НАНОСТРУКТУРА ИНТИМЫ АОРТЫ ЧЕЛОВЕКА ПРИ РАЗВИТИИ АТЕРОСКЛЕРОЗА (поисково-экспериментальное исследование)

А. М. Голубев¹, В. В. Мороз¹, Е. К. Козлова^{1,2}, В. А. Сергунова¹, О. Е. Гудкова¹, М. А. Голубев³, В. Н. Калиничеснко⁴, А. М.Черныш^{1,2}

 ¹ НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского, Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2
² Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Россия, 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2
³ ООО «Корпорация «Медицинские электронные данные», Россия, 107045, г. Москва, Сретенский тупик, д. 4
⁴ НИИ органических полупродуктов и красителей, Россия,123001, г. Москва, ул. Б. Садовая, дом 1, к. 4

Nanostructure of Human Aortic Intima in Atherosclerosis (A Pilot Study)

A. M. Golubev¹, V. V. Moroz¹, E. K. Kozlova^{1,2}, V. A. Sergunova¹, O. E. Gudkova¹, M. A. Golubev³, V. N. Kalinichenko⁴, A. M. Chernysh^{1,2}

 ¹ V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, 25, Petrovka Str., Build. 2, Moscow 107031, Russia
² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia, 8, Trubetskaya Str., Build. 2, Moscow 119991, Russia
³ Corporation «Medical electronic data», Ltd., 4, Sretensky tupik, Moscow 107045, Russia
⁴ Research Institute of Organic Intermediates and Dyes, 1, B. Sadovaya Str., Build. 4, Moscow 123001, Russia

Цель работы — провести анализ наноструктуры интимы аорты человека при атеросклерозе и показать возможное действие препарата «ниодекс» на атеросклеротические бляшки.

Материал и методы: Образцы интимы аорты получали из участков с признаками атеросклеротических изменений на различных этапах их формирования. Фрагменты аорт инкубировали в растворе, содержащем циклодекстрины. В работе использовали раствор препарата НИОДЕКС — пропиленгликолевый эфир бета-циклодекстрина. На предметных стеклах с полилизином формировали слой интимы аорты. Образцы помещали в рабочую зону атомного силового микроскопа «Интегра Прима» (NT-MDT, РФ) и сканировали поверхности исследуемых образцов. Число точек сканирования — 512, поля сканирования: 100×100 мкм, 2000×2000 нм.

Результаты. Проведена классификация объектов наноповерхности, выделены характерные фрагменты: кратеры, хребты, трабекулярные нити, даны количественные оценки их размеров. Выделено 27 фрагментов, которые идентифицировались как растущие холестериновые бляшки. Из них в области хребтов выделены 16 фрагментов с размерами 900—1200 нм, а в области кратеров — 11 (600—1050 нм). Действие препарата «ниодекс» вызывало деструкцию липидных пятен и сглаживание поверхности интимы. Из 27 идентифицированных объектов больше половины — 15 уменьшили свой размер на 30% и более (в среднем до 340—400 нм). У 7 фрагментов снижение составило (10—15)%, у остальных 5 фрагментов снижение высоты образования было менее 10%.

Заключение. Предварительные результаты позволяют предположить, что воздействие препарата «ниодекс» на интиму аорты ведет к замедлению и снижению интенсивности процессов формирования атеросклеротических бляшек на фрагментах интимы.

Ключевые слова: интима аорты человека; атеросклеротические бляшки; ниодекс; наноструктура; атомная силовая микроскопия

Адрес для корреспонденции:	Correspondence to:
Аркадий Голубев	Mr. Arkady Golubev
E-mail: arkadygolubev@mail.ru	E-mail: arkadygolubev@mail.ru

Objective: to analyze the nanostructure of human aortic intima in atherosclerosis and demonstrate the potential effect of Niodex on cholesterol plaques.

Materials and methods. Samples of intima were taken from those parts of aorta, where different stages of atherosclerotic chages were obvious. Aortic samples were incubated in a solution containing cyclodextrins. A solution of NIODEX, a propylene glycol ester of beta-cyclodextrin, was used in the study. A layer of aortic intima was formed on the glass slide surface with polylysine. The samples were placed into the working area of an atomic-force microscope (Integra Prima, NT-MDT, Russian Federation), and their surfaces were scanned. The number of imaging points was 512; and the imaging regions were as follows: $100 \times 100 \,\mu$ m, 2000×2000 nm.

Results. Classification of nanosurface objects was performed and typical fragments (craters, ridges, and trabecular fibers) were identified, and quantitative assessment of their sizes was carried out. 27 fragments were identified as growing cholesterol plaques. 16 of them measuring 900–1200 nm were identified near ridges, and 11 near craters (600–1050 nm). Niodex caused destruction of lipid spots and smoothing of the intima surface. More than a half of the 27 identified objects (15) demostrated a 30% and more decrease in size (median 340–400 nm). A 10–15% decrease was registered in 7 fragments; in the remaining 5 fragments, the decrease in the lesion size was less than 10%.

Conclusion. Raw data permit to suppose that the effect of Niodex on the aortic intima results in decceleartion and decreased intensity of atherosclerotic plaque growth on the intima fragments.

Key words: human aortic intima; atherosclerotic plaques; nanostructure; atomic-force microscopy

DOI:10.15360/1813-9779-2016-5-8-15

Введение

Introduction

Ключевая роль в патогенезе атеросклероза отводится повреждению эндотелиальных клеток, в частности, гликокаликсу [1]. Известно, что атеросклероз аорты развивается в несколько стадий. Вначале это образование липидного пятна. На таких участках образуются комплексы соединений, состоящие из липидов (преимущественно холестерина), белков и происходит их отложение в интиме. Затем это разрастание в участках жировых отложений молодой соединительной ткани. Постепенно идет формирование атеросклеротической бляшки, состоящей из жиров и соединительнотканных волокон.

В последние годы осуществляется активный поиск фармакологических препаратов, предупреждающих развитие атеросклероза. В опытах in vitro показано, что циклодекстрины способны растворять липиды фибробластов. Большая часть холестерина удаляется из клеток в первые 1-2 часа инкубации [2]. При пероральном введении циклодекстрина у мышей отмечалось снижение в плазме крови холестерина и сложных эфиров холестерина на 14-20%, снижалось содержание проатерогенных липопротеидов [3]. Введение мышам циклодекстрина уменьшало размер атеросклеротических бляшек. За счет активации макрофагов из атеросклеротических бляшек активируется отток холестерина [4]. Показано, что циклодекстрины потенциируют антиатеросклеротическую активность рапамицина в результате селективного ингибирования mTORC1 [4].

В настоящее время разработан антиатерогенный препарат нового поколения на основе циклодекстринов — «ниодекс». Исследования свидетельствуют о его способности снижать содержание коллагена и полисахаридов в атеросклеротических Endothelial cell damage (in particular, glycocalyx) plays a key role in the pathogenesis of atherosclerosis [1].The course of aortic atherosclerosis includes several stages. First, a lipid spot appears. Compound complexes consisting of lipids (mainly, cholesterol) and proteins are formed at such sites, and their deposit in intima takes place. Then young connective tissue grows at lipid deposits. An atherosclerotic plaque consisting of lipids and connective tissue is gradually formed.

Researchers have been actively searching for pharmaceutical products that could prevent atherosclerosis. In vitro experiments demonstrated that cyclodextrins can dissolve fibroblast lipids. The greatest portion of cholesterol is eliminated from cells within the first 1-2 hours of incubation [2]. A 14-20% decrease in cholesterol and cholesterol ester plasma levels and a decrease in pro-atherogenic lipoproteins were registered in mice following oral administration of cyclodextrin [3]. Cyclodextrin administration reduced the size of atherosclerotic plaques in mice. Cholesterol outflow from the plaques is activated due to macrophage activation [4]. Cyclodextrins were demonstrated to potentiate the anti-atherosclerotic of rapamycin as a result of selective mTORC1 inhibition [4].

A new generation, cyclodextrin-based antiatherogenic medicinal product, Niodex, has been developed to date. Studies demonstrate its potential to reduce the collagen and polysaccharide content in atherosclerotic plaques. It is obvious from histological and histochemical findings: the intensity of collagen coloration and the intensity of PAS reaction are decreased. First of all, these changes are registered in the fibrous part of an atherosclerotic plaque and at the sites where cholesterol crystals are located. бляшках. Это показали результаты гистологического и гистохимических исследований: уменьшается интенсивность окрашивания коллагена, снижается интенсивность ШИК-реакции. Прежде всего, эти изменения регистрируются в фиброзной части атеросклеротической бляшки и в участках локализации кристаллов холестерина.

Все стадии развития атеросклероза широко представлены в литературе изображениями гистологических срезов при оптической микроскопии [5].

Гистологические методы позволяют анализировать микроскопические изменения в структуре интимы аорты (разрешение не выше микрона), но не дают возможности проследить, как появляются эти изменения на молекулярном уровне.

Наиболее эффективно данная задача может быть решена с помощью атомной силовой микроскопии [6, 7]. Используя методики атомной силовой микроскопии, можно наблюдать не только как зарождаются атеросклеротические бляшки, но и регистрировать процессы их подавления антиатерогенными препаратами.

Цель работы — провести анализ наноструктуры интимы аорты человека при атеросклерозе и показать возможное действие препарата «ниодекс» на атеросклеротические бляшки.

Материал и методы

Проведен анализ структуры интимы аорт (24 фрагмента), изъятых у 5 больных, умерших в результате осложнений атеросклероза. Препараты интимы аорт были получены в ГКБ № им. С. П. Боткина.

Образцы интимы аорты получали из участков с признаками атеросклеротических изменений на различных этапах их формирования. Препараты интимы обрабатывали в физиологическом растворе, содержащем циклодекстран. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван Гизону, проводили ШИК-реакцию. Для гистологического исследования срезов использовали микроскоп Olympus BX41 (Япония). Контрольные образцы интимы аорты не подвергали воздействию антиатеросклеротического препарата. Все исследования проводили в соответствии с нормами этического комитета ФБГНУ НИИ ОР. Фрагменты аорт инкубировали в растворе, содержащем циклодекстрины. В работе использовали раствор препарата НИО-ДЕКС - пропиленгликолевый эфир бета-циклодекстрина. Инкубацию проводили в течение 30 минут, 1, 3, 24 часов. Фрагменты аорт (4×8 мм) фиксировали в нейтральном формалине.

Для исследования образцов в поле атомного силового микроскопа на предметных стеклах формировали слой интимы аорты, который отделяли от других слоев. Образцы интимы аорты выделяли из неизмененных отделов внутреннего слоя аорты, из зон липидных пятен и из участков сформированных атеросклеротических бляшек.

В каждой аорте выделяли фрагмент интимы («образец») размером 10×5 мм. Образцы фиксировали на предметных стеклах с полилизином. Затем, образцы помещали в рабочую зону атомного силового All stages of atherosclerosis are substantially illustrated by microscopic sections [5].

Histological tests permit to analyze macroscopic changes in the aortic intima (with the resolution of not more than 1 micron), but they do not allow to trace the manifestations of these changes at a molecular level.

However, this problem may be solved using the atomic-force microscopy [6, 7]. The atomic-force microscopy permits to observe not only the early stages of atherosclerotic plaques, but also to trace their suppression by antiatherogenic agents.

The objective of the study is to analyze the nanostructure of human aortic intima in atherosclerosis and demonstrate the potential effect of Niodex on cholesterol plaques.

Materials and Methods

The structure of aortic intima (24 fragments) taken from 5 patients (who died of atherosclerotic complications) was analyzed. Aortic intima specimens were obtained in S. P. Botkin's State Municipal Hospital.

Samples of intima were taken from those parts of aorta, where different stages of atherosclerotic changes were obvious. The intima specimens were treated with cyclodextran dissolved in the saline. The microscopic sections were stained with hematoxylin and eosin (Van Gieson staining), and the PAS reaction was performed. The Olympus BX41 microscope (Japan) was used for the histological study. Reference samples of aortic intima were not exposed to the antiatherogenic agent. All studies were performed in accordance with guidelines of the Ethic Committee under the Scientific Research Institute of General Reanimatology. Aortic samples were incubated in a solution containing cyclodextrins. A solution of NIODEX, a propylene glycol ester of beta-cyclodextrin, was used in the study.

The samples were incubated for 30 minutes, 1,3, and 24 hours. Aortic fragments (4×8 mm) were fixed in neutral formalin.

A layer of aortic intima was separated from other layers and placed onto glass slides to be examined by an atomic-force microscope. The intima samples were isolated from unaltered portions of the internal aortic layer, from lipid spot sites, and from grown atherosclerotic plaques.

A 10×15 mm intima fragment («sample») was isolated in each aorta. The samples were fixed on glass slides with polylysine. Then the samples were placed into the working area of an atomic-force microscope (Integra Prima, NT-MDT, Russian Federation), and their surfaces were scanned. The imaging was performed in the resonant semi-contact (tapping) mode using the microscope software [8]. The fpN10 cantilevers (NT-MDT, Russian Federation) with a $\leq 22^{\circ}$ apex angle and $\sim 3-5$ nm radius. The interaction force during the imaging was 0.1-5 nN. The number of imaging points was 512; and the imaging regions were as follows: $100\times100 \ \mu$ m, 2000×2000 nm. First, $100\times100 \ \mu$ m aortic intima nanostructures were obtained. Then, the fragments were scanned in a 2000×2000 nm field, if necessary.

микроскопа «Интегра Прима» (NT-MDT, РФ) и сканировали поверхности исследуемых образцов. Сканирование проводили в резонансном полуконтактном режиме с использованием математического обеспечения этого микроскопа [8]. Использовали кантилеверы fpN10 (NT-MDT РФ) с углом при вершине $\leq 22^{\circ}$ и радиусом $\sim 3-5$ нм. Сила взаимодействия при сканировании 0,1–5 нН. Число точек сканирования — 512, поля сканирования: 100×100 мкм, 2000×2000 нм. Вначале получали фрагменты наноструктуры интимы аорты 100×100 мкм. Затем, если требовалось, сканировали участки в поле 2000×2000 нм.

Результаты и обсуждение

Атомная силовая микроскопия в отличие от оптической позволяет получать изображения поверхности образца с разрешением до 1 нм по плоскости, и до 0,1 нм по оси Z [9]. Ландшафт наноповерхности интимы аорты весьма вариабельный и сложный. Поэтому необходимо было выделить на нем некоторые характерные объекты для дальнейшего анализа. В данной работе рассматриваются поверхности в нанодиапазоне. Поэтому большие перепады структур интимы (несколько сот мкм) здесь не учитываются. Типичная наноповерхность интимы представлена на рис. 1, *а*.

На этом образце выделены области больших и малых кратеров, область хребта, трабекулярные нити. Эти области имеют характерные конфигурации и размеры. Рассмотрим их более подробно.

Области больших и малых кратеров представлены на рис. 1, b, c. Это области с типичными кольцевыми образованиями, размеры которых варьируют в широких пределах. Большие кратеры могут иметь диаметр от 1-5 до 100 и более микрон. При этом их глубина достигает 200-500 нм. При возникновении липидных пятен их глубина может достигать нескольких микрон. Поверхность больших кратеров, как правило, носит выраженный шероховатый характер. Параметры шероховатости составляют 30-150 нм. Малые кратеры встречаются на интиме существенно чаще. Их характерные диаметры 0т 120-150 до 900 нм. Они мельче, чем большие кратеры и могут иметь как кольцевую, так и вытянутую конфигурацию. Большие и малые кратеры накладываются на другие структуры и занимают практически всю поверхность интимы.

Ландшафт нанопоперхности интимы в области хребта и трабекулярных нитей представлен на рис. 1, *d*, *e*.

Хребты — это вытянутые высокие структуры длительной протяженности. Особенность этих образований в том, что их высота на всей протяженности меняется не более чем на 40%. Высота таких образований 300—700 нм, а их протяженность — до нескольких десятков микрон. Нитеобразные конфигурации высотой до 50—150 нм,

Results and Discussion

Unlike the optic microscopy, the atomic-force microscopy permits to obtain images of a sample with a resolution of 1 nm in plane and up to 0.1 nm along the Z axis [9]. The profile of the aortic intima nanosurface is variable and composite. Therefore, typical objects should be isolated for the further analysis. This paper dwells on nanosurfaces. Therefore, structural differences (hundreds of μ m) are not taken into account. A typical intima nanosurface is presented in Fig. 1, *a*.

In this sample, areas of large and small craters, the ridge, and trabecular fibers are highlighted. These areas have typical shapes and sizes. Let us consider them in details..

Areas of large and small craters are presented in Fig. 1b, c. These are areas with typical ring-shaped objects whose sizes vary within a large range. Large craters may be 1-5 to >100 microns in diameter. At that, their depth may be equal to 200-500 nm. The lipid spots may be several microns deep. The crater surfaces are usually rough. The roughness degree is about 30-150 nm. Small craters are more common in the intima. Their typical diameters are from 120-150 to 900 nm. They are smaller than large craters and may be ring-shaped or oblong. Small and large craters overlap other structures and cover almost the whole surface of the intima.

The profile of the intima nanosurface in the area of the ridge and trabecular fibers is presented in Fig. 1, d, e.

Ridges are oblong, high, long structures. The feature of these objects is that their height varies within the range of not more than 40% along their lengths. The height of these objects is 300-700 nm, and there length is dozens of microns. Thread-like, curvilinear, trabecule-like objects up to 50-150 nm high are called trabecular fibers (Fig. 1, *e*).

The formation of lipid spots is presented in Fig. 2.

At the same time, lipid spots were identified using standard histological techniques.

Lipid spot outgrowths appear on the typical intima surface (Fig. 1) as a result of abnormal processes described above. Such outgrowths were observed as single (Fig. 2, b) and multiple objects (Fig. 2, a) on the $100 \times 100 \mu$ m surface. Since the intima nanosurface is variable and composite, the detection of lipid spots is quite a problem: it is necessary to differentiate between the plaque outgrowth and normal surface. The following technique was applied. If the object was near a crater, then the value of 300-350 nm was taken as a midline. This line was equal to 500 nm for the ridge. The spot height was measured against this line. The lipid spots projected above the profile surface by 600-1200 nm. However, this approach was not a guaran-



Рис. 1. Ландшафт поверхности интимы аорты. Fig. 1. The landscape of aortic intima surface.

Note. a – a typical profile of a normal aortic intima surface. 100×1000 µm image; b – large crater; c – small craters. 3500×3500 nm image. b1 and c1 – the profiles of b, c surfaces; d – the area of the ridge. 10×10 µm image. e – the area of trabecular fibers. 3×3 µm image. **Примечание.** a – типичный ландшафт поверхности интимы аорты в норме. Скан 100×100 мкм. b – большой кратер; c – малые кратеры. Сканы 3500×3500 нм. b1 и c1 – профили поверхностей b и c. d – область хребта. Сканы 10×10 мкм. e – область трабекулярных нитей. Сканы 3×3 мкм. Сгаter areas – области кратеров; Protuberance – выпуклость; Ridge – хребет; Trabecular fibers – трабекулярные нити.

12





Note. Multiple spots (*a*) and a single spot (*b*) are marked by arrows; c - lipid spot growth.

Примечание. Множественные (*a*) и единичное (*b*) липидные пятна отмечены стрелками; *с* – рост липидного пятна.

имеющие криволинейную геометрию и вид трабекул, названы трабекулярными нитями (рис. 1, е).

Образование липидных пятен на интиме аорты показано на рис. 2.

Липидные пятна параллельно идентифицировали стандартными гистологическими методами.

На типичной поверхности интимы (рис. 1) в результате патологических процессов, описанных выше, возникают выросты липидных пятен. Такие выросты наблюдали как одиночные образования (рис. 2, b), так и одновременно по несколько образований (рис. 2, *a*) на поверхности 100×100 мкм. Вследствие вариабельности и сложности наноповерхности интимы выявление липидных пятен представляет отдельную задачу: что считать выростом бляшки, а что принадлежит нормальной поверхности? Если образование располагалось в районе кратера, то за среднюю линию считали 300—350 нм. Для хребта эта линия составляла 500 нм. Относительно этой линии отсчитывали высоту пятна. Липидные пятна выступали над средней линией ландшафта на 600-1200 нм. Но и такой подход не гарантировал однозначного распознавания искомых объектов. Бляшки могли располагаться и во впадине и на склонах кратеров или хребтов. Такие фрагменты в работе рассматривали как артефакты и не анализировали.

На начальных стадиях развития липидные пятна имели близкие между собой размеры и конфигурацию. Их жесткость отличалась от таковой средней структуры интимы (и кратеров и хребта) в 1,2—1,4 раза.

По мере развития процесса образования липидные пятна увеличивали свои размеры до 4 мкм (как на рис. 2, *c*). Одновременно росла их жесткость [10, 11]. Она увеличивалась на 10—20% по сравнению с начальной фазой роста (рис. 2, *c*). В tee for identification of required objects. The plaques could be located both in the cavity and on slopes of craters or ridges. Such fragments were considered as artifacts and were not taken into account.

At early stages, the lipid spots had similar sizes and shapes. Their stiffness differed from that of the median structure of the intima (both craters and ridge) by 1.2-1.4-fold.

Then, with the course of growth, the lipid spots grew up to 4 μ m (as seen in the Fig. 2, c). At the same time, their stiffness increased [10, 11]. It increased by 10–20% as compared to the initial stage (Fig. 2, c). In this study, for technological reasons, the stiffness was measured by atomic-force spectroscopy using a dry sample. Therefore, stiffness changes are expressed only in relative units.

27 fragments were identified as growing cholesterol plaques in 24 samples. 16 of them measuring 900–1200 nm were identified near ridges, and 11 near craters (600–1050 nm). The limited number of findings is related, first of all, to diffiulties of identification of incipient plaques against the background of a composite intima surface, as well as to laborintensiveness of anlayses of this nanosurface. Differences in shapes and sizes fo the isolated fragments do not permit to conclude that they are related to craters or ridge, or that this or that object on the nanosurface provokes the growth of atherosclerotic plaques with a more or less degree of certainty.

Niodex caused destruction of lipid spots and smoothing of the intima surface. More than a half of the 27 identified objects (15) demostrated a 30% and more decrease in size (median 340-400 nm). A 10-15% decrease was registered in 7 fragments; in the remaining 5 fragments, the decrease in the lesion size was less than 10%. The decrease in less than 10% was considered insignificant. данной работе в силу технологических причин жесткость была измерена методом атомно-силовой спектроскопии на сухом образце. Поэтому изменения жесткости приводятся только в относительных елиницах.

Всего в 24-х образцах было выделено 27 фрагментов, которые идентифицировались как растущие холестериновые бляшки. Из них в области хребтов были выделены 16 фрагментов с размерами 900-1200 нм, а в области кратеров - 11 (600-1050 нм). Ограниченный объем результатов вызван, прежде всего, трудностями идентификации зарождающихся бляшек на фоне сложного ланшафта интимы, а так же трудоемкостью анализа этой наноповерхности. Разбросы размеров и конфигурация выделенных фрагментов не позволяют считать, что они чаще принадлежат хребтам или кратерам.

Действие препарата «ниодекс» вызывало деструкцию липидных пятен и сглаживание поверхности интимы. Из 27 идентифицированных объектов больше половины — 15 уменьшили свой размер на 30% и более (в среднем до 340-400 нм). У 7 фрагментов снижение составило 10-15%, у остальных 5 фрагментов снижение высоты образования было менее 10%. Снижение размера менее, чем на 10%, считали незначительным.

Эффект действия препарата «ниодекс» представлен на рис. 3.

Общий ландшафный перепад над средней линией горизонта на превышает 1 мкм и его поверхность не имеет резко выраженных выступов.

Заключение

Данная работа имеет поисковый экспериментальный характер. Сделана попытка классификации нанообъектов сложной поверхности интимы аорты человека. Разбросы размеров выделенных фрагментов не позволяют считать, что то или иное образование на наноповерхности интимы (хребты, кратеры) в большей или в меньшей степени провоцирует образование бляшек. Предварительные результаты, содержащиеся в работе, позволяют предположить, что воздействие препарата «ниодекс» на интиму аорты ведет к замедлению и снижению интенсивности процессов формирования атеросклеротических бля-

Литература

14



Рис. 3. Наноповерхность интимы аорты после действия препарата ниолекс.

Fig. 3. The aortic intima nanosurface exposed to Niodex. Note. 1000×1000 nm image. **Примечание.** Скан 1000×1000 нм.

The effect of Niodex is presented in Fig. 3.

The general difference against the midline exceeds 1 µm, and its surface does not have marked projections.

Conclusion

This is a research and experimental study. This study made an attempt to classify nano-objects on a composite surface of the human aortic intima. Differences in shapes and sizes of the isolated fragments do not permit to conclude that that this or that object on the intima nanosurface (ridges, craters) provokes the growth of atherosclerotic plaques with a more or less degree of certainty. Raw data permit to suppose that the effect of Niodex on the aortic intima results in deceleration and decreased intensity of atherosclerotic plaque growth on the intima fragments. Further studies are required to obtain more detailed information about the efficacy of this medicinal product.

шек на фрагментах интимы. Получение более полных сведений об эффективности данного препарата будет возможно при проведении дальнейших исследований.

References

- Dou Y., Guo J., Chen Y., Han S., Xu X., Shi Q., Jia Y., Liu Y., Deng Y., 1 Wang R., Li X., Zhang J. Sustained delivery by a cyclodextrin materialbased nanocarrier potentiates antiatherosclerotic activity of rapamycin via selectively inhibiting mTORC1 in mice. J. Control. Release. 2016; 235: 48-62. http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2016. 05.049, PMID: 27235978
- Zimmer S., Grebe A., Bakke S.S., Bode N., Halvorsen B., Ulas T., Skjelland M., De Nardo D., Labzin L.I., Kerksiek A., Hempel C., Heneka M.T., Hawxhurst V., Fitzgerald M.L., Trebicka J., Björkhem I., Gustafsson J.E., Westerterp M., Tall A.R., Wright S.D., Espevik T., Schultze J.L., Nickenig G., Lütjohann D., Latz E. Cyclodextrin promotes atherosclerosis regression via macrophage reprogramming. Sci. Transl. Med. 2016; 8 (333):

Dou Y., Guo J., Chen Y., Han S., Xu X., Shi Q., Jia Y., Liu Y., Deng Y., 1. Wang R., Li X., Zhang J. Sustained delivery by a cyclodextrin materialbased nanocarrier potentiates antiatherosclerotic activity of rapamycin via selectively inhibiting mTORC1 in mice. J. Control. Release. 2016; 235: 48–62. http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2016. 05.049. PMID: 27235978

Zimmer S., Grebe A., Bakke S.S., Bode N., Halvorsen B., Ulas T., Skjelland Jammo S., Orobert, Babin L.J., Kerksiek A., Hempel C., Heneka M.T., Hawxhurst V., Fitzgerald M.L., Trebicka J., Björkhem I., Gustafsson J.E., Westerterp M., Tall A.R., Wright S.D., Espevik T., Schultze J.L., Nickenig G., Lütjohann D., Latz E. Cyclodestrin promotes atherosclerosis regres-sion via macrophage reprogramming. Sci. Transl. Med. 2016; 8 (333):

333
ra50. http://dx.doi.org/10.1126/scitransl
med.aad6100. PMID: 27053774 $\,$

- Wagner E.M., Jen K.L., Artiss J.D., Remaley A.T. Dietary alphacyclodextrin lowers low-density lipoprotein cholesterol and alters plasma fatty acid profile in low-density lipoprotein receptor knockout mice on a high-fat diet. Metabolism. 2008; 57 (8): 1046–1051. http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2008.02.020. PMID: 18640380
- Kilsdonk E.P., Yancey P.G., Stoudt G.W., Bangerter F.W., Johnson W.J., Phillips M.C., Rothblat G.H. Cellular cholesterol efflux mediated by cyclodextrins. J. Biol. Chem. 1995; 270 (29): 17250–17256. http://dx.doi.org/10.1074/jbc.270.29.17250. PMID:7615524
- Генс А.П., Иванова А.Г., Чарчян Э.Р., Степаненко А.Б. Гистоморфологические особенности аорты и клапанов сердца при синдроме Марфана и болезни Эрдгейма. Клин. и эксперим. хирургия. Журн. им. акад. Б.В. Петровского. 2015; 2: 25–32.
- Kozlova E.K., Chernysh A.M., Moroz V.V., Kuzovlev A.N. Analysis of nanostructure of red blood cells membranes by space Fourier transform of AFM images. *Micron.* 2013; 44: 218–227. http://dx.doi.org/10. 1016/j.micron.2012.06.012. PMID: 22854216
- Moroz V.V., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Borshegovskaya P.Y., Bliznjuk U.A., Rysaeva R.M., Gudkova O.E. Comparison of red blood cell membrane microstructure after different physicochemical influences: atomic force microscope research. J. Crit. Care. 2010; 25 (3): 539.e1–539.e12.
- Мороз В.В., Сергунова В.А., Назаров Б.Ф., Козлова Е.К., Черныш А.М., Власов И.Б. Изменения наноструктуры мембран красных клеток крови при кровопотере на этапах хирургического лечения у больных при операциях на спинном мозге. Общая реаниматология. 2013; 9 (2): 5–11. http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-2-5
- Мороз В.В., Черныш А.М., Козлова Е.К., Гудкова О.Е., Сергунова В.А., Мягкова Е.А., Кузовлев А.Н. Методика микроскопического анализа мембран эритроцитов. Общая реаниматология. 2013; 9 (5): 62–67. http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-5-62
- Сергунова В.А., Козлова Е.К., Мягкова Е.А., Черныш А.М. Измерение упруго-эластичных свойств мембраны нативных эритроцитов in vitro. Общая реаниматология. 2015; 11 (3): 39–44. http://dx.doi. org/10.15360/1813-9779-2015-3-39-44
- Сергунова В.А., Гудкова О.Е., Козлов А.П., Черныш А.М. Измерение локальной жесткости мембран эритроцитов с помощью атомно-силовой спектроскопии. Общая реаниматология. 2013; 9 (1): 14–17. http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-1-14

Поступила 08.03.16

333
ra50. http://dx.doi.org/10.1126/scitransl
med.aad6100. PMID: 27053774 $\,$

- Wagner E.M., Jen K.L., Artiss J.D., Remaley A.T. Dietary alphacyclodextrin lowers low-density lipoprotein cholesterol and alters plasma fatty acid profile in low-density lipoprotein receptor knockout mice on a high-fat diet. Metabolism. 2008; 57 (8): 1046–1051. http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2008.02.020. PMID: 18640380
- Kilsdonk E.P., Yancey P.G., Stoudt G.W., Bangerter F.W., Johnson W.J., Phillips M.C., Rothblat G.H. Cellular cholesterol efflux mediated by cyclodextrins. J. Biol. Chem. 1995; 270 (29): 17250–17256. http://dx.doi.org/10.1074/jbc.270.29.17250. PMID:7615524
- Gens A.P., Ivanova A.G., Charchyan E.R., Stepanenko A.B. Gistomorfologicheskie osobennosti aorty i klapanov serdtsa pri sindrome Marfana i bolezni Erdgeima. [Histomorphological characteristics of aorta and heart valves in patients with Marfan syndrome and Erdheim disease]. Klimicheskaya i Eksperimentalnaya Khirurgiya. Zhurnal Imeni Akademika B.V. Petrovskogo. 2015; 2: 25–32. [In Russ.]
- Kozlova E.K., Chernysh A.M., Moroz V.V., Kuzovlev A.N. Analysis of nanostructure of red blood cells membranes by space Fourier transform of AFM images. *Micron.* 2013; 44: 218–227. http://dx.doi.org/10. 1016/j.micron.2012.06.012. PMID: 22854216
- Moroz V.V., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Borshegovskaya P.Y., Bliznjuk U.A., Rysaeva R.M., Gudkova O.E. Comparison of red blood cell membrane microstructure after different physicochemical influences: atomic force microscope research. J. Crit. Care. 2010; 25 (3): 539.e1–539.e12.
- Moroz V.V., Sergunova V.A., Nazarov B.F., Kozlova E.K., Chernysh A.M., Vlasov I.B. Izmeneniya nanostruktury membran krasnykh kletok krovi pri krovopotere na etapakh khirurgicheskogo lecheniya u bolnykh pri operatsiyakh na spinnom mozge. Obshchaya Reanimatologiya. [Changes in the nanostructure of red blood cells in intraoperative blood loss during spinal cord surgery. General Reanimatology]. 2013; 9 (2): 5–11. http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2013-2-5. [In Russ.]
- Moroz V.V., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Gudkova O.E., Sergunova V.A., Myagkova E.A., Kuzovlev A.N. Metodika mikroskopicheskogo analiza membran eritrotsitov. Obshchaya Reanimatologiya. [Procedure for microscopic analysis of red blood cell membranes. General Reanimatology]. 2013; 9 (5): 62–67. http://dx.doi.org/10.15360/ 1813-9779-2013-5-62. [In Russ.]
- Sergunova V.A., Kozlova E.K., Myagkova E.A., Chernysh A.M. Izmerenie uprugo-elastichnykh svoistv membrany nativnykh eritrotsitov in vitro. Obshchaya Reanimatologiya. [In vitro measurement of the elastic properties of the native red blood cell membrane. General Reanimatology]. 2015; 11 (3): 39–44. http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2015-3-39-44. [In Russ.]
- Sergunova V.A., Gudkova O.E., Kozlov A.P., Chernysh A.M. Izmerenie lokalnoi zhestkosti membran eritrotsitov s pomoshchyu atomnosilovoi spektroskopii. Obshchaya Reanimatologiya. [Measurement of the local tension of red blood cell membranes by atomic force spectroscopy. General Reanimatology]. 2013; 9 (1): 14–17. http://dx.doi. org/10.15360/1813-9779-2013-1-14. [In Russ.]

Submited 08.03.16

КАЛЕНДАРЬ МЕРОПРИЯТИЙ – 2016

ФГБНУ «НИИ общая реаниматология им. В. А. Неговского» г. Москва, ул. Петровка, 25/2, +7 (495) 650-25-17 www.niiorramn.ru • niiorramn@niiorramn.ru

Сертификационный цикл повышения квалификации врачей по специальности «Анестезиология-реаниматология» 07 ноября — 02 декабря

Всероссийская конференция молодых ученых «Современные методы диагностики и лечения в реаниматологии» 1 декабря

XVIII Всероссийская конференция с международным участием «Жизнеобеспечение при критических состояниях» 1—2 декабря