

Фармакологическая коррекция нарушений микроциркуляции и ишемических повреждений мышечной ткани при экспериментальной критической ишемии конечностей

Б.С. СУКОВАТЫХ, Е.Б. АРТЮШКОВА, А.Ю. ОРЛОВА, М.Ю. ГОРДОВ,
К.С. АЛЕКСАНДРОВА

Курский государственный медицинский университет, ул. К.Маркса, д.3, Курск, 305041,
Российская Федерация

Цель исследования Экспериментальное обоснование возможности применения препарата «Миелопид» в лечении экспериментальной критической ишемии конечностей.

Материалы и методы. Опыты проводились на 130 белых крысах-самцах линии Wistar. Экспериментальные животные были разделены на пять групп: интактную, контрольную, первую, вторую и третью опытные. В интактную группу вошло 10 крыс, у которых оценен нормальный уровень микроциркуляции. В остальных группах было включено по 30 крыс-самцов в каждую, у которых моделировали критическую ишемию правой задней конечности путем иссечения бедренной и подколенной артерий. В контрольной группе лечение не проводилось. В первой группе экспериментальные животные получали препарат «Миелопид» по 50 мкг/кг в мышцы бедра через 3 часа после операции, затем через одни, двое, трое суток. Во второй группе крысам вводили препарат «Актовегин», а в третьей - «Солкосерил» интраперитонеально в дозе 50 мкг/кг через 3 часа после операции, затем ежедневно в течение пяти суток. Оценка уровня микроциркуляции в мышцах голени крыс выполнялась методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) на 10-е, 21-е и 28-е сутки эксперимента, на тех же сроках производили гистологическое исследование ишемизированных мышц, во время которого определяли динамику среднего диаметра артериол, капилляров, венул, мышечных волокон, уровня артерио-венулярного шунтирования, площади некроза и плотности капиллярной сети.

Результаты и их обсуждение Уровень микроциркуляции в первой группе животных превосходил на 10-е сутки эксперимента аналогичный показатель во второй и третьей группах в 1,24, на 21-е сутки - в 1,18, а на 28-е сутки во второй группе в 1,42, а в третьей - в 1,71 раза. Уровень артерио-венулярного шунтирования у животных, пролеченных миелопидом, был ниже на 21-е сутки эксперимента на 8,1%, чем у животных, пролеченных актовегином и на 17,3% - пролеченных солкосерилом. На 10-е сутки площадь некроза мышечных волокон у животных, пролеченных миелопидом, была достоверно меньше на 13,2%, чем в группе животных, которым вводили актовегин и на 7,5% в третьей группе животных, лечившихся солкосерилом, на 21-е сутки соответственно на 10,8% и на 11,1%, на 28-е сутки - на 5% и на 6%. Плотность капиллярной сети на 10-е сутки в первой группе превосходила в 1,25 плотность во второй группе и в 1,34 в третьей, на 21-е сутки соответственно в 1,2 и 1,4, на 28-е сутки - в 1,46 и 1,47 раза.

Заключение Лечение экспериментальной критической ишемии нижних конечностей препаратом «Миелопид» патогенетически обосновано и эффективно.

Ключевые слова критическая ишемия, конечности, лечение, миелопид, актовегин, солкосерил.

Pharmacological Correction of Violations of Microcirculation, and Ischemic Damage of the Muscle Tissue in Experimental Critical Limb Ischemia

B.S. SUKOVATYKH, E. B. ARTYUSHKOVA, A.Y. ORLOVA, M. Y. GORDOV, K. S. ALEXANDROVA
Kursk State Medical University, 305041, Kursk, K.Marx street 3, Russian Federation

Objective Experimental substantiation of possibility of application of the drug "Myelopid" in the treatment of experimental critical limb ischemia.

Materials and methods The experiments were conducted in 130 white male rats of Wistar line. Experimental animals were divided into five groups: intact, control, first, second and third experienced. In the intact group consisted of 10 rats, which is evaluated at the normal level of the microcirculation. In the other groups was incorporated on 30 male rats each, which was modeled critical ischemia of the right hind limb by excision of the femoral and popliteal arteries. In the control group, the treatment was not carried out. In the first group of experimental animals received the drug "Myelopid" at 50 µg/kg in thigh muscle after 3 hours after surgery, and then through one, two, three days. In the second group the rats were injected the drugs "Actovegin" and the third "Solcoseryl" intraperitoneally at a dose of 50 µg/kg 3 hours after operation, and then daily for five days. Assessment of the level of microcirculation in the calf muscles of the rats were performed by laser Doppler flowmetry (LDF) on 10-th, 21-th and 28-th day of the experiment, at the same time produced a histological examination of the ischemic muscle, which was determined the dynamics of the mean diameter of the arterioles, capillaries, venules, muscle fibers, the level of arterio-venular shunting, areas of necrosis and density of the capillary network.

© Суковатых Б.С., Артюшкова Е.Б., Орлова А.Ю., Гордов М.Ю., Александрова К.С. Фармакологическая коррекция нарушений микроциркуляции и ишемических повреждений мышечной ткани при экспериментальной критической ишемии конечностей. Вестник экспериментальной и клинической хирургии 2016; 9: 3: 222-230. DOI: 10.18499/2070-478X-2016-9-3-222-230.

Results and their discussion The level of the microcirculation in the first group of animals was surpassed on the 10th day of the experiment, the same indicator in the second and third groups of 1.24, on the 21st day - of 1.18, and on the 28th day in the second group of 1.42 and in the third - 1.71 times. Level arterio-venular shunting in animals that were treated with myelopid, was below on the 21st day of the experiment, 8.1%, than in animals treated need to go and 17.3% - treated by solcoseryl. For 10 days the area of necrosis of muscle fibers in animals treated with myelopid, was significantly less by 13.2% than in the group of animals who were injected with Actovegin and 7.5% in the third group of animals treated with Solcoseryl in, on the 21st day respectively by 10.8% and 11.1%, 28 days - 5% and 6%. The density of the capillary network on the 10th day in the first group was superior to 1.25 density in the second group and 1.34 in the third, on the 21st day, respectively, 1.2 and 1.4, on the 28th day - of 1.46 and 1.47 times.

Conclusion The experimental treatment of critical limb ischemia by the drug "Myelopid" is pathogenetically justified and effective. *Key words* critical limb ischaemia, treatment, Myelopid, Actovegin, Solcoseryl.

Хроническим облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей в России страдает около 3 млн. человек. У 140-150 тыс. пациентов ежегодно развивается критическая ишемия, которая приводит к высокой ампутации и потери конечности у 30-40 тыс. человек [7]. В связи с неуклонным старением населения в промышленно развитых странах, глобальным увеличением распространенности метаболического синдрома, сахарного диабета, курения, артериальной гипертензии и ожирения прогнозируется значительное увеличение числа больных [15].

Предшествующими исследованиями было установлено, что в основе критической ишемии лежат нарушения в микроциркуляторном русле [8]. Патологические механизмы нарушения микроциркуляции начинаются с уменьшения притока крови по артериям, что приводит к компенсаторному венозному застою в венах, выравниванию давления на артериальном и венозном отрезке капилляра с развитием капилляростаза [1]. Именно капилляростаз является центральным звеном механизма развития критической ишемии в результате которого резко нарушаются обменные процессы и развиваются ишемические повреждения мягких тканей дистальных отделов конечностей [12].

Механизмом регулирования кровотока в микроциркуляторном русле ишемизированной конечности является артериовенулярное шунтирование, которое позволяет уменьшить приток крови в капилляры, но увеличивает ишемическое повреждение мышечной ткани в результате прогрессирующей гипоксии [2]. Следовательно, лекарственная терапия при критической ишемии конечностей должна быть направлена на устранение нарушений микроциркуляции, ликвидации капилляростаза, уменьшение артериовенулярного шунтирования, предупреждение ишемических повреждений ткани. Наиболее для этих целей подходят препараты, обладающие ангиопротекторными, антиоксидантными, антигипоксическими и репаративными свойствами. Такими препаратами являются актовегин и солкосерил, являющиеся стимуляторами регенерации ткани. Данные препараты широко применяются для лечения критической ишемии [9]. Поэтому, их можно использовать в качестве сравнительного стандарта при изучении эффективности новых лекарственных препаратов для лечения критической ишемии [13].

Интенсивное изучение клеточных механизмов ангиогенеза и выделение клеток-предшественников сосудистого эндотелия и ангиобластов позволила сначала в экспериментальных, а затем в клинических условиях для лечения ишемии тканей широко применять стволовые клетки, содержащиеся в моноклеарной фракции костного мозга [10,16].

Однако, выделение стволовых клеток из костного мозга является слишком затратным с экономической точки зрения. В то же время имеются фармакологические препараты из клеток костного мозга, которые в основном применяются как иммуностимуляторы при вторичных иммунодефицитных состояниях, а действие их на ишемизированную ткань не изучено. Одним из таких препаратов является миелопид – экстракт из костного мозга телят, который применяется при иммунодефицитных состояниях после хирургических операций, механических, термических и химических травмах. Критическую ишемию конечностей можно рассматривать как ишемическое повреждение тканей конечностей вследствие недостаточного поступления артериальной крови. Следовательно, можно ожидать позитивного влияния препарата на течение критической ишемии конечностей.

Цель работы – сравнить эффективность миелопида, актовегина и солкосерила в лечении критической ишемии конечностей.

Материалы и методы

Опыты проводились на 130 белых крысах-самцах линии Wistar массой 300-350 г без внешних признаков заболевания, находящихся в виварии Курского государственного медицинского университета в одинаковых условиях на стандартном пищевом режиме. Операции и все манипуляции с крысами проводились в условиях общего обезболивания. Эвтаназию осуществляли при помощи передозировки средств для наркоза в соответствии с «Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей», принятой Советом Европы (Strasbourg, Франция, 1986) и Директивой Совета 86/609/ЕЕС от 24.11.1986 «По согласованию законов, правил и административных распоряжений стран участниц в отношении защиты животных, используемых в экспериментальных и научных целях».

Экспериментальные животные были разделены на пять групп: интактную, контрольную, первую, вто-

Динамика среднего диаметра артериол в группах экспериментальных животных, (M±m в микрометрах, n=10) / Movement of the arterioles average diameter in groups of experimental animals, (M + m in micrometers, n=10)

Группы животных / Groups of animals	Сутки эксперимента / The day of the experiment		
	10 сутки / 10 days	21 сутки / 21 days	28 сутки / 28 days
Контрольная / control	11,41±0,15	11,8±0,25	11,63±0,15
1 группа / 1 group	12,8±6,2*	14,8±5,3*	15,2±2,6*
2 группа / 2 group	13,32±1,25*	15,28±1,15*	16,4±0,95*
3 группа / 3 group	13,63±1,75*	11,94±2,05*	15,59±1,35*

Примечание: * - при $p < 0,05$ в сравнении с контрольной группой / Note: * - at $p < 0.05$ in comparison with control group

рую и третью опытные. В интактную группу вошло 10 крыс, у которых оценен нормальный уровень микроциркуляции. В остальных группах было включено по 30 крыс-самцов в каждую, у которых моделировали критическую ишемию правой задней конечности следующим образом. Под наркозом хлоралгидратом в дозе 250-300 мг/кг животных фиксировали на спине, затем после соответствующей подготовки операционного поля (сбривание шерсти и обработка 70% раствором спирта) выполняли разрез кожи по внутренней поверхности бедра на всю длину области. Выделяли элементы сосудисто-нервного пучка бедра. Артерию отделяли от вены и нерва, мобилизовали (пересекали отходящие от нее ветви первого порядка). Накладывали лигатуры на артерию у места ее начала (под паховой связкой) и пересекали. Перевязывали и пересекали а. saphena (аналог глубокой артерии бедра у человека). Выделяли подколенную артерию и начальные отделы артерий голени (бифуркация подколенной артерии), которые пересекали. Участок магистрального сосуда, включающий бедренную, подколенную артерию и начальные отделы артерий голени удаляли. Значимого ретроградного кровотока из артерий голени не наблюдалось, поэтому лигатуры не накладывались. Рану на бедре ушивали непрерывным швом.

В контрольной группе лечение не проводилось. В первой группе экспериментальные животные получали препарат «Миелопид» по 50 мг/кг в мышцы бедра через 3 часа после операции, затем через одни, двое, трое суток.

Во второй группе крысам вводили препарат «Актовегин», а в третьей - «Солкосерил» интраперитонеально в дозе 50 мг/кг через 3 часа после операции, затем ежедневно в течение пяти суток.

Оценка уровня микроциркуляции в мышцах голени крыс выполнялась методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) на 10-е, 21-е и 28-е сутки эксперимента. Исследование осуществляли при помощи аппарата – лазер-доплеровского флоуметра “Вiorasystems MP-100” и датчика “TSD-144”. Запись и обработка данных производилась при помощи программы AcqKnowledge 38. Исследование выполняли под наркозом хлоралгидратом в дозе 250-300 мг/кг, который вводили внутривенно в виде водного раствора.

После наступления наркотического сна иссекали участок кожи на передне-латеральной поверхности правого голени задней конечности. Животное укладывали на противоположную сторону. Датчик вплотную приставляли к мышце бедра, затем голени и проводили флоуметрию. Уровень микроциркуляции регистрировали в пяти точках: 1) середина длины мышцы; точки на 3-4 мм 2) выше, 3) ниже, 4) латеральнее и 5) медиальнее от первой. Запись кривой уровня микроциркуляции проводили в течение 30 сек в каждой точке. Из полученных пяти значений выводили среднее, которое вносили в протокол и принимали за уровень микроциркуляции в мышцах голени у данного животного. Из полученных 10 значений у разных животных выводили среднее, которое принимали за уровень микроциркуляции в данной группе животных на данном сроке исследования.

Лабораторные животные выводились из эксперимента путем передозировки наркоза на 10, 21 и 28 сутки. Ишемизированные мышцы голени иссекали и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. После фиксации из каждой мышцы вырезали по 2 кусочка и после дегидратации в спиртах восходящей крепости заливали в парафин по общепринятой методике. Парафиновые срезы толщиной 7-10 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Для количественной оценки диаметров артериол, капилляров, венул, мышечных волокон, зоны некроза и плотности капиллярной сети использовали планиметрию срезов. Изготовленные препараты смотрели в 20 полях зрения с помощью окуляр-микрометра. Уровень артериовенулярного шунтирования оценивался следующим образом по формуле:

$$\frac{\text{Øвен} - \text{Øарт}}{\text{Øвен}} \times 100\%$$

где, Ø вен – средний диаметр венул, Ø арт – средний диаметр артериол.

Полученные данные обработаны статистически: рассчитаны средние значения сдвигов (M), средняя ошибка средней арифметической ($\pm m$) и вероятность возможной ошибки (p), рассчитанной с использовани-

Таблица 2 / Table 2

Динамика среднего диаметра капилляров в группах экспериментальных животных, (M+m в микрометрах, n=10) / Movement of the capillaries average diameter in groups of experimental animals, (M + m in micrometers, n=10)

Группы животных / Groups of animals	Сутки эксперимента / the day of the experiment		
	10 сутки / 10 days	21 сутки / 21 days	28 сутки / 28 days
Контрольная / control	3,72±0,45	4,57±0,93	4,53±0,64
1 группа / 1 group	4,73±0,51*	5,5±0,23*	6,9±0,67*
2 группа / 2 group	4,96±0,22*	4,69±0,17*	6,17±0,35*
3 группа / 3 group	4,49±0,67*	3,94±0,13*	4,85±0,55*

Примечание: * - при p<0,05 в сравнении с контрольной группой / Note: * - at p<0.05 in comparison with control group

Таблица 3 / Table 3.

Динамика плотности капилляров (M+m в микрометрах, n=10) / Dynamics of capillary density (M + m in micrometers, n=10)

Группы животных / Groups of animals	Сутки эксперимента / The day of the experiment		
	10 сутки / 10 days	21 сутки / 21 days	28 сутки / 28 days
Контрольная / control	20,87±6,34	24,95±5,33	28,25±4,89
1 группа / 1 group	29,01±5,42*#	34,68±6,12*#	45,57±7,25*#
2 группа / 2 group	23,21±3,12*	28,9±4,42*	31,12±4,35*
3 группа / 3 group	21,61±7,02*	24,96±5,46*	31,08±4,64*

Примечание: * - p<0,05 в сравнении с показателями в контрольной группе; # - p<0,05 в сравнении с показателями второй и третьей групп / Note: * - p<0,05 in comparison with indicators in the control group; # - p<0,05 in comparison with indicators of the second and third groups.

Таблица 4 / Table 4

Динамика среднего диаметра венул в группах экспериментальных животных, (M+m в микрометрах, n=10) / Movement of the venules average diameter in groups of experimental animals, (M + m in micrometers, n=10)

Группы животных / Groups of animals	Сутки эксперимента / The day of the experiment		
	10 сутки / 10 days	21 сутки / 21 days	28 сутки / 28 days
Контрольная / control	26,78±3,65	19,56±2,83	18,99±3,45
1 группа / 1 group	24,72±0,57*	19,8±0,44*	20,7±0,31*
2 группа / 2 group	23,53±0,42*	22,85±0,87*	22,24±0,65*
3 группа / 3 group	25,51±4,05*	20,88±2,35*	22,06±1,95*

Примечание: * - при p<0,05 в сравнении с контрольной группой / Note: * - at p<0.05 in comparison with control group.

ем критерия Стьюдента для групп с различной дисперсией. Различия оценивали как достоверные при p<0,05. Статистические расчеты проводились с использованием программы Microsoft Excel 2007, Statistica (v.6.0).

Результаты исследования.

Несмотря на достаточную агрессивность модели экспериментальной патологии и развития выраженной острой ишемии конечности, по прошествии 3-4 суток у животных наблюдалась относительная компенсация артериальной недостаточности: конечность включалась в акт передвижения, исчезал или уменьшался ишемический отек. Параллельно с течением времени появлялись признаки формирующейся критической ишемии конечности, частота симптомов которой при данной экспериментальной модели опубликована нами ранее [11].

При изучении артериального притока в микроциркуляторное русло мышц на фоне критической экспериментальной ишемии по данным среднего диа-

метра артериол получены следующие результаты, которые представлены в таблице 1.

У животных в интактной группе средний диаметр артериол на всех сроках эксперимента составлял 15,1±4,5 мкм. Из таблицы видно, что диаметр артериол в ишемизированной конечности во всех исследуемых группах был достоверно выше по сравнению с контрольной: при лечении миелопидом на 10 сутки на 1,4 мкм, на 21 сутки – на 3,0, на 28 сутки – на 3,6; при применении актовегина на 10 сутки на 1,9 мкм, на 21 сутки – на 3,5, на 28 сутки - на 4,8; после применения солкосерила на 10 сутки в среднем на 3 мкм, на 21 сутки – на 0,1, на 28 сутки на 4 мкм.

Динамика среднего диаметра капилляров на разных сроках эксперимента представлена в таблице 2.

Диаметр капилляров в интактной группе животных колебался в пределах 7,1±1,7 мкм на всех сроках эксперимента. Из таблицы видно, что диаметр капилляров в ишемизированной конечности в группе животных, пролеченных миелопидом, был достоверно выше

Индекс артериовенулярного шунтирования (в %) / The arteriovenular shunt index (in %)

Группы животных / Groups of animals	Сутки эксперимента / The day of the experiment		
	10 сутки / 10 days	21 сутки / 21 days	28 сутки / 28 days
Контрольная / control	57,4±0,03	39,7±0,08	38,7±0,15
1 группа / 1 group	48,2±0,12*	25,2±0,08*	26,5±0,07*
2 группа / 2 group	43,4±0,05*	33,3±0,09*	26,1±0,10*
3 группа / 3 group	46,5±0,06*	42,5±0,07*	29,3±0,13*

Примечание: * - при $p < 0,05$ в сравнении с контрольной группой / Note: * - at $p < 0.05$ in comparison with control group.

Динамика уровня микроциркуляции (M+m в абсолютных значениях перфузионных единиц, n=10) / Movement of the level of microcirculation (M+m in absolute values of perfusion units, n=10)

Группы животных / Groups of animals	Сутки эксперимента / The day of the experiment		
	10 сутки / 10 days	21 сутки / 21 days	28 сутки / 28 days
Контрольная / control	209,20±6,45	312,08±14,03	369,56±14,64
1 группа / 1 group	310,21±16,05* **	470,09±23,03* **	760,98±70,12* **
2 группа / 2 group	249,46±9,49*	398,42±26,37*	535,34±18,26* #
3 группа / 3 group	250,2±15,49*	391,92±12,14*	445,48±9,99*

Примечание: * - $p < 0,05$ в сравнении с показателями в контрольной группе; ** - $p < 0,05$ в сравнении с показателями второй и третьей групп, # - $p < 0,05$ в сравнении с показателями третьей группы / Note: * - $p < 0,05$ in comparison with indicators in the control group; ** - $p < 0,05$ in comparison with indicators of the second and third groups, # - $p < 0,05$ in comparison with indicators of the third group.

на всех сроках эксперимента, особенно к 28 суткам, на 2,37 мкм в сравнении с контрольной группой. После применения актовегина средний диаметр капилляров на 10 сутки был выше на 1,24 мкм, на 21 – на 0,12 мкм, на 28 – на 1,54 мкм в сравнении с контрольной группой животных. Солкосерил также увеличивал средний диаметр капилляров в сравнении с контрольной группой, однако, в меньшей степени: на 10 сутки на 0,77 мкм, а на 28 – на 0,32 мкм.

Динамика плотности капилляров в группах экспериментальных животных, путем определения количества капилляров в окуляре микрометра, представлена в таблице 3.

Плотность капиллярной сети в группе интактных животных колебалась в пределах $33 \pm 6,5$ мкм. Из таблицы видно, что плотность капилляров в ишемизированной конечности во всех исследуемых группах была выше по сравнению с контрольной: при лечении миелопидом на 10-е сутки в 1,4, на 21-е сутки – в 1,4 и на 28-е сутки – в 1,6 раза; при лечении актовегином соответственно по срокам - в 1,11, в 1,16 и 1,1 раза; при лечении солкосерилом - в 1,03, 1,0 и 1,1 раза. При сравнении эффективности актовегина и солкосерила на плотность капилляров актовегин достоверно превосходил солкосерил лишь на 21-е сутки эксперимента в 1,16. При сравнении эффективности миелопида и актовегина на плотность капилляров миелопид достоверно превосходил актовегин на всех сроках эксперимента, особенно к 28 суткам – в 1,45.

Динамика среднего диаметра венул на разных сроках эксперимента представлена в таблице 4.

Диаметр венул в интактной группе животных колебался в пределах $21,2 \pm 5,8$ мкм. Из таблицы видно, что диаметр венул в ишемизированной конечности в группе животных, пролеченных актовегином, на 10 сутки был меньше на 3,3 мкм, на 21 сутки увеличился на 3,3, на 28 сутки был больше на 3,5 в сравнении с контрольной группой. После применения солкосерила на 10 сутки диаметр венул был меньше в среднем на 1,6 мкм, на 21 сутки увеличивался на 1,3, а на 28 сутки на 2,1 в сравнении с контрольной группой животных. После лечения миелопидом диаметр венул на 10 и 21 сутки был ниже, а к 28 суткам возрастал на 1,8 мкм в сравнении с контрольной группой.

Динамика уровня артериовенулярного шунтирования представлена в таблице 5.

У интактных животных уровень артериовенулярного шунтирования колеблется в пределах $28,8 \pm 1,2\%$. Из таблицы видно, что уровень артериовенулярного шунтирования в ишемизированной конечности в группе животных, пролеченных миелопидом, на 10 сутки был меньше на 9,2%, на 21 - на 14,5%, на 28 - на 12,2% в сравнении с контрольной группой. После применения солкосерила на 10 сутки уровень артериовенулярного шунтирования был меньше в среднем на 10,9%, на 21 был выше на 2,8%, а на 28 сутки меньше на 9,4% в сравнении с контрольной группой животных. После лечения актовегином уровень артериовенулярного шунтирования на всех сроках эксперимента был ниже, особенно к 28 суткам - на 12,6% в сравнении с контрольной группой.

Для определения нормальных показателей у интактных животных оценили уровень микроциркуляции

**Динамика удельной площади некроза, (M+m в %, n=10)
/ Movement of the specific area of necrosis, (M + m in%, n=10)**

Группы животных / Groups of animals	Сутки эксперимента / The day of the experiment		
	10 сутки / 10 days	21 сутки / 21 days	28 сутки / 28 days
Контрольная / control	37,5±6	19±2,5	13,1±1,5
1 группа / 1 group	16±2,8* **	7,5±1,3* **	4±0,7* **
2 группа / 2 group	29,2±1,4*	18,3±2,2*	9±0,8*
3 группа / 3 group	23,5±2,4*	18,6±1,7*	10±1,1*

Примечание: * - p<0,05 в сравнении с контрольной группой, ** - p<0,05 в сравнении со второй и третьей группами / Note: * - p<0,05 in comparison with the control group; ** - p<0,05 in comparison with the second and third groups.

Динамика среднего диаметра мышечных волокон в группах экспериментальных животных, (M+m в микрометрах, n=10) / Movement of the muscle fibers average diameter in groups of experimental animals (M + m in micrometers, n=10)

Группы животных / Groups of animals	Сутки эксперимента / The day of the experiment		
	10 сутки / 10 days	21 сутки / 21 days	28 сутки / 28 days
Контрольная / control	16,14±4,22	10,34±2,15	8,34±1,65
1 группа / 1 group	12,1±2,5*	10,1±2,12*	10,1±0,42*
2 группа / 2 group	13,61±2,34*	9,37±1,64*	9,72±0,85*
3 группа / 3 group	14,11±2,14*	9,46±1,45*	11,01±0,55*

Примечание: * - при p<0,05 в сравнении с контрольной группой / Note: * - at p<0.05 in comparison with control group

в мышцах голени задней конечности методом ЛДФ. Полученное среднее значение уровня микроциркуляции было принято за «норму» и составило 535,22±17,53 перфузионных единиц (п.е.). Ошибка этого среднего значения (37,1) не превышает 10% от абсолютного значения, что свидетельствует о достаточном количестве единиц наблюдения в группе.

Результаты оценки уровня микроциркуляции у интактных крыс, в контрольной, опытных группах и группе сравнения с моделированием ишемии задней конечности представлены в таблице 6.

Из таблицы видно, что по сравнению с группой интактных животных уровень микроциркуляции после операции моделирования ишемии конечности в контрольной группе резко и быстро снижался, а затем медленно восстанавливался, однако до 28 суток включительно оставался достоверно ниже нормальных значений.

В первой группе у животных, получавших «Миелопид», уровень микроциркуляции по сравнению с контрольной группой – на 10 сутки возрастал на 48,3%, на 21 сутки - на 50,6%, на 28 сутки – на 105,9%. Во второй группе крыс, получавших препарат «Актовегин», уровень микроциркуляции по сравнению с контрольной был выше на 10 сутки - на 19%; на 21 сутки - на 28%; на 28 сутки - на 45%. В третьей группе крыс, получавших препарат «Солкосерил», уровень микроциркуляции по сравнению с контрольной группой возрастал на 10 сутки – на 7,6%, на 21 сутки – на 25,6%, на 28 сутки – на 20,5%. На всех сроках эксперимента уровень микроциркуляции в группе животных, получавших «Миелопид», был достоверно выше, чем во второй и третьей группах.

На 28/ сутки во второй группе показатели микроциркуляции животных, получавших актовегин, были достоверно выше, чем в третьей группе животных, лечившихся солкосерилом.

Удельная площадь некроза в мышечных волокнах на различных сроках эксперимента представлена в таблице 7.

У крыс, получавших «Миелопид», площадь некроза уменьшилась по сравнению с контрольной группой на 10 сутки на 21,5%, на 21 сутки – на 11,5% и на 28 сутки – на 9,1%. Площадь некроза мышц в ишемизированной конечности в группе животных на фоне лечения актовегином уменьшилась по сравнению с контрольной группой на 10 сутки на 8,3%, на 21 сутки – на 0,7% и на 28 сутки – на 4,1%. После введения солкосерила площадь некроза уменьшалась на 10 сутки в среднем на 14%, на 21 сутки – на 0,4%, на 28 сутки – на 3,1% по сравнению с контрольной группой животных. На всех сроках эксперимента в динамике морфологических изменений в ишемизированных конечностях в группе животных, пролеченных миелопидом, удельная площадь некроза была достоверно ниже, чем в опытных группах.

Динамика среднего диаметра мышечных волокон на разных сроках эксперимента представлена в таблице 8.

Средний диаметр мышечных волокон в интактной группе животных колебался в пределах 10,2±1,3. Из таблицы видно, что диаметр мышечных волокон в ишемизированной конечности в группе животных на фоне лечения миелопидом меньше в сравнении с контрольной группой на 10 сутки на 4,04 мкм, на 21 сутки – на 0,24, а на 28 сутки превосходит показатель в контрольной

ной группе на 1,76. После лечения актовегином диаметр мышечных волокон также был меньше по сравнению с контрольной группой на 10 сутки на 2,5 мкм, на 21 сутки – на 0,95, а на 28 сутки увеличивался на 1,4. После введения солкосерила диаметр мышечных волокон также меньше на 10 сутки в среднем на 2 мкм, на 21 сутки – на 0,9, однако на 28 сутки резко возрастает на 2,7 по сравнению с контрольной группой животных.

Обсуждение

До настоящего времени, все фармакологические препараты, применяющиеся для лечения критической ишемии нижних конечностей (дезагреганты, ангиопротекторы, антигипоксанты, эндотелиопротекторы) в той или иной мере улучшали различными путями микроциркуляцию в ишемизированных мышцах, но не способствовали развитию неоваскулогенеза [3,4]. Новым направлением фармакотерапии при этом заболевании является стимуляция неоваскулогенеза в ишемизированных тканях. Проведенные исследования показали преимущества препарата миелопид из клеток костного мозга над препаратами актовегин и солкосерил из крови телят. Миелопид оказывает выраженное позитивное влияние на микроциркуляцию в ишемизированной конечности которая превосходит на 10-е сутки эксперимента актовегин и солкосерил в 1,24 раза, на 21-е сутки в 1,18, а на 28-е сутки актовегин в 1,42, а солкосерил в 1,71. Достоверных различий влияния на микроциркуляцию между актовегином и солкосерилом на 10-е и 21-е сутки не выявлено, а на 28-е сутки актовегин достоверно в 1,2 раза превосходил солкосерил.

Уровень артериовенулярного шунтирования на 10-е сутки в первой группе был выше, чем во второй на 4,8% и на 1,7%, чем в третьей, на 21 сутки же ниже соответственно на 8,1% и на 17,3%, на 28 сутки ниже на 2,8%, чем в третьей и на 0,4% выше, чем во второй. Солкосерил по уровню артериовенулярного шунтирования был превосходил актовегин на 10-е сутки на 3,1%, на 21-е сутки на 9,2%, а на 28-е сутки на 3,2%.

Аналогичным образом изучаемые препараты влияли на течение ишемических повреждений мышечной ткани. Так на 10-е сутки площадь некроза мышечных волокон животных, пролеченных препаратом миелопид была достоверно меньше на 13,2%, чем в группе животных, которым вводили препарат актовегин и на 7,5% в третьей группе животных, лечившихся препаратом солкосерилом, на 21-е сутки – соответственно меньше на 10,8% и на 11,1%, а на 28-е сутки - на 5% и на 6%. При сравнении второй и третьей групп на 28-е

Список литературы.

1. Андожская Ю.С. Возможности эффективного применения трентала в сочетании с внутрисосудистым облучением крови у больных с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей. Региональное кровообращение и микроциркуляция. 2014; 1: 68-78.

сутки площадь некроза мышц во второй группе была на 1% меньше, чем в третьей.

Плотность капиллярной сети на 10-е сутки в первой группе превосходила в 1,25 плотность во второй группе и в 1,34 в третьей, на 21-е сутки соответственно в 1,2 и 1,4, на 28-е сутки – в 1,46 и 1,47 раза. Актовегин по плотности капиллярной сети превосходил солкосерил на 10-е сутки в 1,07, а на 21-е сутки в 1,16 раза.

Проведенные исследования показали возможность применения препарата «Миелопид» в лечении критической ишемии нижних конечностей. В основе фармакологического действия этого препарата лежат естественные иммуномодуляторы костного мозга – миелопептиды. Они действуют физиологично и эффективны в крайне низких концентрациях, а также не обладают видовой специфичностью. На их основе разработан и внедрен в клиническую практику новый иммуномодулятор – «Миелопид», который имеет в своём составе 6 миелопептидов. «Миелопид» обладает широким спектром действия. Полифункциональность пептидов костномозгового происхождения способствует стимуляции неоангиогенеза, увеличивает плотность капиллярной сети, уменьшает артериовенулярное шунтирование при ишемии конечности. В свою очередь эти эффекты уменьшают площадь некроза мышц и ускоряют их регенерацию. Поэтому можно рекомендовать включение препарата «Миелопид» в схему консервативного лечения больных с критической ишемией нижних конечностей на почве хронических облитерирующих заболеваний артерий.

В отличие от миелопида антигипоксанты (актовегин и солкосерил) меньше влияют на новообразование капилляров в ишемизированных мышцах. Восстановление микроциркуляции достигается в меньшей мере за счет стимуляции неоангиогенеза, а в большей - путем активации коллатерального кровотока в ишемизированной конечности, что увеличивает артериальный приток крови из проксимальных отделов конечности в дистальные [5,6].

Выводы

1. Препарат «Миелопид» способствует развитию неоваскулогенеза, улучшает микроциркуляцию, уменьшает артериовенулярное шунтирование, ускоряет регенерацию поврежденной мышечной ткани при критической ишемии конечности.
2. Целесообразно вводить в схему консервативного лечения больных хроническими заболеваниями артерий нижних конечностей при развитии критической ишемии препарат «Миелопид».

References

1. Andozhskaya Y. S. Possibilities of effective use of trental in combination with intravascular irradiation of blood in patients with obliterating atherosclerosis of lower limb arteries. Regionarnoe krovoobraschenie i microcirculacia. 2014; 1: 68-78 (in Russ.).

2. Бархатов И.В. Применение лазерной доплеровской флуометрии для оценки нарушений микроциркуляции крови человека. Казанский медицинский журнал. 2014; 95: 1: 63-69.
3. Каменская О.В., Климова А.С., Логинова И.Ю., Левичева Е.Н., Чернявский А.М. Функциональное состояние микроциркуляторного кровотока периферических тканей у пациентов с системным атеросклерозом в сочетании с сахарным диабетом 2 типа. Региональное кровообращение и микроциркуляция. 2012; 2: 16-21.
4. Каменская О.В., Коренцова А.С., Карпенко А.А., Караськов А.М., Зейдлиц Г.А. Периферическая микроциркуляция у пациентов с атеросклерозом артерий нижних конечностей на фоне метаболического синдрома. Ангиология и сосудистая хирургия. 2014; 20: 4: 20-26.
5. Кузнецов М.Р., Кошкин В.М., Каралкин А.В. Ранние реокклюзии у больных облитерирующим атеросклерозом. Ярославль: Ньюсн. Медицина. 2007; 176.
6. Кузнецов М.Р., Косых И.В., Толстихин В.Ю., Кузнецова В.Ф., Магницкий Л.А. Сулодексид в консервативном лечении заболеваний периферических артерий. Ангиология и сосудистая хирургия. 2015; 21: 4: 45-50.
7. Майстренко Д.Н., Жеребцов Ф.К., Осовских В.В., Яковлева Е.К., Красильникова Л.А., Генералов М.И., Кротова О.А., Аль-Деймерс.Ю., Гранов Д.А., Шнейдер Ю.А., Гринев К.М., Руткин И.О. Современные диагностические технологии в определении тактики лечения больных с облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей. Вестник хирургии. 2009; 2: 41-46.
8. Морозов К.М., Гирина М.Б., Самуилина Д.Ш. Некоторые аспекты патогенеза и расстройства микроциркуляции при критической ишемии. Региональное кровообращение и микроциркуляция. 2007; 1: 107-110.
9. Национальные рекомендации по ведению пациентов с сосудистой артериальной патологией (Российский согласительный документ). Часть 1. Периферические артерии. – М.: Изд-во НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН. 2010; 176.
10. Седов В.М., Вавилов В.Н. Зарицкий А.Ю. Эффективность клеточной терапии у больных с критической ишемией конечностей. Региональное кровообращение и микроциркуляция. 2011; 2: 45-52.
11. Суковатых Б.С., Орлова А.Ю., Артюшкова Е.Б., Гордов М.Ю., Веденев К.Ю. Эффективность мононуклеарной фракции аутологичного костного мозга в лечении экспериментальной клинической ишемии конечности. Новости хирургии. 2015; 23: 4: 365-371.
12. Учкин И.Г., Зудин А.М., Багдасарян А.Г., Федорович А.А. Влияние фармакотерапии хронических облитерирующих заболеваний артерий и нижних конечностей на состояние микроциркуляторного русла. Ангиология и сосудистая хирургия. 2014; 20: 2: 27-35.
13. Buchmayer F. Actovegin: a biological drug for more than 5 decades. Wein Med Wochenschr. 2011; 161: 3-4: 80-88.
14. Elmlinger M.W., Kriebel M., Ziegler D. Neuroprotective and Anti-Oxidative Effects of the Hemodialysate Actovegin on Primary Rat Neurons in Vitro. Neuromolecular Med. 2011; 13: 4: 266—274.
15. McDermott M.M. Functional impairment in peripheral artery disease and how to improve it in 2013. Curr. Car-diol. Rep. 2013; 15: 4: 347-350.
16. Walter D. H. Intraarterial administration of bone marrow mononuclear cells in patients with critical limb ischemia: a randomized-start, placebo-controlled pilot trial (PROVASA) Circ Cardiovasc Interv. 2011; 4: 1: 26–37.
2. Barkhatov I. V. Application of laser Doppler fluometry for evaluation of disorders of microcirculation. Kazan medical journal. 2014; 95: 1: 63-69 (in Russ.).
3. Kamenskaya O. V., Bladed, A. S., Loginova I. Yu., Levicheva E. N., Cherniavsky A. M. The Functional state of the microcirculatory blood flow of peripheral tissues in patients with systemic atherosclerosis in combination with diabetes mellitus type 2. Regionarnoe krovoobrasnenie i microcirculacia. 2012; 2: 16-21 (in Russ.).
4. Kamenskaya O. V., Korentsova A. S., Karpenko A. A., Karaskov A. M., Zeidlitz G.A. Peripheral microcirculation in patients with atherosclerosis of lower limb arteries on the background of metabolic syndrome. Angiology and vascular surgery. 2014; 20: 4: 20-26 (in Russ.).
5. Kuznetsov M. R., Koshkin V. M., Karalkin A.V. Early reocclusions in patients with obliterating atherosclerosis.- Yaroslavl.: Nwasn. Medicine. 2007; 176 (in Russ.).
6. Kuznetsov M. R., I. V. Kosykh, Tolstikhin V. Yu., Kuznetsova V. F., Magnitsky, L. A. Sulodexide in the treatment of peripheral arterial disease. Angiology and vascular surgery. 2015; 21: 4: 45-50 (in Russ.).
7. Maystrenko D. N., Stallions F. C., V. V. Osovski, Yakovleva. To., Krasilnikova L. A., Generalov M. I., Krotova O. A., Al-Gamers.Yu., Granov D. A., Schneider Yu. a., Grinev K. M., Rutkin I. O. Modern diagnostic technology in determining tactics of treatment of patients with obliterating atherosclerosis of vessels of lower extremities. Vestnik khirurgii. 2009; 2: 41-46 (in Russ.).
8. Morozov K. M., Girina M. B., Samuelina D. S. Some aspects of the pathogenesis of disorders of the microcirculation in critical ischemia. Regionarnoe krovoobrasnenie i microcirculacia. 2007; 1: 107-110 (in Russ.).
9. National guidelines for the management of patients with vascular arterial pathology (Russian consensus document). Part 1. Peripheral artery. – М.: publishing house of the Bakulev them. A. N. After Bakulev RAMS. 2010; 176 (in Russ.).
10. Sedov V. M., Vavilov V. N., Zaritskaya A. J. The efficiency of cell therapy in patients with critical limb ischemia. Regionarnoe krovoobrasnenie i microcirculacia. 2001; 2: 45-52 (in Russ.).
11. Sukovatykh B. S., Orlova A. Yu., Artyushkova E. B., Gordov, M. Y., Videneev K.Y. The efficiency of mononuclear fraction of autologous bone marrow in the clinical treatment of experimental ischemia of extremities. Novosti khirurgii. 2015; 23: 4: 365-371 (in Russ.).
12. Uchkin I.G., Zudin A. M., Baghdasaryan, A. G., Fedorovich A. A. Effect of drug therapy for chronic occlusive arterial disease of the lower extremities and on the state of the microvasculature. Angiology and vascular surgery. 2014; 20: 2: 27-35 (in Russ.).
13. Buchmayer F. Actovegin: a biological drug for more than 5 decades. Wein Med Wochenschr. 2011; 161: 3-4: 80-88.
14. Elmlinger M.W., Kriebel M., Ziegler D. Neuroprotective and Anti-Oxidative Effects of the Hemodialysate Actovegin on Primary Rat Neurons in Vitro. Neuromolecular Med. 2011; 13: 4: 266—274.
15. McDermott M.M. Functional impairment in peripheral artery disease and how to improve it in 2013. Curr. Car-diol. Rep. 2013; 15: 4: 347-350.
16. Walter D. H. Intraarterial administration of bone marrow mononuclear cells in patients with critical limb ischemia: a randomized-start, placebo-controlled pilot trial (PROVASA) Circ Cardiovasc Interv. 2011; 4: 1: 26–37.

Received 10.06.2016

Поступила 10.06.2016

Информация об авторах

1. Суковатых Б.С. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей хирургии Курского государственного медицинского университета; e-mail: sukovatykhBS@kursksmu.net
2. Артюшкова Е.Б. – д.б.н., директор научно-исследовательского института экологической медицины Курского государственного медицинского университета; e-mail: artushkovaEB@kursksmu.net
3. Орлова А.Ю. – к.м.н., асс. кафедры общей хирургии Курского государственного медицинского университета; e-mail: orlovaAU@kursksmu.net
4. Гордов М.Ю. – соискатель кафедры общей хирургии Курского государственного медицинского университета; e-mail: maks_gordov@mail.ru
5. Александрова К.С. – сосудистый хирург Городской клинической больницы №2 г. Курска, obhirurgiya@gmail.com

Information about the authors

1. Sukovatykh B., MD, Prof., the head of the department of General Surgery, Kursk State Medical University, e-mail: sukovatykhBS@kursksmu.net.
2. Artyushkova E., MD, Prof., the head of the department of General Pathology, Orel State Medical Institute, e-mail: artushkovaEB@kursksmu.net.
3. Orlova A., Assistant of the Department of General Surgery, Kursk State Medical University, e-mail: orlovaAU@kursksmu.net.
4. Gordov M., Applicant of the Department of General Surgery, Kursk State Medical University, e-mail: maks_gordov@mail.ru.
5. Alexandrova K., vascular reconstructive surgery hospital №2, Kursk, e-mail: obhirurgiya@gmail.com.