

## ВОЗМОЖНОСТИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИШЕМИИ КОНЕЧНОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Е. Б. Артюшкова, Д. В. Пашков, М. В. Покровский, А. В. Файтельсон,  
О. С. Гудырев, Т. Г. Покровская, Е. Н. Пашин, В. И. Кочкаров<sup>1</sup>

Изучена микроциркуляция в мышцах голени здоровых крыс в норме и динамика уровня микроциркуляции в течение 6 ч после введения пентоксифиллина (60 мг/кг) и L-аргинина (200 мг/кг). Моделирование хронической ишемии проводили путем удаления магистрального сосуда бедра. На фоне приема пентоксифиллина (60 мг/кг) значимого изменения микроциркуляции по сравнению с контролем не отмечено. L-аргинин (30 мг/кг) увеличивал уровень микроциркуляции к 28-м суткам эксперимента. L-аргинин в дозе 200 мг/кг увеличивал уровень микроциркуляции по сравнению с контролем во все сроки эксперимента. Результаты лазер-доплеровской флоуметрии сопоставили с результатами морфологического исследования.

**Ключевые слова:** хроническая ишемия конечностей, окись азота, неоангиогенез, L-аргинин

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время фармакологическая коррекция хронической ишемии конечностей сводится к применению антиагрегантов, рео- и спазмолитиков, серотонина, простагландинов [1, 4, 5]. Однако применение этих средств не обеспечивает увеличения перфузии в постстенотической зоне. В связи с этим в последнее время применяют различные способы стимуляции неоангиогенеза [11]: введение факторов роста [10], стволовых клеток и моноклеаров костного мозга [8, 11], эмбриональных эндотелиоцитов [6], доноров окиси азота (NO) [9]. Интересной является возможность стимуляции неоангиогенеза при помощи природного донора NO — L-аргинина. L-аргинин предотвращает возрастание коэффициента эндотелиальной дисфункции, увеличивает содержание NO в крови и экспрессию эндотелиальной NO-синтазы [7], что продемонстрировано на модели L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции.

Задачей исследования явилось изучение эффективности L-аргинина при экспериментальной хронической ишемии конечности. При этом в качестве препарата сравнения избран пентоксифиллин, применяющийся в качестве средства базисной терапии ишемии конечности.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проведена на 250 крысах самках линии Вистар массой 230 – 270 г. Оценку активности кровообращения в мышцах конечности осуществляли методом лазер-доплеровской флоуметрии на аппарате Bio-ras-systems MP-100. Моделирование хронической

ишемии конечности проводили путем удаления участка магистрального сосуда бедра [12]. Все манипуляции проводили в условиях общего обезболивания (этамивал-натрий, 35 мг/кг).

У животных интактной группы ( $n = 10$ ) изучен исходный уровень микроциркуляции и морфологическая картина в мышцах задней конечности в норме. Животным контрольной группы ( $n = 90$ ) выполнялось моделирование хронической ишемии конечности, после чего изучена динамика уровня микроциркуляции и морфологической картины в сроки от 1 до 90 сут. На 3-х группах интактных животных ( $n = 60$ ) в остром эксперименте изучена динамика уровня микроциркуляции на протяжении 6 ч после введения пентоксифиллина в дозе 60 мг/кг и L-аргинина в дозе 200 мг/кг. В 3-х группах животных опытной серии ( $n = 90$ ) выполнено моделирование хронической ишемии конечности и проведена коррекция экспериментальной патологии пентоксифиллином в дозе 60 мг/кг и L-аргином в дозах 30 и 200 мг/кг [7]. Результаты лечения оценивали на 10-е, 21-е и 28-е сутки.

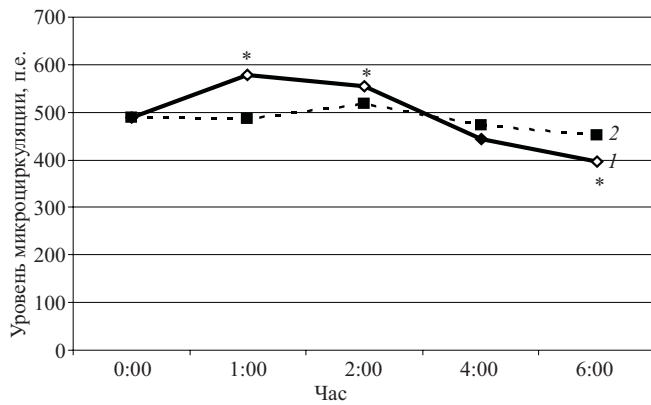
Лечение в опытных группах начинали на 7-е сутки после моделирования ишемии. Пентоксифиллин (Trental 400, “Aventis pharma Ltd.”; Индия) вводили ежедневно в желудок в виде суспензии, которую готовили из таблетированной формы препарата. L-аргинин (“Ajinomoto Co. INC”, Япония) вводили внутривентально в виде водного раствора 1 раз в сутки.

Морфологическое исследование проводили по общепринятой методике. Для морфометрии использовали сетку Автандилова. Результаты исследований статистически обработаны с использованием программы Microsoft Excel 2003.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Уровень микроциркуляции в мышцах передней группы голени интактных крыс составлял  $535,2 \pm 17$

<sup>1</sup> Кафедра фармакологии (зав. — проф. М. В. Покровский) ГОУ ВПО “Курский государственный медицинский университет Росздрава”, Курск, 305041, ул. К. Маркса, 3; e-mail: ear-tyushkova@mail.ru.



**Рис. 1.** Динамика уровня микроциркуляции на фоне введения 60 мг/кг пентоксифиллина (1) и 200 мг/кг L-аргинина (2).

Звездочками обозначены точки, значения которых достоверно отличаются от значения в точке "0:00" при  $p < 0,05$ .

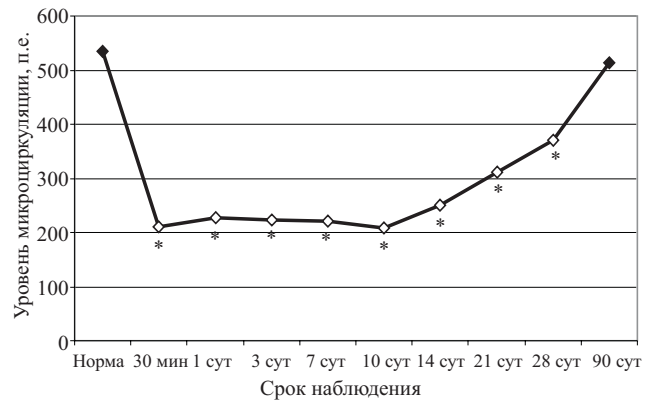
перфузионных единиц (п. е.). В остром опыте через 1 ч после внутривенного введения пентоксифиллина в дозе 60 мг/кг здоровой крысе уровень микроциркуляции в мышцах голени достоверно повышался и оставался таким в течение двух часов. В тех же условиях при внутривенном введении L-аргинина в дозе 200 мг/кг достоверных изменений уровня микроциркуляции в течение 6 ч наблюдения не отмечалось (рис. 1).

После операции моделирования ишемии уровень микроциркуляции достоверно снижался до  $209,8 \pm 10,26$  п. е., а затем медленно восстанавливался, но к 28-м суткам оставался ниже интактных значений ( $369,56 \pm 14,64$ ,  $p < 0,05$ ). Полное восстановление микроциркуляции происходило к 3-му месяцу наблюдения (рис. 2).

При морфологическом исследовании у животных опытных и контрольной групп на 10-е сутки в препарате определялся субтотальный некроз мышечной ткани с начинающимися резорбтивными явлениями и появлением грануляционной ткани. На 21-е сутки при морфологическом исследовании имели место процессы созревания грануляционной ткани и регенерации мышечных волокон, которые замещали грануляции. К 28-м суткам мышца была представлена регенерирующими миоцитами и грануляционной тканью. Участков некроза нет.

Результаты флоуметрии после моделирования, а также на фоне лечения хронической ишемии представлены на рис. 3.

Видно, что в группе, получавшей пентоксифиллин в дозе 60 мг/кг, достоверных различий по сравнению с контролем ни в одном из сроков наблюдения не отмечено. В группе, получавшей L-аргинин в дозе 30 мг/кг, на 28-е сутки уровень микроциркуляции достоверно выше показателя, зарегистрированного в контроле. В группе, получавшей L-аргинин в дозе



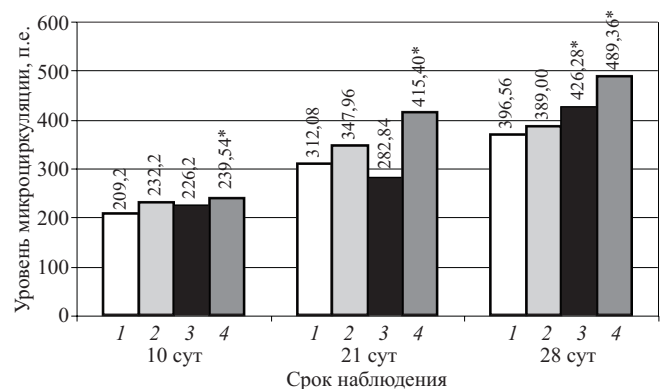
**Рис. 2.** Динамика уровня микроциркуляции в контрольной группе животных.

В точках, отмеченных звездочками, имеются достоверные различия по сравнению со значением в точке "норма" при  $p < 0,05$ . Расстояния между точками показано одинаковым с целью упрощения графика.

200 мг/кг, достоверные различия по сравнению с контролем зарегистрированы во все сроки эксперимента.

При сравнении результатов морфометрического исследования статистически значимых различий в группе, получавшей пентоксифиллин, по сравнению с контролем не получено. Результаты морфометрии в группах, получавших L-аргинин, на 10-е и 21-е сутки не отличались от показателей контроля. На 28-е сутки в группе, получавшей L-аргинин в дозе 200 мг/кг, имелись достоверные различия по удельной площади регенерирующей мышечной ткани по сравнению с контролем ( $89,29 \pm 4,13$  % и  $68,1 \pm 8,64$  % соответственно).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о способности L-аргинина улучшать уровень микроциркуляции. Можно предположить, что механизмом действия L-аргинина является стимуляция неоангиогенеза в ишемизированной конечности. Дополнительное введение NO способствует коррекции дисфункции эндотелия, которая в большинстве случаев сопутствует хронической ишемии конечности.



**Рис. 3.** Результаты флоуметрии в контрольной и опытных группах животных.

1 — Контроль, 2 — пентоксифиллин 60 мг/кг, 3 — L-аргинин 30 мг/кг, 4 — L-аргинин 200 мг/кг. \* — статистически значимые различия по сравнению с контролем в данный срок наблюдения.

## ВЫВОДЫ

1. Введение пентоксифиллина здоровым крысам (60 мг/кг) приводит к немедленному увеличению уровня микроциркуляции. L-аргинин (200 мг/кг) в течение 6 ч действия на уровень микроциркуляции не оказывал.

2. На фоне моделирования ишемии L-аргинин в дозах 30 и 200 мг/кг оказывает дозозависимый эффект, что выражается в увеличении уровня микроциркуляции к 28-м суткам по сравнению с контролем.

3. L-аргинин в дозе 200 мг/кг способствует активации процессов резорбции некроза в мышцах, ускорению развития грануляционной ткани и регенерации скелетных миоцитов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. В. М. Кошкин, *Ангиология и сосудистая хирургия*, **5**(1), 106 – 111 (1998).

2. В. И. Маколкин, *Микроциркуляция в кардиологии*, Визарт, Москва (2004).
3. Н. Н. Петрищев, *Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция*, СПбГМУ, СПб (2003).
4. А. В. Покровский, В. Н. Дан, А. В. Чупин, *Ангиология и сосудистая хирургия*, **6**(2), 19 – 26 (2000).
5. А. М. Светухин, А. П. Симоненков, С. А. Оруджева, *Методология флоуметрии*, № 9, 45 – 50 (1997).
6. Ю. Л. Шевченко, *Медико-биологические и физиологические основы клеточных технологий в сердечно-сосудистой хирургии*, Наука, СПб (2006).
7. Т. Г. Покровская, В. И. Кочкаров, Г. С. Лазаренко и др., *Научные ведомости Белгородского государственного университета*, № 3, 43 – 51 (2006).
8. E. G. Bliznakov, *Circulation*, **106**(12), 220 – 221 (2002).
9. P. John, *Circulation*, **105**(5), 2133 – 2135 (2002).
10. N. Ferrara, *Endocrine Reviews*, **25**(4), 581 – 611 (2004).
11. M. Simons, *Circulation*, **111**, 1556 – 1566 (2005).
12. A. Takeshita, *Circulation*, **98**, 1261 – 1263 (1998).

Поступила 20.11.07

## POSSIBILITIES OF PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF EXPERIMENTAL CHRONIC LIMB ISCHEMIA

E. B. Artyushkova\*, D. V. Pashkov, M. V. Pokrovskii, A. V. Faitelson, O. S. Gudyrev, T. G. Pokrovskaya, E. N. Pashin, and V. I. Kochkarov

Department of Pharmacology, Kursk State Medical university, ul. K. Marksa 3, Kursk, 305041 Russia

\* E-mail: eartyushkova@mail.ru

In tests on a group of 250 rats, we studied (i) the level of microcirculation in the muscles of a healthy limb in the norm and (ii) the dynamics of microcirculation for 6 h after treatment with pentoxifylline in a dose of 60 mg/kg dose and L-arginine in a dose of 30 and 200 mg/kg. The chronic ischemia was modeled by excision of basic femoral artery. There was no significant difference in pentoxifylline-treated animals in comparison to the control. In the group treated with L-arginine in a dose of 30 mg/kg, a significant increase in microcirculation was observed on the 28-th day of experiment. In the group treated with L-arginine in a dose of 200 mg/kg, there was an increase of microcirculation in all terms of the experiment in comparison to the control. The results of laser doppler flow measurements are correlated with the results of morphological investigation.