



Богдан В.Г.¹✉, Доронькина А.С.², Жаворонок И.П.², Федорова Е.В.², Филиппович Т.А.²,
Лепешко С.Г.², Маньковская С.В.²

¹ Национальная академия наук Беларуси, Минск, Беларусь

² Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Беларусь

Патогенетическая модель хронической артериальной недостаточности кровоснабжения конечности в эксперименте

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Богдан В.Г. – концепция и дизайн исследования, участие в проведении исследования, анализе материалов и результатов, корректировка содержания статьи; Доронькина А.С., Жаворонок И.П., Федорова Е.В., Филиппович Т.А., Лепешко С.Г., Маньковская С.В. – участие в проведении исследования, сборе, анализе материалов и результатов, подготовке статьи.

Финансирование: работа выполнялась в рамках задания отдельного проекта фундаментальных и прикладных научных исследований № 20230877 «Изучение безопасности и ангиогенной активности генноинженерных плазмидных конструкций в условиях моделирования ишемии нижних конечностей в экспериментах in vivo».

Этическое заявление: работа выполнялась в соответствии с этическими нормами, одобрена комитетом по биоэтике Института физиологии Национальной академии наук Беларуси (протокол № 1 от 26 января 2023 г.).

Подана: 29.12.2023

Принята: 11.03.2024

Контакты: bogdan-5@mail.ru

Резюме

Цель. Разработка и комплексное обоснование патогенетической модели хронической недостаточности артериального кровоснабжения (ишемии) конечности в эксперименте.

Материалы и методы. Экспериментальное исследование проводилось на 54 половозрелых крысах-самцах линии Wistar в возрасте 6–8 месяцев. Моделирование хронической недостаточности артериального кровоснабжения конечности у лабораторного животного выполняли по разработанному способу путем перевязки и иссечения участка бедренной артерии длиной не менее 12 мм с ограничением подвижности крысы в течение 28 суток после операции. У всех животных до операции, а также на 7-е, 14-е, 21-е, 28-е, 35-е, 42-е, 56-е и 70-е сутки после оперативного вмешательства оценивали показатели порога ноцицептивной реакции, изменения паттернов походки, биохимического анализа крови, выполняли гистологическое исследование мышц бедра и голени.

Результаты. Экспериментальная модель хронической артериальной недостаточности конечности характеризовалась стойким снижением порога ноцицептивной реакции с уменьшением площади и интенсивности отпечатка лапы оперированной конечности, необратимой структурной перестройкой капиллярного русла и уменьшением в ишемизированных скелетных мышцах голени и бедра количества кровеносных сосудов, приходящихся на одно мышечное волокно. Указанные признаки сохранялись до 70 суток наблюдения. Восстановление двигательной активности лабораторных животных с артериальной недостаточностью конечностей оказывает положительное влияние на показатели болевой чувствительности.



Заключение. Разработанный способ моделирования формирует развитие хронической артериальной ишемии конечности и позволяет достоверно воспроизвести патогенетические нарушения кровообращения мышечной ткани в эксперименте. Использование нового метода моделирования позволит обоснованно оценивать возможные способы коррекции данной патологии с применением различных медицинских технологий.

Ключевые слова: хроническая недостаточность артериального кровоснабжения конечности, эксперимент, крысы, ишемия, кровеносные сосуды, ноцицептивная реакция

Bogdan V.¹✉, Doronkina A.², Zhavoronok I.², Fedorova E.², Filippovich T.², Lepeshko S.², Mankovskaya S.²

¹ National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

² Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Pathogenetic Model of Chronic Arterial Insufficiency of Blood Supply to a Limb in an Experiment

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Bogdan V. – the concept and design of the study, participation in the research, analysis of materials and results, correction of the content of the article; Doronkina A., Zhavoronok I., Fedorova E., Filippovich T., Lepeshko S., Mankovskaya S. – participation in the research, collection, analysis of materials and results, preparation of the article.

Funding: the work was carried out within the framework of the task of a separate project of fundamental and applied scientific research № 20230877 "Studying the safety and angiogenic activity of genetically engineered plasmid structures in conditions of modeling lower limb ischemia in in vivo experiments".

Ethics statement: the work was carried out in accordance with ethical standards, approved by the Bioethics Committee of the Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus (protocol No. 1 dated January 26, 2023).

Submitted: 29.12.2023

Accepted: 11.03.2024

Contacts: bogdan-5@mail.ru

Abstract

Purpose. Development and comprehensive substantiation of a pathogenetic model of chronic insufficiency of arterial blood supply (ischemia) of the limb in an experiment.

Materials and methods. The experimental study was conducted on 54 sexually mature male Wistar rats aged 6–8 months. Modeling of chronic insufficiency of arterial blood supply to the limb in a laboratory animal was performed according to the developed method by ligation and excision of a section of the femoral artery with a length of at least 12 mm with limited mobility of the rat for 28 days after surgery. In all animals before surgery, as well as on 7, 14, 21, 28, 35, 42, 56 and on the 70th day after surgery, the indicators of the nociceptive response threshold, changes in gait patterns, biochemical blood analysis, and histological examination of the thigh and lower leg muscles were evaluated.

Results. The experimental model of chronic arterial limb insufficiency was characterized by a persistent decrease in the threshold of nociceptive reaction with a decrease in the area and intensity of the paw print of the operated limb, irreversible structural restructuring of the capillary bed and a decrease in the number of blood vessels per muscle fiber in the ischemic skeletal muscles of the lower leg and thigh. These signs persisted for up to

70 days of observation. Restoration of motor activity of laboratory animals with arterial limb insufficiency has a positive effect on pain sensitivity indicators.

Conclusion. The developed modeling method forms the development of chronic arterial limb ischemia and makes it possible to reliably reproduce pathogenetic circulatory disorders of muscle tissue in an experiment. The use of a new modeling method will make it possible to reasonably assess possible ways to correct this pathology using various medical technologies.

Keywords: chronic insufficiency of arterial blood supply to the limb, experiment, rats, ischemia, blood vessels, nociceptive reaction

■ ВВЕДЕНИЕ

В последние десятилетия хроническая ишемия нижних конечностей – одна из самых распространенных патологий сердечно-сосудистой системы человека. Несмотря на успехи сосудистой хирургии, в 20% случаев наблюдается прогрессирование заболевания и возникает опасность потери конечности [1–3]. Поэтому необходимы дальнейшее изучение механизмов развития данного заболевания, поиск эффективных средств и методов его лечения. Однако эти задачи можно решать только при наличии воспроизводимых экспериментальных моделей *in vivo*, обеспечивающих адекватность результатов доклинических испытаний для дальнейших клинических исследований.

В литературе описан ряд способов хирургического моделирования хронической недостаточности артериального кровоснабжения (ишемии), в основе которых лежит формирование условий, приводящих к нарушению кровотока в бедренной артерии задней конечности лабораторного животного. Наиболее простая модель формируется путем наложения на подвздошную артерию кетгутовой нити в виде спирали с сужением просвета сосуда на $\frac{1}{2}$ диаметра. Хроническая ишемия возникает постепенно в результате набухания кетгутовой нити и дальнейшего сужения просвета сосуда, однако уже через 2–3 недели кровоток восстанавливается из-за рассасывания лигатуры [4]. Юдин М.А. и соавторы осуществляли лигирование бедренной артерии двумя лигатурами, после чего применяли пересечение сосуда между ними [5]. Зарубежные авторы предложили проводить перевязку бифуркации бедренной артерии, из-за которой прекращался кровоток по поверхностной и глубокой артерии бедра [6]. Воронов Д.А. с соавторами создали более агрессивную модель хронической ишемии путем наложения четырех лигатур: на бедренную вену и на подвздошную, подколенную, бедренную артерии с иссечением последней [7]. При этом отличительной чертой большинства экспериментальных исследований являлось использование молодых животных (возраст 2–3 месяца), тогда как пациенты с заболеванием периферических артерий обычно принадлежат к группе лиц старшего возраста, имеющих определенную коморбидную патологию. Кроме того, анатомо-топографические особенности кровоснабжения конечностей у грызунов в случаях моделирования нарушения артериального кровоснабжения обеспечивают высокий уровень компенсаторных механизмов и быстрое восстановление кровотока, что затрудняет оценку терапевтических эффектов. Подобная ситуация с самостоятельным регрессом моделируемого патологического процесса может также возникнуть в случаях



недостаточного нарушения артериального кровотока у крыс. Вместе с тем ключевым фактором модели хронической недостаточности артериального кровоснабжения задней конечности считается постепенное и необратимое развитие нарушений, без признаков острой ишемии.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработка и комплексное обоснование патогенетической модели хронической недостаточности артериального кровоснабжения (ишемии) конечности в эксперименте.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на белых половозрелых крысах-самцах Wistar ($n=54$), содержащихся в условиях вивария ГНУ «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси» при температуре $22,0 \pm 1,0$ °C и 12/12 ч. цикле ночь/день со свободным доступом к воде и пище.

Нами разработан способ моделирования хронической недостаточности артериального кровоснабжения у лабораторного животного (заявка на патент № а20230305 от 01.12.2023). Хирургическое вмешательство на правой задней конечности крыс возрастом 6–8 месяцев проводили под общей анестезией (тиопентал натрия, 30 мг/кг внутривенно) в комплексе с местным обезболиванием (40 мкл 1% раствора лидокаина гидрохлорида подкожно) вдоль места разреза. Затем крыс фиксировали на спине и после подготовки операционного поля (сбривание шерсти триммером и обработка 5% спиртовым раствором йода) выполняли разрез кожи скальпелем в проекции прохождения сосудисто-нервного пучка на внутренней поверхности бедра. Бедренную артерию (*arteria femoralis*) отделяли от вены (*vena femoralis*) и нерва (*nervus femoralis*), пересекали отходящие от нее ветви первого порядка (рис. 1А). У места начала артерии (ниже уровня паховой связки (*ligamentum inguinale*)) накладывали одну лигатуру (полимерный нерассасывающийся шовный материал) (рис. 1В), другую лигатуру – на расстоянии не менее 12 мм от предыдущей у подколенной бифуркации бедренной артерии (рис. 1С) с последующим иссечением бедренной артерии между ними.



Рис. 1. Лигирование бедренной артерии задней правой конечности крысы. Выделение бедренной артерии (А) и наложение первой лигатуры в верхней трети (В), наложение второй лигатуры на расстоянии 12 мм (С)

Fig. 1. Ligation of the femoral artery of the right posterior limb of a rat. Isolation of the femoral artery (A) and application of the first ligature in the upper third (B), applying a second ligature at a distance of 12 mm (C)

Рану на бедре ушивали с использованием рассасывающегося полимерного шовного материала. Швы обрабатывали 1% раствором бриллиантового зеленого и подкожно в течение трех дней вводили цефтриаксон (200 мг/кг) для профилактики развития инфекционных осложнений. До полного пробуждения от наркоза животные находились под постоянным визуальным контролем. Далее крыс помещали на 28 дней в индивидуальные клетки размером 325×245×157 мм для ограничения подвижности, обеспечивая снижение возможности формирования компенсаторных механизмов кровообращения.

В послеоперационном периоде проводили наблюдение за развитием симптомов хронической ишемии конечности крысы путем оценки показателей порога ноцицептивной реакции, изменения паттернов походки, гистологического исследования мышц бедра и голени, биохимического анализа крови.

Оценку порога ноцицептивной реакции (ПНР) у экспериментальных животных выполняли с использованием теста Рандалла – Селитто («Давление на лапу») – измерения силы надавливания (в граммах) пластикового остроконечного конуса на стопу крыс, в результате чего отмечали специфическую болевую реакцию (отдергивание лапы животным либо вокализацию) [8]. Тест проводили поочередно на обеих задних конечностях для каждой особи на аппарате PanLab (Испания) для измерения силы надавливания на лапу.

Изменения паттернов походки изучали на аппаратно-программном комплексе CatWalk XT версии 10.6 (Noldus, Голландия). Запись пробежек проводили в темном вентилируемом помещении при низком уровне шума. Каждое животное тестировали до получения трех адекватных пробежек (вариация <75%, время пробежки <5 с.). Оценивали площадь отпечатка (см²) и интенсивность отпечатка в абсолютных единицах (абс. ед.).

Биохимический анализ крови выполняли с помощью анализатора BS-200 (MINDRAY, Китай) и коммерческих наборов «Диасенс» (Беларусь). В сыворотке крови определяли: общий белок, мочевины, общий билирубин, глюкозу, креатининфосфокиназу, лактатдегидрогеназу.

Все измерения проводили до операции, а также на 7-е, 14-е, 21-е, 28-е, 35-е, 42-е, 56-е и 70-е сутки после оперативного вмешательства.

Животных (по 6 особей) выводили в вышеуказанные сроки для изучения морфологической картины ишемизированных мышц бедра и голени, проводя стандартное гистологическое исследование. Также дополнительно регистрировали количество сосудов в скелетных мышцах в поле зрения при увеличении ×200.

Статистическую обработку данных выполняли с помощью программы Statistica 10. При нормальном распределении признака данные представлены в виде среднего значения ± стандартного отклонения ($M \pm Sd$), при распределении признака, отличном от нормального, – в виде медианы и межквартильного интервала ($Me [25\%; 75\%]$). Для оценки результатов, полученных при регистрации ноцицептивных реакций и паттернов походки, использовали критерии Вилкоксона для зависимых и Манна – Уитни – для независимых выборок в парных сравнениях, а при оценке морфологических параметров – t-критерий Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.



■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изменение ПНР. На 7-е сутки регистрировалось значимое снижение значений ПНР с 128,0 [121,0; 135,5] до 85,0 [78,0; 89,0] г ($p=0,005$), что указывает на развитие гипералгезии. Схожую динамику наблюдали в течение последующих 3 недель эксперимента, и на 28-е сутки ПНР составил всего 83,0 [79,5; 89,5] г, что на 35,1% меньше относительно значений до операции ($p=0,004$). На 35-е сутки зафиксировано увеличение данного показателя на 14,1% (с 85,0 [78,0; 89,0] до 94,5 [91,3; 103,3] г; $p=0,005$), обусловленное развитием функциональных компенсаторных механизмов в ишемизированной мышце из-за восстановления свободного передвижения животного путем перевода его из индивидуальных клеток в клетки большего размера. В дальнейшем динамика данного параметра существенно не менялась. На 70-е сутки статистически достоверная разница между оперированной (ипсилатеральной) и здоровой (контралатеральной) конечностью составила 44,9% (97,5 [94,0; 103,3] и 135,5 [129,3; 142,0] г соответственно; $p=0,004$), что свидетельствовало об отсутствии компенсаторных механизмов ишемии (рис. 2).

При оценке площади и интенсивности отпечатка оперированной конечности экспериментальных животных в указанные сроки отмечали аналогичные изменения. Статистически значимые снижения площади на 55,2% (с 1,4 [1,1; 1,7] до 0,7 [0,5; 0,8] см²; $p=0,002$) и интенсивности отпечатка на 56,8% (с 175,8 [160,9; 180,1] до 72,2 [69,9; 81,2] абс. ед.; $p=0,002$) регистрировали на 7-е сутки. В дальнейшем зафиксированы

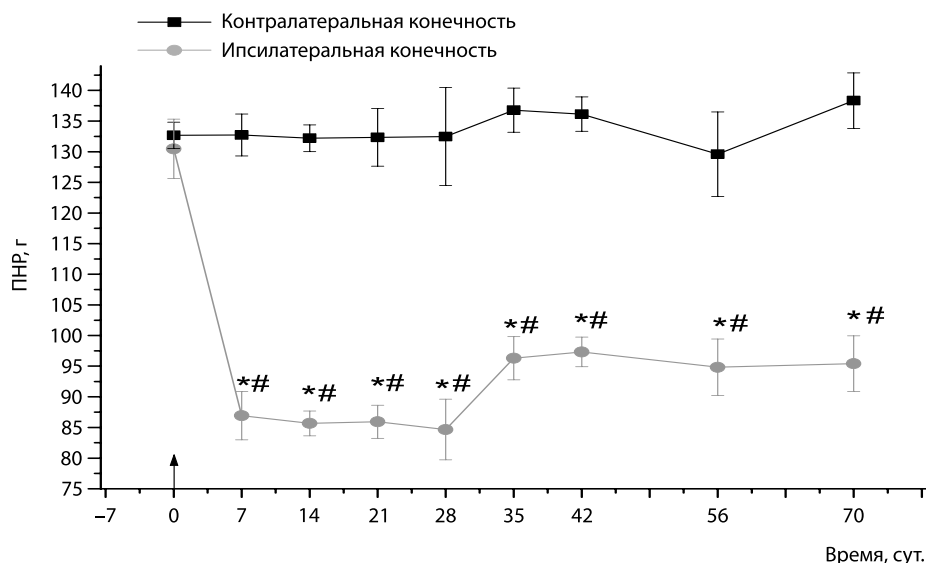


Рис. 2. Изменение порога ноцицептивной реакции задних конечностей у крыс после моделирования ишемии, Ме [25%; 75%]

Примечания: * $p<0,05$ по сравнению со значениями до операции; # $p<0,05$ по сравнению со значениями контралатеральной конечности.

Fig. 2. Change in the threshold of the nociceptive reaction of the hind limbs in rats after modeling ischemia, Me [25%; 75%]

незначительные колебания вышеописанных параметров. К 28-м суткам площадь отпечатка оперированной конечности уменьшилась на 53,2% (с 1,4 [1,1; 1,7] до 0,7 [0,5; 0,7] см²; $p=0,002$), а интенсивность отпечатка – на 56,8% (с 175,8 [160,9; 180,1] до 80,7 [67,9; 81,2] абс. ед.; $p=0,003$) относительно данных до моделирования патологии. В последующие сутки наблюдался незначительный рост этих значений для оперированной (ипсилатеральной) конечности, но данные оказались статистически не достоверны. На 70-е сутки площадь отпечатка оперированной конечности уменьшилась на 53,2% (с 1,4 [1,1; 1,7] до 0,7 [0,6; 0,8] см²; $p=0,002$), а интенсивность отпечатка – на 56,8% (со 175,8 [160,9; 180,1] до 79,9 [65,2; 82,4] абс. ед.; $p=0,003$) относительно данных до моделирования, что указывало на сохранение аллодинии (рис. 3 и 4 соответственно).

По результатам биохимического анализа крови статистически значимых изменений не установлено.

При морфологическом исследовании скелетных мышц бедра дистальнее зоны оперативного воздействия на 7-е сутки обнаруживались клетки с признаками некроза и острого воспаления, спазм артериол, периваскулярный отек; на 14-е – появлялись участки разрастания фиброзно-грануляционной ткани, признаки регенерации миобластов, пролиферации клеток эндо- и перимизия, сохранялись редкие очаги воспалительной инфильтрации; на 21-е – прогрессировали ишемические изменения миоцитов, фиброз стромы, пролиферация клеток эндо- и перимизия, возникали единичные очаги неоваскуляризации; на 28-е – наблюдалось нарастание атрофических

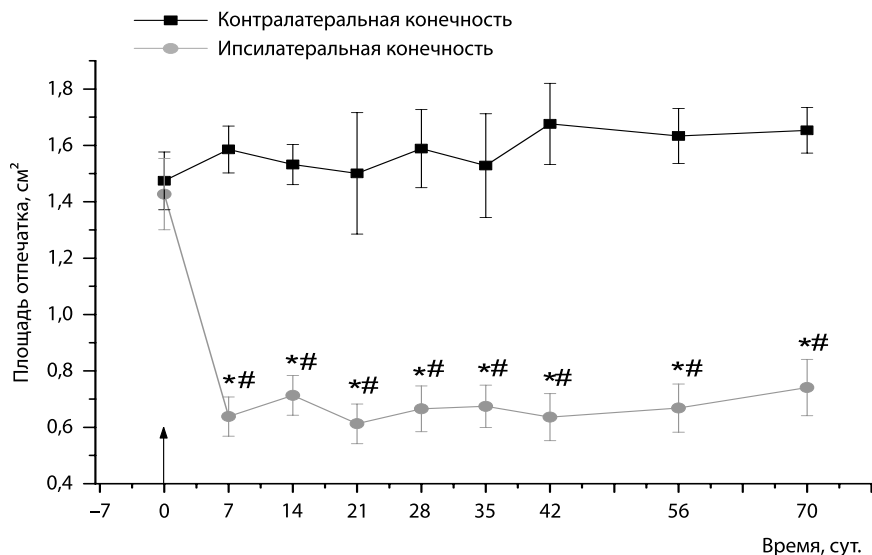


Рис. 3. Изменение площади отпечатка задних конечностей у крыс после моделирования ишемии, Ме [25%; 75%]

Примечания: * $p<0,05$ по сравнению со значениями до операции; # $p<0,05$ по сравнению со значениями контралатеральной конечности.

Fig. 3. Change in the area of the imprint of the hind limbs in rats after modeling ischemia, Me [25%; 75%]

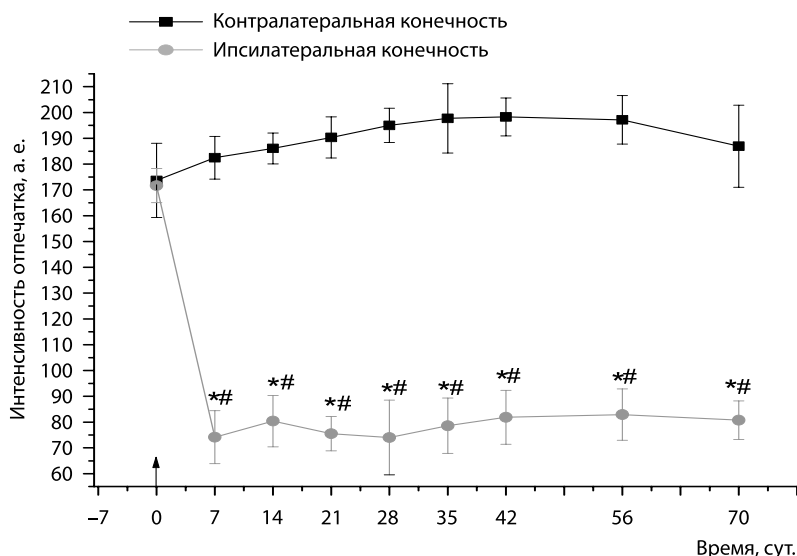


Рис. 4. Изменение интенсивности отпечатка задних конечностей у крыс после моделирования ишемии, Ме [25%; 75%]

Примечания: * $p < 0,05$ по сравнению со значениями до операции; # $p < 0,05$ по сравнению со значениями контралатеральной конечности.

Fig. 4. Change in the intensity of the imprint of the hind limbs in rats after modeling ischemia, Me [25%; 75%]

изменений мышечных клеток и отсутствие воспалительной реакции; на 35-е – увеличивалось количество мышечных клеток с центрально расположенными ядрами; на 42-е – выявляли обширные скопления регенерирующих миобластов, возрастание количества сосудов микроциркуляторного русла; на 56-е – сохранялись дистрофические и атрофические изменения отдельных мышечных волокон, выявляли более выраженную регенерацию мышечной ткани, пролиферацию микрососудов; на 70-е – отмечались усиленное новообразование сосудов микроциркуляторного русла и очаговая активация клеток эндомизия (рис. 5A–D).

Выраженность морфологических признаков ишемии скелетных мышц увеличивается по направлению дистальнее от бедра. Так, в голени на 7-е сутки отмечалась более выраженная атрофия мышц с кариопикнозом и незначительными очагами воспалительной инфильтрации; на 14-е – появлялись участки разрастания фиброзно-грануляционной ткани и признаки неоваскуляризации; на 21-е – прогрессировали ишемические изменения миоцитов, фиброз стромы и отсутствие воспалительной реакции; на 28-е – нарастали атрофические изменения мышечных клеток; на 35-е – наблюдали выраженную активацию клеток эндомизия и регенерацию миобластов; на 42-е – выявляли увеличение количества сосудов микроциркуляторного русла и признаки гиперплазии соединительной ткани; на 56-е – отмечали выраженную регенерацию миоцитов, пролиферацию микрососудов и фиброз стромы; на 70-е – усиленное новообразование сосудов микроциркуляторного русла (рис. 5E–H).

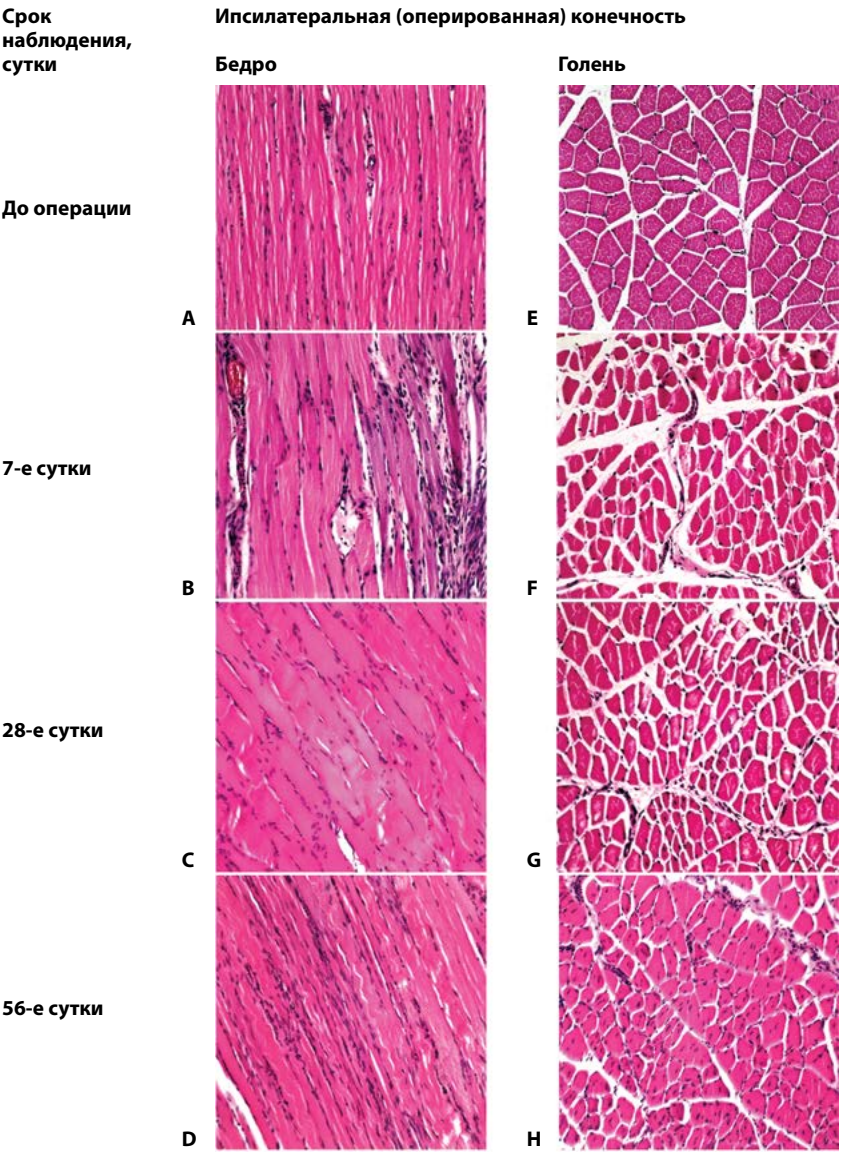


Рис. 5. Морфологическая характеристика скелетных мышц бедра и голени крыс (окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$). А, Е – гистологическая картина без особенностей; В, F – мышечные клетки с признаками некроза, отека и острого воспаления, спазм артериол; С, G – мышечные волокна с признаками ишемии; D, H – мышечные волокна с признаками ишемии и атрофии, пролиферация сосудов и клеток эндо- и перимизия, очаги регенерирующих миобластов
Fig. 5. Morphological characteristics of the skeletal muscles of the thigh and lower leg of rats (hematoxylin and eosin staining, magnification $\times 200$). A, E – histological picture without features; B, F – muscle cells with signs of necrosis, edema and acute inflammation, spasm of arterioles; C, G – muscle fibers with signs of ischemia; D, H – muscle fibers with signs of ischemia and atrophy, proliferation of blood vessels and endo- and perimysial cells, foci of regenerating myoblasts

Количество кровеносных сосудов, приходящихся на одно мышечное волокно, в скелетных мышцах задней нижней конечности крыс, M±Sd
Number of blood vessels per muscle fiber in the skeletal muscles of the hind lower limb of rats, M±Sd

Срок наблюдения, сутки	Контралатеральная (здоровая) конечность		Ипсилатеральная (оперированная) конечность	
	бедро	голень	бедро	голень
до операции	4,62±0,79	3,97±0,71	4,61±0,79	3,99±0,69
7-е сутки	4,60±0,83	3,98±0,68	2,08±0,78*	2,06±0,71*
14-е сутки	4,61±0,78	3,99±0,70	2,03±0,94*	1,99±0,90*
21-е сутки	4,63±0,80	3,98±0,69	2,22±0,95*	1,85±0,90*
28-е сутки	4,63±0,78	3,97±0,72	1,89±0,86*	1,78±0,86*
35-е сутки	4,63±0,84	3,98±0,68	1,98±0,87*	2,03±1,03*
42-е сутки	4,64±0,81	3,99±0,69	2,23±0,86*	2,06±0,93*
56-е сутки	4,61±0,80	3,99±0,78	2,44±0,81*	2,20±0,87*
70-е сутки	4,63±0,82	3,99±0,68	2,50±1,05*	2,41±0,98*

Примечание: * p<0,05 по сравнению со значениями до операции и значениями здоровой конечности.

При проведении морфометрического исследования скелетных мышц бедра и голени у лабораторных крыс после оперативного воздействия установлены статистически значимые различия в количестве кровеносных сосудов, приходящихся на одно мышечное волокно (см. таблицу).

Так, в скелетных мышцах бедра количество сосудов на 7-е сутки оказалось сниженным в сравнении с интактной группой в среднем на 54,78%, на 14-е – на 55,95%, на 21-е – на 52,05%, на 28-е – на 59,18%, на 35-е – на 57,24%, на 42-е – на 51,94%, на 56-е – на 47,07% и на 70-е – на 46,00% (p=0,001 для всех групп). А в мышечной ткани голени в вышеуказанные временные точки – в среднем на 48,24%, 50,12%, 53,52%, 55,16%, 48,99%, 48,37%, 44,86% и 39,60% соответственно (p=0,001 для всех групп). Полученные морфологические данные демонстрируют, что в течение первых 4 недель наблюдается постепенное развитие признаков ишемии скелетных мышц бедра и голени оперированной конечности. При этом наименьшее количество кровеносных сосудов, приходящихся на одно мышечное волокно, зафиксировано на 28-е сутки эксперимента при отсутствии признаков воспалительной реакции. В дальнейшем за счет функциональных и структурных компенсаторных механизмов наблюдалась тенденция к незначительному увеличению числа сосудов микроциркуляторного русла в ишемизированных мышцах. Однако исследуемые показатели так и не достигли контрольных значений к 70-м суткам, что подтверждало наличие хронической артериальной недостаточности задней конечности у лабораторных животных.

■ **ВЫВОДЫ**

1. Разработанный способ моделирования, включающий иссечение участка бедренной артерии длиной не менее 12 мм у животных старше 6 месяцев с последующим ограничением их подвижности, формирует развитие хронической артериальной ишемии конечности и позволяет достоверно воспроизвести данную патологию в эксперименте.

2. Наличие патогенетических нарушений кровообращения мышечной ткани у лабораторных животных подтверждается электрофизиологическими, морфологическими и биохимическими методами исследования.
 3. Экспериментальная модель характеризуется необратимой структурной перестройкой капиллярного русла с редукцией кровеносных сосудов, отсутствием воспаления и отека, стойким снижением порога ноцицептивной реакции с уменьшением площади и интенсивности отпечатка лапы оперированной конечности. Указанные признаки сохраняются до 70 суток наблюдения.
 4. Восстановление двигательной активности лабораторных животных с артериальной недостаточностью конечностей оказывает положительное влияние на показатели болевой чувствительности.
 5. Использование нового метода моделирования позволит обоснованно оценивать возможные способы коррекции данной патологии с применением различных медицинских технологий.
-

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Grigorieva A.I. Chronic obliterating diseases of the arteries of the lower extremities. Modern outpatient treatment. *Moscow Surgical Journal*. 2022;special Issue:43–51. (in Russian)
2. Bogdan V.G., Lepeshko S.G. Stimulation of angiogenesis in the complex treatment of patients with chronic arterial insufficiency of the lower extremities. *Military medicine*. 2017;2:117–19. (in Russian)
3. Adam D.J., Beard J.D., Cleveland T. Bypass versus angioplasty in severe ischaemia of the leg (BASIL): multicentre, randomised controlled trial. *Lancet*. 2005;366:1925–34.
4. Shevtsov Yu.N., Kolesnikov S.A., Denisov I.V. *Method for modeling chronic ischemia of the lower extremities in experimental animals: patent № 99125157 RU, G 09 B23/28*. 2001. (in Russian)
5. Yudin M.A., Plaksa I.L., Mzhavanadze N.D. Estimation of systemic distribution and angiogenic effect of pl-VEGF165 in the model of limb ischemia. *Circulatory pathology and cardiac surgery*. 2015;19(4–2):33–42. (in Russian)
6. Lawall H., Bramlage P., Amann B. Stem cell and progenitor cell therapy in peripheral artery disease. A critical appraisal. *Thromb Haemost*. 2010;103(4):696–709.
7. Voronov D.A., Gavrilenko A.V., Bochkov N.P. Stimulation of angiogenesis improves the results of surgical treatment of lower limb ischemia: experimental study and clinical effectiveness. *Cardiology and cardiovascular surgery*. 2009;2(3):45–9. (in Russian)
8. Randall L.O., Selitto J.J. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther*. 1957;111:409–19.