



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ МЯГКИХ ТКАНЕЙ СИЛДЕНАФИЛОМ

**И.М. КОЛЕСНИК¹, М.В. ПОКРОВСКИЙ²
В.А. ЛАЗАРЕНКО³, Т.Г. ПОКРОВСКАЯ²
С.В. ХОДОВ³, Д.А. ЕФРЕМЕНКОВА²
К.С. ТРОФИМОВ², М.М. ПАПУАШВИЛИ²**

¹⁾ Курская горбольница № 2

²⁾ Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет

³⁾ Курский государственный
медицинский университет

e-mail: kolesnik_inga@mail.ru

Проведено экспериментальное исследование возможности применения силденафила для профилактики и коррекции последствий локальной ишемии мягких тканей у крыс, в сравнении с эффектами дистантного ишемического прекондиционирования.

Ключевые слова: прекондиционирование, силденафил, цитопротекция, АТФ-зависимые калиевые каналы, неангиогенез.

Вот уже более 20 лет интерес многих ученых прикован к изучению феномена ишемического прекондиционирования. Открытие механизмов процесса показало, что он развивается через триггеры и медиаторы, которые можно имитировать фармакологическими агентами и таким путем стимулировать полезные эффекты ишемического прекондиционирования без эпизодов ишемии [1, 2, 3].

Силденафил – высокоселективный ингибитор фосфодиэстеразы-5, широко известен как препарат, эффективно влияющий на эректильную дисфункцию. Исследования последних лет выявили, что препараты данной группы обладают стимулирующим влиянием на метаболический путь оксида азота, оказывая выраженный эндотелиопротективный эффект, способны активировать протеинкиназу G и АТФ-зависимые калиевые каналы [4, 5]. Всё это предполагает изучать возможность применения препарата для фармакологического прекондиционирования [1]. Наиболее изучены эффекты прекондиционирования на сердце и головной мозг. Однако предполагаемый механизм реализации феномена указывает на возможность его универсального использования в хирургии для защиты органов и тканей в условиях нарушения кровообращения.

Цель: установить влияние дистантного ишемического прекондиционирования на выживаемость изолированного кожного лоскута на питающей ножке, состояние микроциркуляции в ишемизированной скелетной мышце у крыс и возможность инициации процесса прекондиционирования силденафилом на данных моделях.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на половозрелых самках крыс линии Wistar массой 220-250 г. Для исследования взяты крысы без внешних признаков заболевания, прошедшие карантинный режим вивария НИУ «БелГУ». В ходе эксперимента животные содержались в условиях стандартной экспериментальной биологически чистой комнаты, температура воздуха составляла 22-24°C, освещение – 12 ч/12 ч светлый/темный цикл, все крысы получали гранулированный корм и фильтрованную водопроводную воду.

Все исследования проводили в одно и то же время суток – во второй половине дня с соблюдением принципов, изложенных в «Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986). Наркотизацию осуществляли внутрибрюшинным введением водного раствора хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг веса; выведение животных из эксперимента – его передозировкой. Животных распределяли по группам путем стратифицированной рандомизации со стратификацией по массе тела, а также по проводимым операциям и манипуляциям. Каждая группа формировалась не менее чем из десяти крыс.

Влияние дистантного ишемического прекондиционирования и силденафила на выживаемость ишемизированных тканей исследовали на модели изолированного кожного лоскута на питающей ножке. Создание модели производили на вторые сутки эксперимента. Отступив 1 см от мечевидного отростка по белой линии живота, предварительно наметив по трафарету размер, выкраивали кожный лоскут: 1 см – основание, 4 см – длина, (сохранив

питающий сосуд) изолировали в полиэтиленовый пакет, края кожи ушивали непрерывным швом [2]. В дальнейшем рассчитывали показатель выживаемости (отношение площади выжившей ткани к изначальной площади лоскута $\times 100\%$).

Влияние дистантного ишемического прекондиционирования и силденафила на состояние микроциркуляторного русла в ишемизированной скелетной мышце исследовали на модели ишемии мышц голени, которую воспроизводили оперативным удалением бедренной, подколенной, передней и задней большеберцовых артерий правой задней конечности [3]. Уровень микроциркуляции в мышцах голени определяли при помощи оборудования производства компании Biopac systems: полиграфа MP100 с модулем лазерной доплеровской флоуметрии LDF100C и инвазивного игольчатого датчика TSD144. Регистрация и обработка результатов лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) производилась с помощью программы AcqKnowledge версии 3.8.1, значения микроциркуляции выражались в перфузионных единицах (ПЕ).

Дистантное ишемическое прекондиционирование (ДИП) проводили 10-минутным пережатием левой бедренной артерии, с последующей 30-минутной реперфузией непосредственно перед моделированием патологии, на третьи и пятые сутки эксперимента. Пережатие бедренной артерии осуществляли наложением жгута на верхнюю треть левого бедра [2, 3]. Контролем правильности наложения жгута служило отсутствие пульса на артериях голени.

Силденафил вводили внутривенно в дозе 0,22 мг/кг за 30 мин. до моделирования патологии на третьи и пятые сутки эксперимента.

Результаты и их обсуждение. При моделировании кожного лоскута на питающей ножке выживает часть его длины, превосходящая ширину основания не более чем в 2 раза. Мы заведомо моделировали лоскут, длина которого в 4 раза превосходила ширину основания.

На пятые сутки в контрольной группе площадь выжившей ткани составила $1,59 \pm 0,03$ см², показатель выживаемости – 40% от изначальной площади (4 см²). Все изучаемые методы коррекции способствовали достоверному увеличению площади выжившей ткани по сравнению с контрольной группой. Проведение дистантного ишемического прекондиционирования – до значения $2,36 \pm 0,09$ см² ($p=0,00001$); введение силденафила – до $3,01 \pm 0,05$ см² ($p<0,05$).

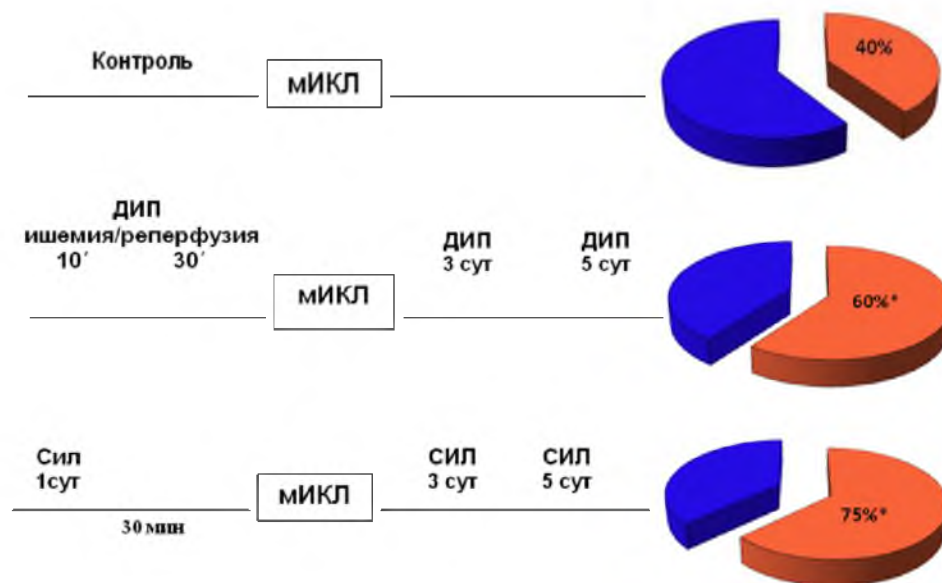


Рис. 1. Эксперимент по изучению влияния дистантного ишемического прекондиционирования и силденафила на выживаемость изолированного кожного лоскута на питающей ножке.

Примечание: ДИП – дистантное ишемическое прекондиционирование, Сил – силденафил внутривенно в дозе 0,22 мг/кг на первые, третьи и пятые сутки эксперимента; МИКЛ – моделирование изолированного кожного лоскута на питающей ножке (на 2-е сутки эксперимента); показатель выживаемости кожного лоскута оценивали на пятые сутки после его моделирования (6-е сутки эксперимента), обозначен процент выжившей ткани.

Таким образом, дистантное ишемическое прекондиционирование способствует увеличению выживаемости изолированного кожного лоскута на питающей ножке. Силденафил в этой модели оказывает аналогичное действие (рис. 1).

Полученные результаты не опровергли наших предположений о способности силденафила инициировать процесс прекондиционирования и привели к необходимости исследования других эффектов.

Преко́ндиционирование индуцирует экспрессию генных программ, вовлечённых не только в цитопротекцию, но и в восстановительные механизмы. В связи с этим в дальнейшем исследовании нами изучено влияние силденафила на состояние микроциркуляторного русла в ишемизированной скелетной мышце.

Среднее значение уровня микроциркуляции в интактной мышце голени крыс составляет 526 ± 34 ПЕ. После моделирования ишемии мышц голени уровень микроциркуляции в них резко снижается, восстановление его начинается лишь после 14 суток, однако до 90 суток остается достоверно ниже значения, зарегистрированного в группе интактных животных (рис. 2).

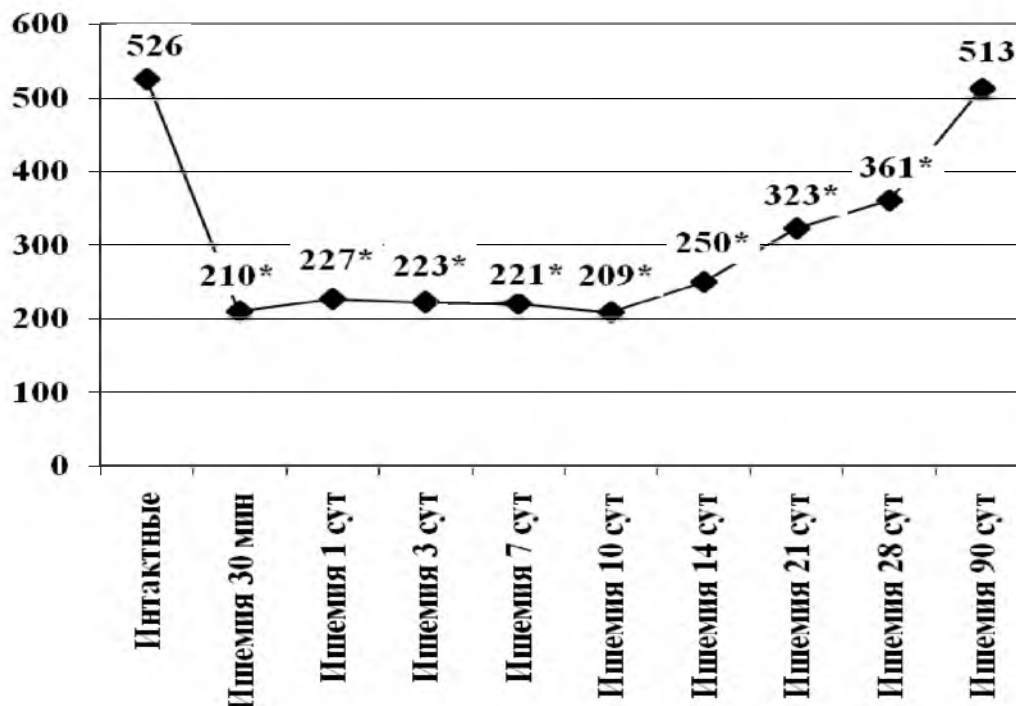


Рис. 2. Динамика уровня микроциркуляции на разных сроках после моделирования ишемии мышц голени крыс контрольной серии в перфузионных единицах.

Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении с показателями в группе интактных животных.

Учитывая результаты, полученные при анализе возможности компенсаторного восстановления регионарного кровообращения в применяемой нами модели, а также литературные данные, как наиболее информативные расценены 28-е сутки, 21-е рассматривались как промежуточные.

В группе ложнооперированных животных среднее значение уровня микроциркуляции в мышцах правой голени составляет на 21-е сутки 527 ± 10 ПЕ, на 28-е сутки – 532 ± 33 ПЕ. На всех сроках результаты лазерной доплеровской флоуметрии не имеют достоверных отличий от показателей в группе интактных животных 526 ± 34 ПЕ ($p = 0,19$; $p = 0,43$ соответственно).

При моделировании ишемии мышц голени уровень микроциркуляции на 21-е сутки 322 ± 7 ПЕ, на 28-е 361 ± 8 ПЕ, что достоверно ниже значения в интактной мышце ($p < 0,05$).

При оценке уровня микроциркуляции в опытных группах было выявлено, что проведение дистантного ишемического преко́ндиционирования и введение силденафила способствуют эффективному повышению уровня регионарного кровотока в ишемизированной мышце голени крыс. Показатели ЛДФ в этих группах достоверно выше таковых в контрольной группе на соответствующем сроке (ДИП: 21-е сутки – 450 ± 8 ПЕ, $p < 0,05$, 28-е сутки – 702 ± 23 ПЕ, $p < 0,05$; Сил: 21-е сутки – 435 ± 12 ПЕ, $p = 0,00065$, 28-е сутки – 806 ± 42 ПЕ, $p < 0,05$). Уровень микроциркуляции во всех опытных группах на 21-е сутки приближается к показателям в группе интактных животных, а на 28-е сутки значительно выше.

То есть можно говорить о том, что компенсаторное восстановление регионарного кровообращения в ишемизированных мышцах животных опытных групп произошло до 28-х суток эксперимента. В контрольной серии восстановление исходного значения наблюдается значительно позже (в срок до 3 месяцев).



Выводы. В данном экспериментальном исследовании нами показано, что дистантное ишемическое прекондиционирование может рассматриваться как доступный универсальный метод профилактики и коррекции ишемического повреждения мягких тканей в хирургии, а также обоснована возможность применения силденафила в дозе 0,22 мг/кг для фармакологического прекондиционирования. Дистантное ишемическое прекондиционирование и силденафил оказывают выраженный цитопротекторный эффект на модели изолированного кожного лоскута на питающей ножке и способствуют эффективному улучшению уровня микроциркуляции в ишемизированной мышце голени крыс.

Литература

1. Бокерия, Л.А. Природа и клиническое значение «новых ишемических синдромов» / Л.А. Бокерия, И.Н. Чичерин. – М. : НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2007. – 302 с.
2. Влияние дистантного прекондиционирования на выживаемость ишемизированных тканей / И.М. Колесник, М.В. Покровский, В.А. Лазаренко и др. // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2010. – Т. 3, № 3. – С. 214-217.
3. Колесник, И.М. Дистантное и фармакологическое прекондиционирование. Новые возможности применения в хирургии. LAP LAMBERT Academic Publishing, Saarbrücken, 2012. – 123 с.
4. Покровская, Т.Г. Эндотелиопротективные эффекты силденафила и тадалафила при экспериментальном моделировании L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота / Т.Г. Покровская, Т.Н. Чулюкова, М.В. Покровский // Кубанский научный медицинский вестник. – 2009. – № 4. – С. 136-139.
5. Эндотелиопротективные дозозависимые эффекты силденафила в комбинациях с L-аргинином при экспериментальном моделировании L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота / Т.Г. Покровская, Т.Н. Чулюкова, М.В. Покровский [и др.] // Биомедицина. – 2010. – Т. 1, № 5. – С. 118-120.

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF POSSIBILITY OF PHARMACOLOGICAL PRECONDITIONING OF SOFT TISSUES WITH SILDENAFIL

I.M. KOLESNIK¹, M.V. POKROVSKY²
V.A. LASARENKO³, T.G. POKROVSKAYA¹
S.V. HODOV³, D.A. EFREMKOVA²
K.S. TROFIMOV², M.M. PAPUASHVILI²

¹⁾ *Kursk hospital №2*

²⁾ *Belgorod state national research university*

³⁾ *Kursk state medical university*

e-mail: kolesnik_inga@mail.ru

An experimental study of the possibility of sildenafil using to prevent and correct the effects of local ischemia of soft tissues in rats in comparison with the effects of distant ischemic preconditioning was led.

Keywords: preconditioning, sildenafil, cytoprotection, ATP-dependent potassium channels, neoangiogenesis.