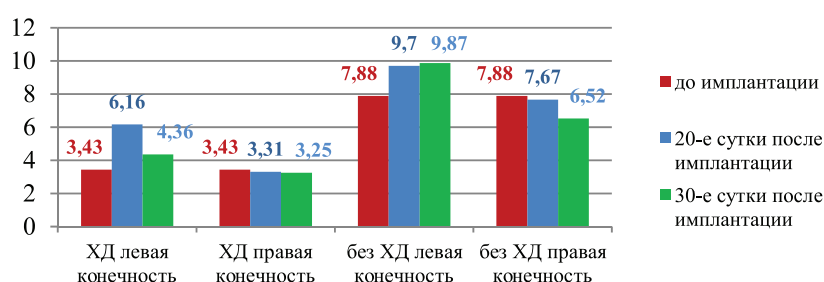


Рис. 9. Изменения показателя микроциркуляции задних конечностей кроликов в точке 2 под влиянием 1% геля сульфатированного водорастворимого хитозана

Анализ показывает, что дислокация 1% геля аскорбата хитозана в паравазальном пространстве голени кроликов, получавших ХД, в течение 20-ти суток приводит к увеличению ПМ в точке 2 левой задней конечности на 68% по сравнению с правой и составляет соответственно $5,64 \pm 0,76$ перф.ед. против $3,36 \pm 0,63$ перф.ед., $p < 0,05$. С момента имплантации этого биополимера в течение 20 суток в мягких тканях левого сегмента задней конечности возрастает ПМ с $3,43 \pm 0,35$ до $5,64 \pm 0,76$ перф.ед., что составляет 64%. Через 30 суток после имплантации биополимера (110-е сутки ХД) происходит снижение ПМ как в левой задней конечности, так и в правой, но в левой он остается на

36% выше, чем в правой и составляет соответственно $4,41 \pm 0,59$ перф.ед. против $3,24 \pm 0,60$ перф.ед., $p < 0,05$. По сравнению с началом имплантации уровень перфузии мягких тканей через 30 суток в левом сегменте превышает на 28%. Показатель микроциркуляции в точке 2 левой задней конечности у животных, не получавших ХД, также увеличивается после имплантации указанного биополимера по сравнению с правым сегментом: на 20-е сутки – на 41% (составляет соответственно $9,89 \pm 0,54$ перф.ед. против $6,99 \pm 0,34$ перф.ед., $p < 0,005$), на 30-е сутки – на 38% (составляет соответственно $9,77 \pm 0,19$ перф.ед. против $7,08 \pm 0,58$ перф.ед., $p < 0,05$) (рис. 10).

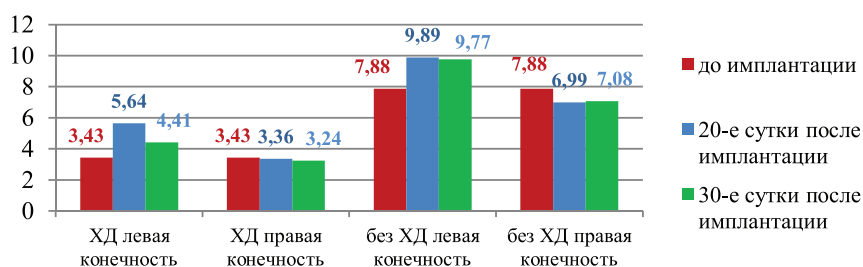


Рис. 10. Изменения показателя микроциркуляции задних конечностей кроликов в точке 2 под влиянием 1% геля аскорбата хитозана

Заключение

Использование холестериновой диеты у кроликов породы шиншилла в течение 80–110 дней обеспечивает увеличение в плазме крови в 1,5–2,5 раза уровня триглицеридов, в 30–90 раз уровня холестерина, в 29–56 раз и выше уровня фракции ЛПНП, в 2,5–5 раз уровня фракции ЛПОНП, формирует очень высокий коэффициент атерогенности. Высокий уровень гиперлипидемии у животных соответствует высокому уровню липидных фракций в тканях сосудистой стенки магистральных артерий и превышает в бедренных артериях уровень общих липидов в 3 раза, триглицеридов – в 2,5 раза, формируя в интиме скопления ксантомных клеток. Введение в паравазальное пространство магистральной артерии гелевой формы сульфатированного хитозана и кислых протонированных его форм стимулирует новообразование микрососудистого ложа на месте резорбции полимеров, увеличивая число новых сосудов у кроликов на 56–66%. Более высокий эффект терапевтического ангиогенеза ясно прослеживается и при имплантации хитозановых конструкций в ткани интактного животного, составляя прирост через 30 дней постимплантационного периода 96%. Малоинвазивная реконструкция биополимерами магистральных артерий на примере кроликов, заключающаяся в снижении удельного объема сосудистой стенки за счет снижения удельного объема меди и коэффициента субинтимальных миоцитов, в увеличении просвета сосуда и росте числа микрососудов паравазального ложа, обеспечивает локальное увеличение перфузии мягких тканей конечности через 20 дней после имплантации в среднем на 68–86%. Через 30 дней постимплантационного периода величина перфузии снижается, но превышает по сравнению с контрольной зоной на 34–36% перфузионных единиц.

Список литературы

1. Липидный спектр и микроциркуляция при использовании биополимеров в модели атерогенеза / И.Н. Большаков, О.А. Долгих, А.К. Кириченко, А.Р. Котиков, В.О. Горбунова // *Фундаментальные исследования*. – 2009. – № 7. – С. 41–42.
2. Реконструкция сосудистой стенки при атерогенезе с помощью хитозановых биополимеров / И.Н. Большаков, О.А. Долгих, А.К. Кириченко, А.Р. Котиков, В.О. Горбунова // *Фундаментальные исследования*. – 2009. – № 7. – С. 42–43.
3. Гальбрайт Л.С. Хитин и хитозан: строение, свойства, применение // *Соросовский образовательный журнал*. – 2001. – № 7. – С. 51–56.
4. Дзяк Г.В., Коваль Е.Л. Атеросклероз и воспаление // *Проблема старения и долголетия*. – 1999. – № 3. – С. 316–326.
5. Долгих О.А., Горбунова В.О. Экспериментальное обоснование реконструкции магистральных артерий нижних конечностей при атерогенезе с помощью природных биополимеров // *Сибирское медицинское обозрение*. – 2009. – № 3. – С. 88–90.
6. Климов А.Н., Никulichева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения. – СПб.: Питер, 1999. – С. 505–510.
7. Климов А.Н., Никulichева Н.Г. Липиды, липопротеиды и атеросклероз. – СПб.: Питер, 1995. – С. 298–303.
8. Взаимосвязь некоторых звеньев атерогенеза у высоко- и низкоустойчивых к дислипидемии кроликов / Л.П. Козева, Е.Д. Клименко, А.Б. Мичунская, О.М. Поздняков // *БЭМ*. – 2001. – № 10. – С. 378–381.
9. Холестериноз / Ю.М. Лопухин, А.И. Арчаков, Ю.А. Владимиров, Э.М. Коган. – М.: Медицина, – 2003. – С. 72–85.
10. Новоселов Н.П., Сашина Е.С. Современные представления о строении целлюлозы, хитина и хитозана. Механизм их растворения и биологическая активность // *Биологически активные вещества в растворах. Структура, термодинамика, реакционная способность* / под ред. А.М. Кутепова. – М.: Наука, 2001. – Гл.6. – С. 363–397.
11. Патент РФ № 2006129084/14, 10.08.2006.
12. Тарасенко Г.А. Экспериментальное обоснование гиполипидемического действия хитозана из панциря камчатского краба. Новые перспективы в исследовании хитина и хитозана – М.: Щелково, 1999. – С. 198–199.
13. Du W.L., Xu Z.R., Han X.Y., Xu Y.L., Miao Z.G. Preparation, characterization and adsorption properties of chitosan nanoparticles for eosin Y as a model anionic dye // *J. Hazardous Materials*. – 2008. – Vol. 153. – P. 152–156.
14. Madeddy P. Therapeutic angiogenesis and vasculogenesis for tissue regeneration // *Experimental physiology*. – 2004. – № 3. – P. 315–326.
15. Mitchell C., Mignon A., Guidotti J.E. et al. Therapeutic liver repopulation in a mouse model of hypercholesterolemia // *Hum. Mol. Genet.* – 2000. – Vol. 9, № 11. – P. 1597–1602.
1. Bolshakov I.N., Dolgikh O.A., Kirichenko A.K., Kotikov A.R., Gorbunova V.O. *Lipidnyy spectr i mikrocyrcelyatsiya pri ispolzovanii biopolimerov v modeli aterogeneza – Fundamentalnye issledovaniya*, 2009, no.7, pp. 41–42.
2. Bolshakov I.N., Dolgikh O.A., Kirichenko A.K., Kotikov A.R., Gorbunova V.O. *Rekonstruktsiya sossudicstoy stenki pri aterogeneze s pomoschyu khitosanivnykh biopolimerov – Fundamentalnye issledovaniya*, 2009, no.7, pp. 42–43.
3. Galbraith L.S. *Khitin i khitozan: stroenie, svoystva, primeneniye – Sorosovskiy obrazovatelnyy zhurnal*, 2001, no.7, pp. 51–66.
4. Dzyak G.V., Koval E.L. *Ateroskleroz i vospalenie – Problema stareniya i dolgoletiya*, 1999, no.3, pp. 316–326.
5. Dolgikh O.A., Gorbunova V.O. *Eksperimentalnoe obosnovaniye rekonstruktsii magistralnykh arteriy nizhnikh konechnostey pri aterogeneze s pomoschyu prirodnnykh biopolimerov – Sibirskoe meditsinskoe obozrenie*, 2009, no.3, pp. 88–90.
6. Klimov A.N., Nikulichева N.G. *Obmen lipidov i lipoproteidov i ego narusheniya – Sankt Peterburg: Piter*, 1999, no.1, pp. 505–510.
7. Klimov A.N., Nikulichева N.G. *Lipidy, lipoproteidy i ateroskleroz – Sankt Peterburg: Piter*, 1995, no.1, pp. 298–303.
8. Kobozeva L.P., Klimenko E.D., Michunskaia A.B., Pozdnyakov O.M. *Vzaimosvyaz nekotorykh zvenez aterogeneza u vysoko i nizko ustoichivyykh k dislipidemii krolikov – BEBM*, 2001, no.10, pp. 378–381.
9. Lopukhin U.M., Achkarov A.I., Vladimirov U.A., Kogan E.M. *Kholesterinoz – M.: Meditsina*, 2003, no.1, pp. 72–85.
10. Novoselov N.P., Cashina E.S. *Sovremennye predstavleniya o stroenii tsilyulozy, khitina i khitosana. Mekhanizm ikh rastvoreniya i biologicheskaya aktivnost – M.: Nauka*, 2001, no.6, pp. 363–397.
11. Patent RF № 2006129084/14, 10.08.2006.
12. Tarasenko G.A. *Eksperimentalnoe obosnovanie gipokholesterinemicheskogo deystviya khitosana iz pantsirya kamchatskogo kraba. Novye perspektivy v issledovanii khitina i khitosana – M.: Schelkovo*, 1999, no.1, pp. 198–199.
13. Du W.L., Xu Z.R., Han X.Y., Xu Y.L., Miao Z.G. *Preparation, characterization and adsorption properties of chitosan nanoparticles for eosin Y as a model anionic dye – J. Hazardous Materials*, 2008, no.1, pp. 152–156.
14. Madeddy P. *Therapeutic angiogenesis and vasculogenesis for tissue regeneration – Experimental physiology*, 2004, no.3, pp. 315–326.
15. Mitchell C., Mignon A., Guidotti J.E. et al. *Therapeutic liver repopulation in a mouse model of hypercholesterolemia – Hum. Mol. Genet.*, 2000, no.11, pp. 1597–1602.

Рецензенты:

Сухоруков А.М., д.м.н., профессор НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, г. Красноярск;

Зыкова Л.Д., д.м.н., профессор кафедры патологической анатомии, ГБОУ ВПО «КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого», г. Красноярск.

Работа поступила в редакцию 30.05.2013.