

Оптимизация терапевтического ангиогенеза при экспериментальной язвенно-некротической стадии критической ишемии нижних конечностей

© Б.С. СУКОВАТЫХ¹, Э.Э. ФЕЙЗИЕВ¹, М. А. ЗАТОЛОКИНА¹, А. С. БЕЛОУС²,
Е.В. ТРУБНИКОВА², М.Б. СУКОВАТЫХ¹

¹Курский государственный медицинский университет, Курск, Российская Федерация

²Курский государственный университет, Курск, Российская Федерация

Актуальность. Эффективность терапевтического ангиогенеза в язвенно-некротическую стадию критической ишемии нижних конечностей недостаточна, чтобы спасти конечность.

Цель. Изучить эффективность терапевтического ангиогенеза препаратом «Уденафил», мононуклеарной фракцией аутологичного костного мозга и их комбинацией при экспериментальной язвенно-некротической стадии критической ишемии нижних конечностей.

Материалы и методы. Ишемию мышц голени моделировали на крысах линии Wistar. Формировали 4 группы животных по 20 особей в каждой: с моделированной критической ишемией без лечения (контрольная группа); с критической ишемией и монотерапией уденафилом (уденафил перорально 8,6 мг/кг в течение 28 дней, первая опытная группа); с критической ишемией и монотерапией мононуклеарной фракцией аутологичного костного мозга (однократным паравазальным введением мононуклеарной фракции аутологичного костного мозга на 7-е сутки после моделирования критической ишемии, вторая опытная группа); с критической ишемией и комбинированной терапией (уденафил перорально в дозе 0,86 мг/кг 1 раз в сутки ежедневно в течение 28 дней и однократное паравазальное введение мононуклеарной фракции аутологичного костного мозга, аналогично группе с монотерапией, третья опытная группа). Измеряли уровень микроциркуляции крови в мышцах голени на 21-е и 28-е сутки, а затем проводили их гистологическое исследование.

Результаты. В контрольной группе после моделирования критической ишемии уровень регионарного кровотока в ишемизированной мышце голени крыс стал меньше, чем у интактных животных на 21-е сутки в 2,1 раза и на 28-е сутки - в 1,8 раза. В первой опытной группе, после введения животным, уденафила регионарный кровоток увеличивался на 21-е и на 28-е сутки в 1,6 раза, во второй опытной, при введении животным мононуклеарной фракции костного мозга, соответственно, в 1,6 и 1,7 раза, а в третьей опытной группе, после комбинированного применения клеток костного мозга и уденафила, регионарный кровоток увеличился в 1,8 раза, по сравнению с животными контрольной группы. На 28-е сутки эксперимента при гистологических исследованиях в контрольной группе, в ишемизированных мышцах голени определялись очаги некроза с наличием перифокального воспаления. В первой и во второй опытных группах отмечено уменьшение размера и количества участков некроза за счет формирования молодой соединительной ткани и новых капилляров. Новое микроциркуляторное русло не сформировано. В третьей опытной группе степень выраженности некротических изменений была минимальной, в широких прослойках соединительной ткани визуализировалось большое количество новообразованных кровеносных сосудов (артериол, капилляров, венул), которые формировали новое микроциркуляторное русло.

Вывод. Применение уденафила в комбинации с мононуклеарной фракцией костного мозга приводит к увеличению перфузии ишемизированных тканей и развитию в них нового микроциркуляторного русла.

Ключевые слова: эксперимент; крысы; критическая ишемия нижних конечностей; коррекция ишемии; уденафил; мононуклеарная фракция аутологичного костного мозга

Therapeutic Angiogenesis in the Experimental Ulcerative-Necrotic Stage of Critical Lower Limb Ischemia

© B.S. SUKOVATYKH¹, E.E. FEYZIEV¹, M.A. ZATOLOKINA¹, A.S. BELOUS²,
E.V. TRUBNIKOVA², M.B. SUKOVATYKH¹

¹Kursk State Medical University, Kursk, Russian Federation

²Kursk State University, Kursk, Russian Federation

Introduction. The effectiveness of therapeutic angiogenesis in the ulcerative-necrotic stage is insufficient to preserve the limb.

The aim of research was to study the effectiveness of therapeutic angiogenesis with "Udenafil", mononuclear fraction of autologous bone marrow and their combination in the experimental ulcerative-necrotic stage of critical lower limb ischemia.

Materials and methods. Lower leg muscle ischemia was simulated on Wistar rats. All animals were divided into 4 groups, 20 animals in each group: with simulated critical ischemia without treatment (control group); with critical ischemia and monotherapy with udenafil (udenafil, orally, 8.6 mg/kg for 28 days, the first experimental group); with critical ischemia and monotherapy with mononuclear fraction of autologous bone marrow (a single paravasal injection of a mononuclear fraction of autologous bone marrow in 7 days after critical ischemia simulation, the second experimental group); with critical ischemia and combined therapy (udenafil orally, 0.86 mg/kg, once a day, for 28 days, and a single paravasal injection with a mononuclear fraction of autologous bone marrow, similar to the group with monotherapy, the third experimental group). The level of blood microcirculation in the lower leg muscles was measured in 21 and 28 days; after that, histological examination was performed.

Results. In the control group, the regional blood flow rate in the ischemic shin muscle was 2.1 times less than in intact animals in 21 days and 1.8 times less in 28 days after simulated critical ischemia. In the first experimental group, the regional blood flow rate increased by 1.6 times in 21 days and 28 days after udenafil administration; in the second experimental group, the regional blood flow rate increased by 1.6 times and 1.7 times, respectively, after the mononuclear fraction of bone marrow was administered to animals; and in the third experimental group, the regional blood flow rate increased 1.8 times, compared with the animals of the control group after the combined use of bone marrow cells and udenafil. In 28 days after the start of the experiment, histological tests detected foci of necrosis with perifocal inflammation in the ischemic muscles of the lower leg in animals of the control group. In the first and second experimental groups, a decreased size and number of necrosis sites was registered due to formation of young connective tissue and new capillaries. None of newly formed microcirculatory bed was detected. In the third experimental group, the severity of necrotic changes was minimal, a large number of newly formed blood vessels (arterioles) were visualized in wide layers of the connective tissue (capillaries, venules); this was a new microcirculatory bed.

Conclusion. Application of udenafil combined with the mononuclear fraction of the bone marrow results in an increased perfusion of ischemic tissues and development of a new microcirculatory bed.

Keywords: experiment; rats; critical ischemia of the lower extremities; correction of ischemia; udenafil; mononuclear fraction of autologous bone marrow

Реакцией организма на ишемию тканей является создание нового микроциркуляторного русла, которое описывается в литературе как неоангиогенез. Чем быстрее образуется новая сеть, тем меньше будет площадь некроза, тем быстрее восстановится функция органа [1]. Неоангиогенез развивается постепенно. В течение первого месяца появляются единичные новые капилляры, а для развития микроциркуляторного русла, включающего артериолы, капилляры, венулы и артериовенозные шунты требуется шесть-двенадцать месяцев [2]. Целью терапевтического ангиогенеза является ускорение образования новой сосудистой сети. Проведенные ранее исследования показали, что наибольшей эффективностью обладают мононуклеарные клетки аутологичного костного мозга. Введение этих клеток в ишемизированные мышцы позволяет сократить в два раза срок создания нового микроциркуляторного русла [3]. Однако, в условиях критической ишемии нижних конечностей этот срок является слишком длительным: конечность не удается спасти в большинстве случаев [4,5].

Повысить эффективность терапевтического неоангиогенеза позволяет применение фармакологических препаратов, обладающих выраженным перфузионным эффектом - чем выше перфузия ишемизированных тканей, тем быстрее развивается новое микроциркуляторное русло [6]. В последние годы, в клинической практике для лечения перемежающейся хромоты, возникающей при хронической ишемии нижних конечностей на фоне облитерирующих заболеваний артерий, стал широко применяться новый лекарственный препарат «Цилостозол», который является ингибитором фосфодиэстеразы (ФЭД)-3 и обладает выраженным вазодилатирующим эффектом. В организме человека существует 11 типов фосфодиэстеразы. Блокируя тот или иной тип лекарственным препаратом можно добиться нужного эффекта: вызвать бронходилатацию, вазодилатацию, устранить эректильную дисфункцию у мужчин, острую сердечную недостаточность и др. [7].

ФЭД-5 содержится в эндотелиальных клетках стенок сосудов, а ее ингибиторы (уденафил, синде-

нафил) обладают вазодилатирующим действием и применяются в клинической практике для устранения эректильной дисфункции у мужчин, путем увеличения притока крови в половой член во время сексуального возбуждения [8]. Поэтому можно предположить, что ингибиторы ФЭД-5 как и ингибиторы ФЭД-3 должны оказывать положительное влияние на течение хронической ишемии конечности. Возрастание перфузии ишемизированных тканей, в свою очередь, может повысить эффективность клеточной терапии.

Цель

Изучить эффективность терапевтического ангиогенеза препаратом «Уденафил», мононуклеарной фракцией аутологичного костного мозга и их комбинаций при экспериментальной язвенно-некротической стадии критической ишемии нижних конечностей.

Материалы и методы

Эксперименты проводили на крысах линии Wistar в возрасте 4 месяцев, массой 220–250 г, прошедших карантин в условиях вивария НИИ экспериментальной медицины Курского государственного медицинского университета. Протокол исследования соответствовал этическим принципам и нормам проведения биомедицинских исследований с участием животных. Наркотизацию животных осуществляли внутрибрюшинным введением водного раствора хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг веса, выведение из эксперимента - его передозировкой. Животных распределили по группам путем рандомизации со стратификацией по массе тела, а также по проводимым операциям и манипуляциям. Были сформированы следующие группы: животные с ишемией конечности, не получавшие лечения (контрольная группа, n = 20); животные с ишемией мышц конечности, получавшие уденафил (первая опытная группа, n = 20); животные с ишемией конечности, получавшие мононуклеарную фракцию аутологичного костного мозга (вторая опытная группа, n = 20); животные с ишемией конечности, получавшие уденафил в комбинации с мононуклеарной фракцией аутологичного костного мозга (третья опытная группа, n = 20).

Таблица 1. Результаты оценки уровня микроциркуляции в мышцах голени у экспериментальных животных, (M±m) в перфузионных единицах**Table 1.** Results of the assessment of the level of microcirculation in the muscles of the lower leg in experimental animals, (M±m) in perfusion units

Группа животных/ Group of animals	21 сутки/21 days (n=10)	28 сутки/28 days(n=10)
Контрольная (моделирование критической ишемии)/ Control (modeling of critical ischemia)	249,1±7,31*	302,9±6,46*
1 опытная (моделирование критической ишемии и ее коррекция уденафилом)/ 1 experimental (modeling of critical ischemia and its correction with udenafil)	394,6±5,99* **	486,7±7,59* **
2 опытная (моделирование критической ишемии и ее коррекция мононуклеарной фракцией костного мозга)/ 2 experimental (modeling of critical ischemia and its correction of the bone marrow mononuclear fraction)	401,3±10,87* **	504,8±8,52* **
3 опытная (моделирование критической ишемии и ее коррекция уденафилом и мононуклеарной фракцией костного мозга)/ 3 experimental (modeling of critical ischemia and its correction with udenafil and bone marrow mononuclear fraction) 3 experimental (modeling of critical ischemia and its correction with udenafil and bone marrow mononuclear fraction)	451,9±19,8* ** ***	543,4±11,25** ***

Примечание: * - $p < 0,05$ в сравнении с интактными животными; ** - $p < 0,05$ в сравнении с контрольной группой; *** - $p < 0,05$ в сравнении с первой и второй опытными группами.

Note: * - $p < 0.05$ in comparison with intact animals; * * - $p < 0.05$ in comparison with the control group; *** - $p < 0.05$ in comparison with the first and second experimental groups.

Оригинальный способ создания язвенно-некротической стадии ишемии конечностей в контрольной группе подробно описан нами ранее и заключался в иссечении бедренной, подколенной и берцовых артерий и вен, пересечении периферического нерва [9].

В первой опытной группе, после моделирования критической ишемии, перорально вводили уденафил 8,6 мг/кг в течение 28 дней. Во второй опытной группе, на фоне моделирования критической ишемии, производили ее коррекцию мононуклеарной фракцией аутологичного костного мозга. На 7 сутки эксперимента после развития клинической картины язвенно-некротической стадии критической ишемии производили пункцию большеберцовой кости и аспирировали 1-2 мл клеток костного мозга. Мононуклеарную фракцию выделяли по методу *Voium* [10]. Однократно вводили по 50 мкл мононуклеарной фракции аутологичного костного мозга в 2 точки: паравазально над и под паховой связкой в места функционирующих ветвей подвздошной артерии, которые кровоснабжают мышцу верхней и средней трети бедра, и в 2 точки в ишемизированные мышцы нижней трети внутренней поверхности бедра и задней поверхности голени. Введение аутоклеток костного мозга осуществляли по ходу функционирующих сосудов и в ишемизированные мышцы для создания новых путей притока артериальной крови.

В третьей опытной группе коррекция критической ишемии производилась комбинацией уденафила перорально в дозе 0,86 мг/кг 1 раз в сутки ежедневно в течение 28 дней и однократным введением монону-

клеарной фракции аутологичного костного мозга, аналогично второй опытной группе животных.

Уровень микроциркуляции крови в мышцах голени определяли на 21 и 28-е сутки при помощи лазерной доплеровской флоуметрии, значения микроциркуляции выражали в перфузионных единицах (ПЕ). Предварительно, перед началом эксперимента нами был определен у интактных животных нормальный уровень микроциркуляции в мышцах голени, который оказался равным $531,86 \pm 12,08$ ПЕ.

Животных выводили из эксперимента на 21 и 28-е сутки (по 10 крыс в каждый срок) путем передозировки наркоза. В каждом случае производили аутопсию с дальнейшей подготовкой препарата мышцы голени. Гистологический материал фиксировали в 10% формалине в течение 7 сут. Парафиновые блоки и микропрепараты изготавливали по стандартной методике.

Статистический анализ полученных данных осуществляли в программе Microsoft Excel 10.0. Рассчитывали средние значения (M) показателей и ошибки среднего (m). Использовали двухвыборочный t-тест с различными дисперсиями для сравнения показателей в различных группах животных и определения достоверности различий между ними. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты

Оценка уровня микроциркуляции в группах экспериментальных животных представлена в таблице 1.

В контрольной группе уровень регионарного кровотока в ишемизированной мышце голени крыс стал меньше, чем в группе интактных животных на

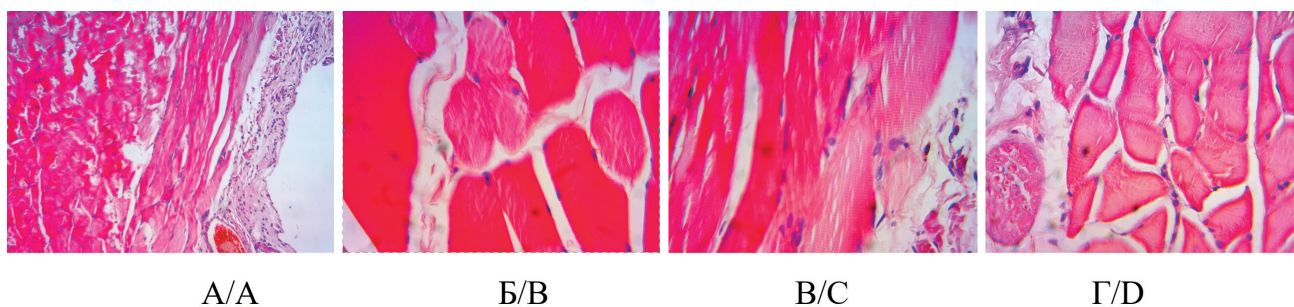


Рис. 1 Микрофотография среза скелетной мышечной ткани в области средней трети голени у крыс на 28-е сутки эксперимента. Окрашено гематоксилином и эозином. Ув. x400. А – мышцы голени крыс контрольной группы; Б – ишемизированные мышцы голени крыс, получавших уденафил; В - ишемизированные мышцы голени крыс после введения мононуклеарной фракции костного мозга; Г - ишемизированные мышцы голени крыс, получавших уденафил в комбинации с мононуклеарной фракцией аутологичного костного мозга.

Fig. 1 Micrograph of a section of skeletal muscle tissue in the middle third of the lower leg in rats on the 28th day of the experiment. Stained with hematoxylin and eosin. Uv. x400. A - lower leg muscles of rats of the control group; B - ischemic lower leg muscles of rats treated with udenafil; C - ischemic lower leg muscles of rats after administration of the mononuclear fraction of bone marrow; D - ischemic lower leg muscles of rats treated with udenafil in combination with the mononuclear fraction of autologous bone marrow.

21-е сутки в 2,1 раза и на 28-е сутки - в 1,8 раза. В первой опытной группе, после введения животным уденафила, регионарный кровоток увеличивался на 21-е и на 28-е сутки в 1,6 раза, по сравнению с контрольной группой животных. Во второй опытной группе, при введении животным мононуклеарной фракции костного мозга, кровоток увеличился, соответственно, в 1,6 и 1,7 раза. В 3 опытной группе, после комбинированного применения клеток костного мозга и уденафила регионарный кровоток возрастал на 21-е и на 28-е сутки в 1,8 раза

На 28-е сутки в контрольной группе животных с критической ишемией в пораженных мышцах наблюдалась картина тяжелого воспалительного процесса. Визуализировались обширные участки некротизированных тканей, которые были инфильтрированы нейтрофилами и лимфоцитами. В прилегающей к участкам некроза мышечной ткани определялись атрофированные волокна. В соединительнотканых прослойках гистологические признаки воспалительного процесса были менее выраженными. Визуализировались как клетки воспалительного ряда (лимфоциты, моноциты, тучные, нейтрофилы и эозинофилы), так и клетки репаративного - единичные фибробласты и фиброциты. В окружности мышцы был выраженный интерстициальный отек, появлялись новые единичные капилляры (рис. 1А).

При гистологическом исследовании мышечной ткани в первой опытной группе обнаружена положительная динамика. Во-первых, участки некроза начали ограничиваться и замещаться грануляционной тканью. Изменилось соотношение клеточного компонента в сторону преобладания клеток репаративного над клетками воспалительного ряда. Во-вторых, вблизи участков некроза появились многочисленные вновь образованные капилляры. Однако в прослойках соединительной ткани между скелетными мышцами сохранялась клеточная инфильтрация, что свидетельствовало о незавершенности воспалительного процесса. (рис. 1Б).

При микроскопии у животных во второй опытной группе после введения мононуклеарных клеток костного мозга, также, как и в первой опытной группе, выявлено снижение степени воспалительного процесса, что проявлялось уменьшением количества и размеров некротических участков, замещением их молодой соединительной тканью. Продолжала сохраняться круглоклеточная инфильтрация, в прослойках соединительной ткани регистрировались клеточные элементы воспалительного процесса. Артериолы и вены, вокруг очагов некроза были расширены с признаками тромбоза. Как и у животных первой группы определялись многочисленные новообразованные капилляры, однако, единого микроциркуляторного русла не образовалось (рис. 1В).

Степень выраженности некротических изменений в группе, получавшей комбинированное лечение уденафилом и мононуклеарной фракцией костного мозга, была минимальной среди всех групп наблюдения. Симпласты мышечных волокон имели однородную окраску саркоплазмы. При визуализации под большим увеличением, как на поперечных, так и на продольных срезах определялись мелкие, вытянутой формы, расположенные по периферии мышечных волокон ядра. В прослойках соединительной ткани плотность клеток была низкая, в поле зрения преобладали клетки фибробластического дифферона. Определялись единичные лимфоциты, мелкие тучные клетки, преимущественно в стадии накопления секрета. Артериолы и вены наполнены кровью, без признаков структурных нарушений. В широких прослойках соединительной ткани (в участках между мышцами, где изначально локализовались крупные сосуды) визуализировалось большое количество новообразованных кровеносных сосудов с признаками тромбоза. Определялись вновь сформированные артериолы и вены, которые, вместе с капиллярами, создавали единую сеть. В стенке сосудов определялись плоские эндотелиоциты, ось клетки ориентирована вдоль базальной мембраны, мышечная оболочка образована гладкими

миоцитами, без признаков фиброза. Можно считать что у животных этой группы сформировалось новое микроциркуляторное русло (рис. 1Г).

Обсуждение

Проведенное исследование показало, что ингибитор фосфодиэстеразы-5-уденофил - улучшает перфузию ишемизированных тканей и, тем самым, предотвращает распространение некротического процесса. Уденафил так же способствует образованию новых капилляров, но эффективность его недостаточна, чтобы вызвать полноценный ангиогенез.

Изолированное введение аутологичных клеток костного мозга позволяет ограничить очаги некроза соединительной тканью и увеличить перфузию ишемизированных мышц. Однако, новое микроциркуляторное русло к концу эксперимента оказалось не сформированным. Лишь при комбинированном применении уденафила и мононуклеарной фракции костного мозга к концу эксперимента в ишемизированных тканях сформировалось новое микроциркуляторное русло.

Основной причиной неудач клеточной терапии в стадии критической ишемии нижних конечностей является недостаточная перфузия ишемизированных

тканей. Поэтому применение ингибиторов фосфодиэстеразы -5, обладающих вазодилатирующим действием, в лечении сердечно-сосудистых заболеваний является вполне оправданным [11].

Вывод

Комбинированное применение при экспериментальной ишемии конечности уденафила и мононуклеарной фракции аутологичного костного мозга позволяет в 1,8 раза увеличить перфузию ишемизированных тканей и сформировать новое микроциркуляторное русло.

Дополнительная информация

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена в соответствии с планом научных исследований Курского государственного медицинского университета. Финансовой поддержки со стороны компаний производителей медицинского назначения авторы не получали.

Одобрение комитета по этике

Положительное заключение на экспериментальное исследование регионарного этического комитета Курского государственного медицинского университета (Протокол 2 от 04.04.2019 года.)

Список литературы

- Asahara T, Kawamoto A, Masuda H. Concise review: circulating endothelial progenitor cells for vascular medicine. *Stem. Cells.* 2011; 29: 11: 1650-1655. doi: 10.1002/stem.745.
- Fujita Y, Kawamoto A. Stem cell-based peripheral vascular regeneration. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 2017; 120: 25-40. doi: 10.1016/j.addr.2017.09.001.
- 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):23-33.
- Peeters Weem SM, Teraa M, De Borst GJ. Bone marrow derived cell therapy in critical limb ischemia: a meta-analysis of randomized placebo controlled trials. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2015; 50: 6: 775-783. doi: 10.1016/j.ejvs.2015.08.018.
- Rigato M, Monami M, Fadini GP. Autologous cell therapy for peripheral arterial disease: systematic review and meta-analysis of randomized non-randomized, and non-controlled studies. *Circ. Res.* 2017; 120: 8: 1326-1340. doi 10.1161/CIRCRESAHA.116.309045.
- Murphy MP, Ross CB, Kibbe M. Intramuscular injection of autologous bone marrow cells to prevent amputation in critical limb ischemia: the results of the phase III MOBILE Trial. *J. Vasc. Surg.* 2017; 65: 131-132.
- Архипов В.В. Клиническая фармакология ингибиторов фосфодиэстеразы. *Клиническая фармакология.* 2014;3:35-41.
- Гамидов С.И., Овчинников Р.И., Попова А.Ю., Ижбаев С.Х. Ингибиторы фосфодиэстеразы 5-го типа в лечении эректильной дисфункции: прошлое, настоящее и будущее. *Урология.* 2017;1:103-108.
- Фейзиев Э.Э., Белоус А.С., Суковатых Б.С., Трубникова Е.В. Патент 2734158 Российская Федерация. Способ моделирования критической ишемии нижних конечностей у экспериментальных животных-крыс №2020111315 Курский государственный университет заявл. 18.03.2020.
- Boyum A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. *Scand J Clin Lab Invest.* 1998; 21(97):1-9.
- Tzoumas N, Farrah TE, Dhaun N, Webb DJ. Established and emerging therapeutic uses of PDE type 5 inhibitors in cardiovascular disease. *British Journal of Pharmacology.* 2020;177(24):5467-5488. doi: 10.1111/bph.14920.

References

- Asahara T, Kawamoto A, Masuda H. Concise review: circulating endothelial progenitor cells for vascular medicine. *Stem. Cells.* 2011; 29: 11: 1650-1655. doi: 10.1002/stem.745.
- Fujita Y, Kawamoto A. Stem cell-based peripheral vascular regeneration. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 2017; 120: 25-40. doi: 10.1016/j.addr.2017.09.001.
- Osipova OS, Saaya ShB, Karpenko AA, Zakiyan SM. Problems and prospects of cell therapy of critical lower limb ischemia. *Angiologiya i sosudistaya khirurgiya.* 2020; 26(2):23-33. (in Russ.)
- Peeters Weem SM, Teraa M, De Borst GJ. Bone marrow derived cell therapy in critical limb ischemia: a meta-analysis of randomized placebo controlled trials. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 2015; 50: 6: 775-783. doi: 10.1016/j.ejvs.2015.08.018.
- Rigato M, Monami M, Fadini GP. Autologous cell therapy for peripheral arterial disease: systematic review and meta-analysis of randomized non-randomized, and non-controlled studies. *Circ. Res.* 2017; 120: 8: 1326-1340. doi 10.1161/CIRCRESAHA.116.309045.
- Murphy MP, Ross CB, Kibbe M. Intramuscular injection of autologous bone marrow cells to prevent amputation in critical limb ischemia: the results of the phase III MOBILE Trial. *J. Vasc. Surg.* 2017; 65: 131-132.
- Arkhipov VV. Clinical pharmacology of phosphodiesterase inhibitors. *Klinicheskaya farmakologiya.* 2014; 3: 35-41. (in Russ.)
- Gamidov S.I., Ovchinnikov R.I., Popova A.Yu., Izhibaev S.Kh. Phosphodiesterase type 5 inhibitors in the treatment of erectile dysfunction: past, present and future. *Urologiya.* 2017; 1: 103-108. (in Russ.)
- Feiziev EE, Belous AS, Sukovatykh BS, Trubnikova EV. Patent No 2734158 Rossiiskaya Federatsiya. Sposob modelirovaniya kriticheskoi ishemii nizhnikh konechnostei u eksperimental'nykh zhivotnykh - krysy No 2020111315. Kurskii gosudarstvennyi universitet yayavl. 18.03.2020 (in Russ.)
- Boyum A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. *Scand J Clin Lab Invest.* 1998;21(97):1-9.
- Tzoumas N, Farrah TE, Dhaun N, Webb DJ. Established and emerging therapeutic uses of PDE type 5 inhibitors in cardiovascular disease. *British Journal of Pharmacology.* 2020;177(24):5467-5488. doi: 10.1111/bph.14920.

Информация об авторах

1. Суковатых Борис Семенович - д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей хирургии, Курский государственный медицинский университет, e-mail: SukovatykhBS@kursksmu.net
2. Фейзи́ев Эльвин Эйнулла Оглы – соискатель кафедры общей хирургии, Курский государственный медицинский университет, e-mail: elvin251546@gmail.com3
3. Затолокина Мария Алексеевна - д.м.н., профессор кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии, Курский государственный медицинский университет, e-mail:zatolokinama@kursksmu.net
4. Белоус Александр Сергеевич – к.м.н., старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории «Генетика», Курский государственный университет, e-mail: a.s.belous@mail.ru
5. Трубникова Елена Владимировна - д.б.н., доцент, заведующая научно-исследовательской лабораторией «Генетика», Курский государственный университет, e-mail:tr_e@list.ru
6. Суковатых Михаил Борисович - к.м.н., доцент кафедры общей хирургии, Курский государственный медицинский университет, e-mail: SukovatykhMB@kursksmu.net

Information about the Authors

1. Boris Semenovich Sukovatykh - M.D., Prof. Head Department of General Surgery, Kursk State Medical University, e-mail: SukovatykhBS@kursksmu.net
2. Elvin Eynulla Feyziev oglu - applicant for the Department of General Surgery, e-mail: elvin251546@gmail.com3
3. Maria Alexandrovna Zatolokina - Ph.D. Associate Professor of the department of Histology, Cytology, Embryology, Kursk state medical university, e-mail: zatolokinama@kursksmu.net
4. Alexander Sergeevich Belous - Ph.D., Senior Researcher, Research Laboratory "Genetics", Kursk State University, e-mail: a.s.belous@mail.ru
5. Elana Vladimirovna Trubnikova - M.D., Head of the Research Laboratory "Genetics", Kursk State University, e-mail:tr_e@list.ru
6. Mikhail Borisovich Sukovatykh - Ph.D., Associate Professor of the Department of General Surgery, Kursk State Medical University, e-mail: SukovatykhMB@kursksmu.net

Цитировать:

Суковатых Б.С., Фейзи́ев Э.Э., Затолокина М. А., Белоус А.С., Трубникова Е.В., Суковатых М.Б. Оптимизация терапевтического ангиогенеза при экспериментальной язвенно-некротической стадии критической ишемии нижних конечностей. Вестник экспериментальной и клинической хирургии 2022; 15: 1: 58-63. DOI: 10.18499/2070-478X-2022-15-1-58-63.

To cite this article:

Sukovatykh B.S., Feyziev E.E., Zatolokina M.A., Belous A.S., Trubnikova E.V., Sukovatykh M.B. Therapeutic Angiogenesis in the Experimental Ulcerative-Necrotic Stage of Critical Lower Limb Ischemia. Journal of experimental and clinical surgery 2022; 15: 1: 58-63. DOI: 10.18499/2070-478X-2022-15-1-58-63.