

ВЛИЯНИЕ УДЕНАФИЛА НА ТЕЧЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ КРИТИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Э.Э. Фейзиев¹, Б.С. Суковатых¹, М.А. Затолокина¹, А.С. Белоус², Е.В. Трубникова²

¹ ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

² Научно-исследовательская лаборатория «Генетика», ФГБОУ ВО «Курский государственный университет»

В работе показана сравнительная оценка влияния уденафила (Зидена®, Донг-А Фармасьютикал Ко.Лтд., Корея) на перфузию здоровых и ишемизированных тканей при критической ишемии нижних конечностей, смоделированной у крыс. Формировали 4 опытных группы: 1-я – интактная; 2-я – здоровые животные с введением уденафила (перорально 8,6 мг/кг в течение 28 дней); 3-я – животные с ишемией без лечения; 4-я – животные с ишемией и монотерапией уденафилом (аналогично 2-й группе). На 21-е и 28-е сутки во всех группах производили регистрацию уровня микроциркуляции крови в мышцах голени. В эти же сроки выводили из эксперимента путем передозировки наркоза по 10 животных и готовили гистологические препараты мышц голени. Полученные результаты показали, что уденафил увеличивает регионарный кровоток как в неишемизированных тканях, так и при критической ишемии нижних конечностей.

Ключевые слова: критическая ишемия нижних конечностей, коррекция ишемии, уденафил, фармакотерапия, фосфодиэстераза-5, крысы.

DOI 10.19163/1994-9480-2021-1(77)-56-60

EFFECT OF UDENAFIL ON THE COURSE OF EXPERIMENTAL CRITICAL ISCHEMIA OF THE LOWER EXTREMITIES

E.E. Feyziev¹, B.S. Sukovatykh¹, M.A. Zatolokina¹, A.S. Belous², E.V. Trubnikova²

¹ FSBEI HE «Kursk State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation;

² Research Laboratory «Genetics», FSBEI HE «Kursk State University»

The paper shows a comparative assessment of the effect of udenafil (Zidena®, Dong-A Pharmaceutical Co. Ltd., Korea) on the perfusion of healthy and ischemic tissues in critical ischemia of the lower extremities simulated in rats. Formed 4 experimental groups: 1 – intact; 2 – healthy animals with the introduction of udenafil (orally 8,6 mg/kg for 28 days); 3 – animals with ischemia without treatment; 4 – animals with ischemia and monotherapy with udenafil (similar to group 2). On the 21st and 28th days in all groups, the level of blood microcirculation in the leg muscles was recorded. At the same time, 10 animals were withdrawn from the experiment by anesthesia overdose and histological preparations of the leg muscles were prepared. The results obtained showed that udenafil increases regional blood flow both in non-ischemic tissues and in critical ischemia of the lower extremities.

Key words: critical lower limb ischemia, ischemia correction, udenafil, pharmacotherapy, phosphodiesterase-5, rats.

Под критической ишемией понимают сложный симптомокомплекс нарушений артериального кровотока, венозного оттока и нервной проводимости, приводящих к потере конечности. Основными причинами этой патологии являются заболевания периферических артерий (облитерирующий атеросклероз, тромбагит), тромбоз глубоких вен нижних конечностей с развитием синей флегмазии и венозной гангрены, макро- и микроангиопатия, нейропатия у больных с синдромом диабетической стопы. Применяющаяся для лечения критической ишемии эндоваскулярные (баллонная ангиопластика и стентирование, регионарный тромболизис) и открытые реконструктивные операции (шунтирование и протезирование периферических артерий) позволяют спасти конечность у 70–80 % больных [3]. При невозможности выполнить реконструктивные операции в силу разных причин

у 20–30 % пациентов выполняются методы непрямого реваскуляризации (поясничная симпатэктомия, трансплантация клеток костного мозга, реваскуляризирующая остеотрепанация), эффективность которых значительно ниже, чем прямых реконструктивных операций. Подавляющее число пациентов теряет конечность в течение 2–3 лет [8]. Основой лечения является применение лекарственных препаратов, направленных на нормализацию нарушений артериального, венозного кровотока, нервной проводимости. Наиболее эффективными для лечения критической ишемии являются препараты группы синтетических простагландинов (илопрост и алпростадил). Они ингибируют агрегацию и адгезию тромбоцитов, расширяют артериолы и вены, снижают сосудистую проницаемость, оказывают противовоспалительное действие. Наиболее выраженными эффектами являются прямая вазодилатация

легочного и периферического артериального русла без выраженного снижения системного артериального давления [2]. К сожалению, данная группа препаратов не нашла широкого распространения в практическом здравоохранении из-за высокой стоимости. Выраженным бронходилатационным и вазодилатационным действием обладают ингибиторы фосфодиэстеразы-5 (силденафил, уденафил). Данные препараты широко применяются в андрологии для восстановления потенции у мужчин. Единичные экспериментальные работы по применению силденафила показали его эффективность при лечении ишемии скелетной мышцы [5]. Однако он вызывает частые расстройства зрения из-за активации фосфодиэстеразы-6 в сетчатке глаза, на которую не влияет уденафил [1]. Фармакологическое действие уденафила на перфузию ишемизированных и ишемизированных тканей при критической ишемии не изучено. С экономической точки зрения применение ингибиторов фосфодиэстеразы-5 значительно более целесообразно, чем препаратов группы синтетических простагландин.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценка влияния уденафила на перфузию ишемизированных и ишемизированных тканей при критической ишемии нижних конечностей, смоделированной у крыс.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперимент выполнен на 80 крысах линии Wistar. В исследовании соблюдали принципы, изложенные в «Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986). Животные были разделены на 4 группы по 20 особей в каждой. Первая (интактная); вторая (первая опытная) – здоровые животные с монотерапией уденафилом; третья (контрольная) – животные с ишемией без лечения; четвертая (вторая опытная) – животные с ишемией и монотерапией уденафилом. В опытных группах животные получали уденафил перорально 8,6 мг/кг в течение 28 дней. Ишемию мышц голени моделировали под наркозом путем внутрибрюшного введения водного раствора хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг веса. Разрез осуществляли вдоль бедра и голени по внутренней поверхности. Выделяли элементы сосудисто-нервного пучка бедра. Производили оперативное удаление участка магистральных сосудов, включающего бедренную, подколенную, переднюю и заднюю большеберцовые артерии и вены, а также седалищный нерв. Рану ушивали непрерывным швом [7]. Уровень микроциркуляции крови в мышцах голени определяли на 21-е

и 28-е сутки при помощи лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), значения микроциркуляции выражали в перфузионных единицах (ПЕ).

Методика флоуметрии изложена нами в предшествующей работе [6]. Животных выводили из эксперимента на 21-е и 28-е сутки (по 10 крыс в каждый срок) путем передозировки наркоза. По стандартной методике изготавливали препараты икроножной мышцы голени, которые окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Ван Гизону.

Проводили гистологическое исследование как неишемизированных, так и ишемизированных мышц.

Статистический анализ полученных данных осуществляли в программе Microsoft Excel 10.0. Рассчитывали средние значения (М) показателей и ошибки среднего (m). Достоверность отличий между показателями групп оценивали по критерию Манна – Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Среднее значение уровня микроциркуляции в мышцах голени интактных животных на 21-е и 28-е сутки составило ($531,6 \pm 12,08$) ПЕ. При микроскопическом изучении гистологических срезов в области средней трети голени лабораторных животных – крыс хорошо визуализировались миоциты, которые образовывали плотные пучки, в толще которых проходили мелкие и крупные кровеносные сосуды, содержавшие единичные эритроциты. Просветы сосудов были широкими, эндотелиальные клетки без патологических изменений (рис. 1А).

Во второй группе здоровых животных (получавших уденафил) средние значения уровня микроциркуляции достоверно было выше значений группы интактных животных: ($862,1 \pm 15,14$) ПЕ на 21-е сутки и ($886,1 \pm 14,8$) ПЕ на 28-е сутки. При гистологических исследованиях строения мышечной ткани выявлено увеличение диаметра кровеносных сосудов, структура мышечных волокон не изменилась (рис. 1Б).

В контрольной группе животных средние значения уровня микроциркуляции были достоверно ниже в сравнении со значениями показателя в группе интактных крыс: ($249,1 \pm 7,31$) ПЕ на 21-е сутки ($p < 0,05$) и ($302,9 \pm 6,46$) ПЕ на 28-е сутки ($p < 0,05$). К концу эксперимента в пораженных мышцах сохранялась высокая степень реактивности тканей с ярко выраженными признаками воспаления. Вблизи участков некроза встречались пучки атрофированных мышечных волокон. В прослойках между симпластами скелетной

мышечной ткани клеточный компонент преобладал над волокнистым.

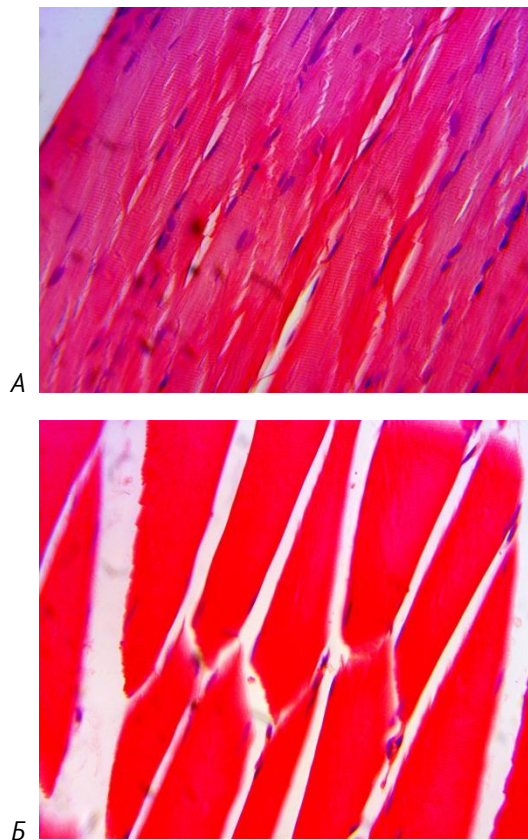


Рис. 1. Микрофотография среза скелетной мышечной ткани в области средней трети голени у лабораторных животных крыс на 28-е сутки эксперимента. А – мышцы голени intactных крыс, Б – мышцы голени здоровых животных получавших уденафил.

Окрашено гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$ (А), $\times 400$ (Б)

В поле зрения визуализировались преимущественно лимфоциты, моноциты, тучные клетки, нейтрофилы и эозинофилы, единичные фибробласты и фиброциты. В окружающей мышцу ткани эпимизия были выражены признаки интерстициального отека. В микроциркуляторном русле визуализировались новообразованные единичные капилляры (рис. 2А).

Коррекция уденафилом достоверно повышала уровень регионарного кровотока в ишемизированных мышцах голени крыс по сравнению с группой контроля на соответствующем сроке: ($394,6 \pm 5,99$) ПЕ на 21-е сутки ($p < 0,05$) и ($486 \pm 7,59$) ПЕ на 28-е сутки ($p < 0,05$). Уровень микроциркуляции в исследуемой группе на 21-е и 28-е сутки приближался к значениям группы intactных животных.

При микроскопии встречались мелкие очаги атрофирующихся миоцитов с пролиферацией клеток, также следует отметить уменьшение размера и количества участков некроза за счет формирования

молодой соединительной ткани. Однако продолжала сохраняться круглоклеточная инфильтрация прослоек соединительной ткани между скелетными мышцами. Мелкие кровеносные сосуды (артериолы и венулы) были расширены с признаками тромбоза. Вблизи участков некроза формировалась новая капиллярная сеть (рис. 2Б).

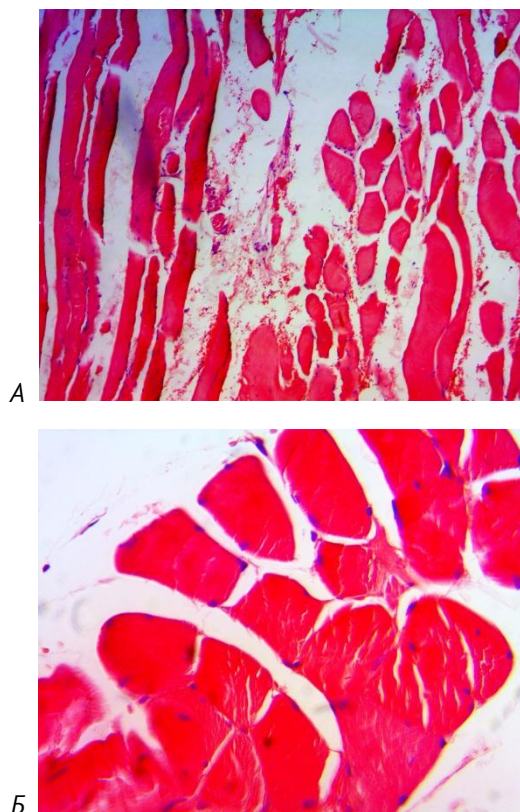


Рис. 2. Микрофотография среза скелетной мышечной ткани в области средней трети голени у лабораторных животных крыс на 28-е сутки эксперимента. А – мышцы голени крыс контрольной группы, Б – ишемизированные мышцы голени крыс, получавших уденафил.

Окрашено гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$ (А), $\times 400$ (Б)

Известно, что фосфодиэстераза-5 содержится в эндотелии сосудов и регулирует выделение эндотелиальными клетками оксида азота путем увеличения или уменьшения гидролиза циклического гуанозинмонофосфата [10]. Исследование уровня перфузии тканей у животных второй группы показало, что уденафил статистически достоверно увеличивает микроциркуляцию у здоровых животных путем предотвращения распада циклического гуанозинмонофосфата. Накопление последнего в мышечной ткани усиливает сосудорасширяющее действие оксида азота, выделяемого эндотелиальными клетками. В опытной группе на фоне критической ишемии перфузия ишемизированных мышц статистически достоверно возрастала в 1,6 раза по сравнению с контрольной группой

животных без лечения. При развитии критической ишемии мышечной ткани миоцитами выделяется гипоксический фактор, который стимулирует развитие ангиогенеза посредством увеличения выброса проангиогенных факторов из костного мозга [4].

Во время проведения гистологических исследований у животных контрольной группы определялись единичные новые капилляры, а в опытной группе установлено развитие новой капиллярной сети, что свидетельствует о ангиопротективном действии уденафила.

Полученные результаты совпадают с данными литературы о стимуляции ангиогенеза ингибиторами фосфодиэстеразы-5 [9]. Если интерпретировать результаты экспериментального исследования на клиническую практику лечения больных с хронической ишемией конечности, то можно предположить, что в начальных стадиях развития ишемии применение уденафила в качестве монокоррекции будет недостаточно эффективным. Перспективным является применение уденафила в качестве одного из компонентов комплексного лечения тяжелой стадии критической ишемии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение уденафила, перорально 8,6 мг/кг в течение 28 дней, увеличивает регионарный кровоток как в неишемизированных тканях, так и в ишемизированных на модели критической ишемии нижних конечностей. Для подтверждения полученных результатов необходимо проведение клинического исследования эффективности уденафила у больных с хронической ишемией нижних конечностей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Архипов В.В. Клиническая фармакология ингибиторов фосфодиэстеразы // Клиническая фармакология. – 2014. – № 3. – С. 35–41.
2. Богачев В.Ю., Болдин Б.В., Родионов С.В., Туркин П.Ю. Консервативное лечение хронических облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей // Амбулаторная хирургия (стационарзамещающие технологии). – 2018. – № 69–70 (1–2). – С. 14–18.
3. Национальные рекомендации по диагностике и лечению заболеваний артерий нижних конечностей. – М.: Медицина, 2019. – 89 с.
4. Осипова О.С., Саая Ш.Б., Карпенко А.А., Закиян С.М. Проблемы и перспективы клеточной терапии критической ишемии нижних конечностей // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2020. – № 26 (2). – С. 23–33.
5. Покровская Т.Г., Чулюкова Т.Н., Покровский М.В. Эндотелиопротективные дозозависимые эффекты силденафила в комбинации с L-аргинином при экспериментальном моделировании L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота // Биомедицина. – 2010. – № 1 (5). – С. 118–120.

6. Суковатых Б.С., Артюшкова Е.Б., Орлова А.Ю. и др. Фармакологическое лечение экспериментальной критической ишемии конечностей // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2017. – № 1. – С. 57–63. – URL: <https://doi.org/10.21626/vestnik/2017-1/10>.

7. Фейзи́ев Э.Э., Белоус А.С., Суковатых Б.С., Трубникова Е.В. Способ моделирования критической ишемии нижних конечностей у экспериментальных животных-крыс. Патентообладатель: Курский государственный университет. – Патент РФ RU 2734158 от 18.03.2020.

8. Червяков Ю.В., Староверов И.Н., Власенко О.Н. и др. Отдаленные результаты лечения больных с хронической ишемией нижних конечностей методами непрямого ревааскуляризации и генотерапии // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2016. – Т. 22, № 1. – С. 29–36.

9. Makoto Sahara, Masataka Sata, Toshihiro Morita, et al. A phosphodiesterase-5 inhibitor vardenafil enhances angiogenesis through a protein kinase G-dependent hypoxia-inducible factor-1/vascular endothelial growth factor pathway // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2010. – Vol. 30 (7). – P. 1315–1324. – DOI: 10.1161/ATVBAHA.109.201327.

10. Tzoumas N., Farrah T.E., Dhaun N., Webb D.J. Established and emerging therapeutic uses of PDE type 5 inhibitors in cardiovascular disease // British Journal of Pharmacology. – 2020. – Vol. 177 (24). – P. 5467–5488. – DOI: 10.1111/bph.14920.

REFERENCES

1. Arhipov V.V. Klinicheskaya farmakologiya ingibitorov fosfodiesterazy [Clinical pharmacology of phosphodiesterase inhibitors]. *Klinicheskaya farmakologiya* [Clinical pharmacology], 2014, no. 3, pp. 35–41. (In Russ.; abstr. in Engl.).
2. Bogachev V.Yu., Boldin B.V., Rodionov S.V., Turkin P.Yu. Konservativnoe lechenie hronicheskikh obliteriruyushchih zabolevanij arterij nizhnih konechnostej [Conservative treatment of chronic obliterating diseases of the arteries of the lower extremities]. *Ambulatornaya hirurgiya (stacionar-zameshchayushchie tekhnologii)* [Outpatient surgery (inpatient replacement technologies)], 2018, no. 69–70 (1–2), pp. 14–18. (In Russ.; abstr. in Engl.).
3. Nacional'nye rekomendacii po diagnostike i lecheniyu zabolevanij arterij nizhnih konechnostej [National guidelines for the diagnosis and treatment of lower limb artery diseases]. Moscow: Medicina, 2019. 89 p. (In Russ.; abstr. in Engl.).
4. Osipova O.S., Saaya Sh.B., Karpenko A.A., Zakiyan S.M. Problemy i perspektivy kletочноj terapii kriticheskoy ishemii nizhnih konechnostej [Problems and prospects of cell therapy for critical lower limb ischemia]. *Angiologiya i sosudistaya hirurgiya* [Angiology and Vascular Surgery], 2020, no. 26 (2), pp. 23–33. (In Russ.; abstr. in Engl.).
5. Pokrovskaya T.G., Chulyukova T.N., Pokrovsky M.V. Endotelioprotektivnye dozozavisimye efekty sildenafil v kombinacii s L-argininom pri eksperimental'nom modelirovanii L-NAME-inducirovannogo deficita oksida azota [Endothelio-protective dose-dependent effects of sildenafil in combination with L-arginine in experimental modeling of L-NAME-induced nitric oxide deficiency]. *Biomedicina* [Biomedicine], 2010, no. 1 (5), pp. 118–120. (In Russ.; abstr. in Engl.).

6. Sukovatykh B.S., Artyushkova E.B., Orlova A.Yu., et al. Farmakologicheskoe lechenie eksperimental'noj kriticheskoy ishemii konechnostey [Pharmacological treatment of experimental critical limb ischemia]. *Kurskiy nauchno-prakticheskij vestnik «Chelovek i ego zdorov'e»* [Kursk scientific and practical bulletin «Man and his health»], 2017, no. (1), pp. 57–63. URL: <https://doi.org/10.21626/vestnik/2017-1/10>. (In Russ.; abstr. in Engl.).

7. Feyziev E.E., Belous A.S., Sukovatykh B.S., Trubnikova E.V. Sposob modelirovaniya kriticheskoy ishemii nizhnikh konechnostey u eksperimental'nykh zhivotnykh-krys. Patentoobladatel': Kurskiy gosudarstvennyy universitet [A method for modeling critical lower limb ischemia in experimental rat animals. Patentee Kursk State University]. RF Patent RU 2734158 dated 03/18/2020. (In Russ.; abstr. in Engl.).

8. Chervyakov Yu.V., Staroverov I.N., Vlasenko O.N., et al. Otdalennye rezul'taty lecheniya bol'nyh s hronicheskoy

ishemiey nizhnih konechnostey metodami nepryamoj revaskulyarizatsii i genoterapii [Long-term results of treatment of patients with chronic lower limb ischemia by methods of indirect revascularization and gene therapy]. *Angiologiya i sosudistaya hirurgiya* [Angiology and Vascular Surgery], 2016, no. 22 (1), pp. 29–36. (In Russ.; abstr. in Engl.).

9. Makoto Sahara, Masataka Sata, Toshihiro Morita, et al. A phosphodiesterase-5 inhibitor vardenafil enhances angiogenesis through a protein kinase G-dependent hypoxia-inducible factor-1/vascular endothelial growth factor pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010, vol. 30 (7), pp. 1315–1324. DOI: 10.1161/ATVBAHA.109.201327.

10. Tzoumas N., Farrah T.E., Dhaun N., Webb D.J. Established and emerging therapeutic uses of PDE type 5 inhibitors in cardiovascular disease. *British Journal of Pharmacology*, 2020, vol. 177 (24), pp. 5467–5488. DOI: 10.1111/bph.14920.

Контактная информация

Фейзиев Эльвин Эйнулла-оглы – соискатель кафедры общей хирургии, Курский государственный медицинский университет, e-mail: elvin251546@gmail.com