

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОРРЕКЦИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ ВАРДЕНАФИЛОМ

Лавриненко К.И.¹, Маль Г.С.¹, Орлова А.Ю.¹, Полякова О.В.¹, Татаренкова И.А.¹

¹ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Курск, Россия, e-mail: kristinalavr@yandex.ru

Экспериментальная работа проведена на крысах линии Wistar. Ишемию моделировали на мышцах голени крыс. Кровообращение в конечностях оценивали с помощью лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) и гистологического исследования. Коррекцию ишемии проводили внутрижелудочным введением варденафила (левитра, Bayer) в дозе 0,9 мг/кг. В группе сравнения вводили пентоксифиллин в дозе 60 мг/кг. Результаты оценивали на 21-е и 28-е сутки. Уровень микроциркуляции выражался в перфузионных единицах. Полученные результаты доказывают, что варденафил улучшает перфузию ишемизированных мышц за счет стимуляции неоангиогенеза; пентоксифиллин также оказывает положительное влияние на неоангиогенез, но к 28-м суткам уровень микроциркуляции не достигает нормальных значений. Значимый антиишемический эффект варденафила диктует необходимость дальнейших экспериментальных и клинических испытаний с целью профилактики и лечения локальной ишемии в хирургии.

Ключевые слова: ишемия, варденафил, неоангиогенез

EXPERIMENTAL STUDY OF CORRECTION CHRONIC LOWER LIMB ISCHEMIA VARDENAFIL

Lavrinenko K.I.¹, Mal G.S.¹, Orlova A.Y.¹, Polyakova O.V.¹, Tatarenkova I.A.¹

¹Kursk State Medical University, Kursk, Russia, e-mail: kristinalavr@yandex.ru

Experimental work was carried out on rats line Wistar. Ischemia was simulated in the leg muscles of rats. Blood circulation in the limbs was assessed using laser Doppler flowmetry (LDF) and histological examination. Correction performed ischemia intragastric administration of vardenafil (Levitra, Bayer) in a dose of 0.9 mg / kg. In the control group administered pentoxifylline at a dose of 60 mg / kg. Results were evaluated 21 and 28 hours. The level of microcirculatory perfusion expressed in units. The results show that vardenafil improves perfusion of the ischemic muscles by stimulating neoangiogenesis; pentoxifylline also has a positive effect on angiogenesis, but 28 days microcirculation level reaches normal values. Significant anti-ischemic effect of vardenafil calls for further experimental and clinical trials for the prevention and treatment of local ischemia in surgery.

Keywords: ischemia, vardenafil, angiogenesis

Хронические облитерирующие заболевания артерий нижних конечностей (ХОЗАНК) являются одной из наиболее частых причин снижения качества жизни и инвалидизации трудоспособного населения. Проявления данной группы заболеваний выражаются в прогрессирующем уменьшении просвета артериальных сосудов, что приводит к ишемии мышечной ткани [8]. Общая распространенность заболеваний периферических артерий в России варьирует от 3 до 10% общей численности населения [5], во всем мире ХОЗАНК поражены 12–14% популяции, причем заболеваемость возрастает до 20% после 75 лет [6]. Несмотря на прогресс ангиохирургии, существует группа пациентов, для которых возможности хирургических и эндоваскулярных методов коррекции магистрального кровотока ограничены из-за невозможности адекватной реконструкции дистального сосудистого русла. Этим определяется сохраняющийся интерес к непрямым методам

реваскуляризации [2].

В настоящее время существует несколько терапевтических подходов к лечению больных с хроническими облитерирующими заболеваниями нижних конечностей, каждое из которых имеет свои преимущества и недостатки. Поиск оптимального метода консервативного ведения больных с хронической критической ишемией нижних конечностей остается до сих пор важной и не до конца решенной задачей.

Варденафил является селективным конкурентным ингибитором фосфодиэстеразы 5-го типа (ИФДЭ 5), который, препятствует разрушению циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ), усиливает сосудорасширяющий эффект оксида азота (NO) [1]. Возможность ИФДЭ 5-го типа влиять на эндотелий сосудов показана в ряде экспериментальных и плацебо-контролируемых исследований у больных сахарным диабетом и добровольцев [7, 9]. Получены результаты, позволяющие констатировать коррекцию эндотелиальной дисфункции силденафилом и тадалафилом, возникающую при L-NAME-индуцированном дефиците оксида азота [4], положительное влияние прекондиционирования силденафилом и варденафилом на состояние микроциркуляторного русла в ишемизированной скелетной мышце [3].

Целью настоящего исследования явилось изучение фармакологической эффективности варденафила (левитра, Bayer) в терапии хронической ишемии нижних конечностей.

Материалы и методы исследования

Эксперименты проводились на крысах линии Wistar массой 230–260 г. Для исследования взяты крысы без внешних признаков заболевания, прошедшие карантинный режим вивария Курского государственного медицинского университета. Животных распределяли по группам (не менее 10 крыс в группе) путем стратифицированной рандомизации со стратификацией по массе тела, условиям содержания и питания, а также по проводимым операциям и манипуляциям. Экспериментальные животные были представлены следующими группами:

- 1) интактные животные (n=20);
- 2) ложнооперированные животные (n=20);
- 3) с моделированием ишемии мышц голени (n=20), контрольная группа;
- 4) с моделированием ишемии мышц голени и введением пентосифиллина (n=20), группа сравнения;
- 5) с моделированием ишемии мышц голени и введением варденафила (n=20), опытная группа.

Хроническую ишемию конечности моделировали под наркозом, фиксируя животное в положении на спине. На внутренней поверхности бедра тщательно выстригали шерсть, место операции обрабатывали 70%-ным раствором спирта и осуществляли разрез кожи вдоль бедра по внутренней поверхности. Выделив элементы сосудисто-нервного пучка, отделяли артерию от вены и нерва, и затем, наложив лигатуру у места ее начала, до отхождения а. saphena (под паховой связкой), перевязывали и пересекали а. saphena. Выделяли подколенную артерию и начальные отделы артерий голени (передняя и задняя большеберцовые артерии) и пересекали, не перевязывая. Бедренную артерию пересекали на 3 мм ниже наложенной ранее лигатуры. Удаляли участок магистрального сосуда, включающий бедренную, подколенную артерию и начальные отделы передней и задней большеберцовых артерий. Ретроградного кровотечения не наблюдалось. Рана на бедре ушивалась непрерывным швом.

Исходя из результатов, полученных при анализе литературных данных, возможности компенсаторного восстановления регионарного кровообращения в применяемой нами модели, как наиболее информативные следует рассматривать 28-е сутки, а 21-е сутки — как промежуточные.

Коррекцию ишемии мышц проводили у животных 4-й группы внутрижелудочным введением пентоксифиллина в дозе 60 мг/кг ежедневно в течение 28 дней, 5-й группы – варденафила (левитра, Bayer) в дозе 0,9 мг/кг 1 раз в сутки ежедневно в течение 28 дней. Механизм действия ингибиторов ФДЭ-5 основан на блокаде гидролиза циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ), в результате чего концентрация цГМФ растет, и происходит активация цГМФ-зависимой протеинкиназы с последующим фосфорилированием ионных каналов. Как следствие, снижается концентрация кальция в гладкомышечных сосудистых клетках, что приводит к их релаксации. Ингибиторы ФДЭ-5 способствуют развитию вазодилатации под действием эндогенного оксида азота (NO), который выделяется из нервных окончаний и эндотелиальных клеток, стимулируя синтез цГМФ с помощью фермента гуанилатциклазы. Расслабление гладкомышечных клеток приводит к расширению артерий, что обеспечивает необходимый приток артериальной крови.

Уровень микроциркуляции в мышцах голени определяли с помощью оборудования производства компании Biopac systems: полиграфа MP100 с модулем лазерной доплеровской флоуметрии LDF100C и инвазивного игольчатого датчика TSD144 на 21-е и 28-е сутки. Регистрация и обработка результатов лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) производились с помощью программы AcqKnowledge версии 3.8.1, значения микроциркуляции выражались в перфузионных единицах (ПЕ). На 21-е и 28-е сутки производился вывод 50% (n=10) животных из каждой группы. Уложив наркотизированное

животное на правый бок, иссекали участок кожи на переднелатеральной поверхности левой голени, обнажали мышцы. Датчик устанавливали строго перпендикулярно к поверхности мышцы, исключая возникновение воздушной прослойки и пересыхание мышцы. Уровень микроциркуляции регистрировали в пяти точках: середина мышцы, точки на 3–4 мм выше, ниже, латеральнее и медиальнее от первой. Запись кривой уровня микроциркуляции проводили в течение 30 с в каждой точке. Из полученных пяти значений рассчитывали среднее, вносили в протокол и принимали за уровень микроциркуляции в мышцах голени у данного животного. Из 10 полученных значений рассчитывали среднее, которое принимали за уровень микроциркуляции в данной группе животных на данном сроке исследования.

Забор исследуемой мышцы для морфологического исследования осуществляли по окончании процедуры ЛДФ. Для этого рассекали собственную фасцию голени, мышцу мобилизовали, отсекали от мест прикрепления, а затем фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина.

Результаты исследования и их обсуждение

Для статистической оценки полученных данных использовали методы параметрической статистики. Значимость различий между группами определяли с помощью t-критерия Стьюдента для зависимых выборок. Достоверными считали различия между сравниваемыми значениями с уровнем значимости 95% ($p < 0,05$).

Среднее значение уровня микроциркуляции в интактной мышце голени крыс составляет 527 ± 13 ПЕ. Полученный результат значимо не отличается от результатов, полученных другими авторами, использовавшими данную модель. При гистологическом исследовании миоциты образуют плотные пучки, в толще которых проходят полнокровные вены и артериолы, содержащие единичные эритроциты. Просветы сосудов широкие, эндотелиальные клетки без патологических изменений.

В группе ложнооперированных животных среднее значение уровня микроциркуляции в мышцах левой голени на всех сроках не имеет достоверных отличий от показателей в группе интактных животных (519 ± 13 ПЕ на 21-е сутки, $p = 0,66$; 521 ± 16 на 28-е сутки, $p = 0,77$). При гистологическом исследовании значимых отличий от строения интактных мышц не выявлено.

В группе моделирования ишемии мышц голени уровень микроциркуляции на всех сроках достоверно ниже значений в интактной мышце (325 ± 3 ПЕ на 21-е сутки, $p < 0,05$; 371 ± 2 ПЕ на 28-е сутки, $p < 0,05$). На 21-е сутки ишемии пораженная мышца макроскопически выглядела набухшей с крупными участками серовато-коричневатого цвета. Гистологически крупные участки представляли собой очаги организующегося некроза с резорбцией некротических волокон и разрастанием грануляционной ткани. На 28-е сутки мышца

выглядела гипотрофичной, а цвет мышцы приближался к нормальному. Гистологически участки резорбируемого некроза были значительно меньше, вблизи которых встречались пучки атрофированных мышечных волокон. В микроциркуляторном русле наблюдались полнокровие и новообразование единичных капилляров.

В группе животных, пролеченных пентоксифиллином, отмечалось увеличение уровня микроциркуляции по сравнению с контрольной группой. Пентоксифиллин оказывает положительное влияние на неоангиогенез, но к 28-м суткам уровень микроциркуляции не достигает нормальных значений (353 ± 5 ПЕ на 21-е сутки, $p < 0,05$; 415 ± 2 ПЕ на 28-е сутки, $p < 0,05$)

Коррекция варденафилом способствовала достоверному повышению уровня регионарного кровотока в ишемизированной мышце голени крыс по сравнению с показателями в третьей группе на соответствующем сроке (449 ± 5 ПЕ на 21-е сутки, $p < 0,05$; 844 ± 6 ПЕ на 28-е сутки, $p < 0,05$). Уровень микроциркуляции в данной группе на 21-е сутки приближался к показателю в группе интактных животных, а на 28-е сутки значительно превосходил его. Макроскопически ишемизированные мышцы в опытной группе на 21-е и 28-е сутки эксперимента не отличались по цвету и виду от мышц интактных крыс. Гистологически некротические изменения в мышцах не обнаруживались, лишь в некоторых участках встречались мелкие очаги атрофирующихся миоцитов с пролиферацией клеток; отмечалось усиленное новообразование капилляров, более выраженное на 28-е сутки эксперимента.

Вывод

Полученные результаты позволяют констатировать, что варденафил способен активировать неоангиогенез и улучшать перфузию ишемизированных мышц. Значимый антиишемический эффект варденафила диктует необходимость дальнейших экспериментальных и клинических испытаний с целью профилактики и лечения локальной ишемии в хирургии.

Список литературы

1. Верткин А. Л. Клиническая фармакология ингибиторов ФДЭ 5: сравнительный анализ. <http://www.intensive.ru/php/content.php?group=2&id=963>.
2. Казанчан П.О., Попов В.А., Дебелый Ю.В. и соавт. Хирургическая реваскуляризация при критической ишемии. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2000; 3: 32-5.
3. Колесник И.М., Лазаренко В.А., Покровский М.В. Влияние фармакологического preconditionирования силденафилом и варденафилом на состояние микроциркуляторного

русла в ишемизированной скелетной мышце // Курский научно-практический вестник «Человек и здоровье». – 2015. – № 1. – С. 83–86.

4. Покровская Т.Г., Чулюкова Т.Н., Покровский М.В. Эндотелиопротективные эффекты силденафила и тадалафила при экспериментальном моделировании I-name-индуцированного дефицита оксида азота // Кубанский научный медицинский вестник. – 2009. – № 4. – С. 136–145.

5. Рекомендации Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов. Диагностика и лечение больных с заболеваниями периферических артерий. М.: 2007; 8.

6. American Heart Association. Heart Disease and Stroke Statistics – 2004. Dallas; 2004.

7. Desouza C., Akers D., Parulkar A. et al. Acute and prolonged effects of sildenafil on brachial artery flow mediated dilatation in type 2 diabetes // Diabetes Care. – 2002. – V. 25. – № 8. – P. 336–339.

8. Leng C., Lee A.J., Fowkers F.G. et al. Incidence, natural history and cardiovascular events in symptomatic and asymptomatic peripheral arterial disease in the general population. Int. J. Epidemiol. 1996; 25: 1172-8.

9. Teixeira C. E., Priviero F. B., Webb R. C. Differential effects of the phosphodiesterase type 5 inhibitors sildenafil, vardenafil, and tadalafil in rat aorta // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 2006. – V. 316. – № 2. – P. 654–661.

Рецензенты:

Яцун С.М., д.м.н., профессор, зав. кафедрой медико-биологических дисциплин ФГБОУ ВПО «Курский государственный университет» Минобрнауки РФ, г. Курск;

Мельчинская Е.Н., д.м.н., ОБУЗ «Курская городская клиническая больница скорой медицинской помощи» Комитета здравоохранения Курской области, г. Курск.