

ТРОФИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СКЕЛЕТНОЙ МУСКУЛАТУРЫ КРЫС ПОСЛЕ ФАРМАКОТЕРАПИИ СИЛДЕНАФИЛОМ И ЦЕРЕБРОЛИЗИНОМ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ИШЕМИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

А. С. Белоус^{1,2}, Ю. К. Бирюкова¹, М. А. Затолокина², К. И. Лавриненко², Е. А. Лойко²✉, Г. С. Маль², А. Б. Шевелев¹, Е. В. Трубникова¹

¹ Научно-исследовательская лаборатория «Генетика»,
Курский государственный университет, Курск

² Курский государственный медицинский университет, Курск

Ишемия нижних конечностей — заболевание, в большом числе случаев не поддающееся хирургическому лечению. Нами была исследована эффективность комбинированной фармакотерапии силденафилом (Viagra, Pfizer, Франция) и «Церебролизин» (EVER Neuro Pharma, Австрия). Ишемию мышц голени моделировали на крысах линии Wistar. Сформировали 6 групп животных по 20 особей: интактные; ложнопериорированные; с ишемией и без лечения (контрольная группа); с ишемией и монотерапией силденафилом (перорально 2,2 мг/кг в течение 28 дней); с ишемией и монотерапией «Церебролизин» (внутримышечно 0,005 мл в течение 20 дней); с ишемией и комбинированной терапией (силденафил — перорально 2,2 мг/кг в течение 7 дней, «Церебролизин» — внутримышечно 0,005 мл в течение 10 дней). Измеряли уровень микроциркуляции крови в мышцах голени на 21-е и 28-е сутки. В эти же сроки выводили из эксперимента путем передозировки наркоза по 10 животных и готовили гистологические препараты мышц голени. Уровень регионарного кровотока достоверно ($p < 0,05$) повышался в трех опытных группах по сравнению с контрольной, однако при этом комбинированная терапия была значительно эффективнее монотерапии независимо от препарата. Макроскопически мышцы животных опытных групп не отличались от мышц интактных животных, микроскопически — наблюдалось отсутствие некротических участков, характерных для ишемизированных мышц крыс, не получавших лечения, а также новообразование сосудов.

Ключевые слова: ишемия нижних конечностей, коррекция ишемии, силденафил, церебролизин, фармакотерапия, комбинированная терапия, ФДЭ-5

Благодарности: профессору Виктору Лазаренко из Курского государственного медицинского университета и профессору Александру Худину из Курского государственного университета за возможность выполнения эксперимента на базе научно-исследовательских лабораторий их университетов.

✉ **Для корреспонденции:** Лойко Екатерина Анатольевна
305025, г. Курск, 19-ый Степной переулок, д. 14; katryn.moon@yandex.ru

Статья поступила: 20.08.2016 Статья принята к печати: 27.08.2016

TROPIC CHANGES IN THE SKELETAL MUSCLES OF RATS AFTER THERAPY WITH SILDENAFIL AND CEREBROLYSIN IN THE LOWER LIMB ISCHEMIA MODEL

Belous AS^{1,2}, Biryukova YuK¹, Zatolokina MA², Lavrinenko KI², Loyko EA²✉, Mal GS², Shevelev AB¹, Trubnikova EV¹

¹ Research Laboratory “Genetics”,
Kursk State University, Kursk

² Kursk State Medical University, Kursk

For many patients with lower limb ischemia, surgical treatment is not beneficial. We have studied the efficacy of combination therapy with sildenafil (Viagra) by Pfizer, France, and cerebrolysin (Ever Neuro Pharma, Austria) for lower limb ischemia in the Wistar rat model. The animals were divided into 6 groups (20 rats each): intact animals; sham-operated animals; rats with ischemia and no treatment administered (controls); rats with ischemia who received a 28-day monotherapy with sildenafil (2.2 mg/kg orally); rats with ischemia who received a 28-day monotherapy with 0.005 ml cerebrolysin; rats with ischemia who received a combination therapy with 2.2 mg/kg sildenafil for 7 days and 0.005 ml i. m. cerebrolysin for 10 days. Microcirculation in shin muscles was evaluated on days 21 and 28 of the experiment. On the same days, rats were overdosed with anesthetics and sacrificed in tens. Then, histological sections of shin muscles were prepared. Regional blood flow was significantly higher ($p < 0.05$) in three experimental groups, compared to the controls; however, the combination therapy was far more effective than monotherapy, regardless of the medication used. Macroscopically, the muscles of the animals included into the experimental groups did not differ from the muscles of the intact animals; microscopically, no necrotic lesions were observed in the experimental groups that were typical for the ischemized rats who had received no treatment. Neovascularization was also observed in the experimental groups.

Keywords: lower limb ischemia, ischemia treatment, sildenafil, cerebrolysin, pharmacotherapy, combination therapy

Acknowledgements: authors thank professor Victor Lazarenko (Kursk State Medical University) and professor Alexandr Khudin (Kursk State University) for providing research facilities for the experiment.

✉ **Correspondence should be addressed:** Ekaterina Loyko
19 Stepnoy pereulok, d. 14, Kursk, Russia, 305025; katryn.moon@yandex.ru

Received: 20.08.2016 Accepted: 27.08.2016

Ишемия нижних конечностей — хроническое окклюзирующее поражение ног, причинами которого являются атеросклероз, облитерирующий эндартериит и диабет [1, 2]. Разработаны хирургические методы лечения заболелания: операции через разрез кожи (шунтирование, эндартерэктомия) и различные малоинвазивные техники (рентгенхирургическая ангиопластика, стентирование), — которые позволяют восстановить проходимость артерии, если она закупорена полностью, или улучшить кровоток при ее неполной закупорке. Однако оперативное лечение показано лишь половине пациентов [3–6].

Решением проблемы служит медикаментозная терапия. Наибольшую эффективность при лечении критической ишемии ног показал препарат «Вазапостан» (UCB Pharma, Германия), действующим веществом которого является алпростадил — синтетический аналог естественного простагландина E1. Но действие препарата направлено не на расширение сосудов и, как следствие, увеличение кровотока в периферических сосудах, а на изменение биохимического состава крови при длительной циркуляции «Вазапостана» в крови [7].

Существует также ряд препаратов, воздействующих на липидный обмен, состояние периферического сосудистого русла, реологические свойства крови, но они не устраняют ключевой фактор развития критической ишемии ног — ангиоспазм. Надежды возлагаются на класс препаратов, которые облегчают дилатацию сосудов за счет действия эндогенного оксида азота (NO), выделяемого нервными окончаниями и эндотелиальными клетками и усиливающего синтез внутриклеточного алармона — циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ). Такой же эффект дает применение силденафила — специфического ингибитора фосфодиэстеразы 5-го класса (ФДЭ-5), фермента, гидролизующего цГМФ [1, 2, 8–10].

Все больший интерес вызывает «Церебролизин» (EVER Neuro Pharma, Австрия) — препарат для лечения инсульта, болезни Альцгеймера и травматических повреждений головного мозга. Было показано, что он уменьшает ферментативную активность супероксиддисмутазы и каталазы — двух основных ферментов, активирующихся при окислительном (оксидативном) стрессе. Однако делает он это не прямо, а за счет снижения уровня образования супероксид-аниона и перекиси водорода, являющихся субстратами указанных ферментов. Кроме того, была продемонстрирована способность «Церебролизина» снижать уровень образования гидроксильных радикалов [11–13]. Также в исследованиях, выполненных *in vitro* и *in vivo*, было показано, что препарат уменьшает активность кальпаина примерно на 60 %, и значительно меньшее число клеток гибнет от апоптоза [14].

Целью нашей работы являлась оценка эффективности фармакотерапии силденафилом (Viagra, Pfizer, Франция) и «Церебролизином» ишемии нижних конечностей, смоделированной у крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводили на крысах линии Wistar в возрасте 4 мес. и массой 230–260 г, прошедших карантинирование в условиях вивария НИИ экологической медицины Курского государственного медицинского университета. Для исследования были взяты здоровые животные. Их содержали в стандартной экспериментальной биологически чистой комнате с температурой воздуха 22–24 °C

и при циклическом освещении (по 12 ч света и темноты). Все крысы получали гранулированный корм и фильтрованную водопроводную воду. Манипуляции проводили в одно и то же время во второй половине дня. Наркотизацию животных осуществляли внутривенным введением водного раствора хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг веса, выведение из эксперимента — его передозировкой. В исследовании соблюдали принципы, изложенные в «Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986).

Животных распределили по группам путем стратифицированной рандомизации со стратификацией по массе тела, а также по проводимым операциям и манипуляциям. Были сформированы следующие группы:

- 1) интактные животные (n = 20),
- 2) ложноперирированные животные (n = 20);
- 3) животные с ишемией мышц голени, не получавшие лечения (контрольная группа, n = 20),
- 4) животные с ишемией мышц голени, получавшие силденафил (n = 20),
- 5) животные с ишемией мышц голени, получавшие «Церебролизин» (n = 20),
- 6) животные с ишемией мышц голени, получавшие силденафил и «Церебролизин» (n = 20).

Группу ложноперирированных животных сформировали из крыс, которым под наркозом разрезали кожу вдоль бедра по внутренней поверхности, выделяли сосудисто-нервный пучок бедра и ушивали рану непрерывным швом.

Ишемию мышц голени моделировали под наркозом, фиксируя животное в положении «на спине». Шерсть на внутренней поверхности бедра тщательно выстригали, кожу обрабатывали 70 % раствором спирта. Разрез осуществляли вдоль бедра по внутренней поверхности. Выделяли элементы сосудисто-нервного пучка бедра. Артерию отделяли от вены и нерва, лигатуру накладывали у ее начала до отхождения *arteria saphena* (под паховой связкой), которая является аналогом глубокой бедренной артерии человека [15]. Перевязывали и пересекали *a. saphena*. Выделяли подколенную артерию и начальные отделы артерий голени (передняя и задняя большеберцовые артерии), которые пересекали, не перевязывая. Затем пересекали бедренную артерию на 3 мм ниже наложенной ранее лигатуры. Участок магистрального сосуда, включающий бедренную и подколенную артерии и начальные отделы передней и задней большеберцовых артерий, удаляли. Ретроградного кровотока из артерий голени не наблюдалось. Рану ушивали непрерывным швом [16].

Животным 4 и 6-й групп перорально вводили силденафила цитрат в дозе 2,2 мг/кг в течение 28 и 7 дней соответственно. Животным 5 и 6-й групп инъецировали внутримышечно церебролизин в дозе 0,005 мл в течение 20 и 10 дней соответственно [17]. Уровень микроциркуляции крови в мышцах голени определяли на 21 и 28-е сутки при помощи оборудования производства компании Biopac Systems (США): полиграфа MP100 с модулем лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) LDF100C и инвазивного игольчатого датчика TSD144. Регистрацию и обработку результатов ЛДФ производили с помощью программы AcqKnowledge 3.8.1 (Biopac Systems), значения микроциркуляции выражали в перфузионных единицах (ПЕ). Запись кривой уровня микроциркуляции осуществляли в пяти точках (середина длины мышцы, точки на 3–5 мм выше и ниже, латеральное и медиальное первой точки) в течение 30 с в каждой точке.

Животных выводили из эксперимента на 21 и 28-е сутки (по 10 крыс в каждый срок) путем передозировки наркотика. В каждом случае производили аутопсию с дальнейшей подготовкой препарата мышц голени. Гистологический материал фиксировали в 10 % формалине в течение 7 сут. Парафиновые блоки и микропрепараты изготавливали по стандартной методике. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Ван Гизону, а затем изучали с помощью микроскопа Levenhuk 320 (Levenhuk, США). Для морфометрической оценки фотографировали препараты с использованием цифровой насадки Levenhuk C310 и программы ScopeTek ScopePhoto 3.1.268 (Hangzhou Scopetek Opto-Electronic Co., Китай). На микрофотографиях при увеличении $4 \times 20 \times 6$ изучали количественные изменения кровеносных сосудов в поле зрения.

Учитывая литературные данные о возможности компенсаторного восстановления регионарного кровообращения в выбранной нами модели, наиболее информативными считали данные, полученные на 28-е сутки. Данные, полученные на 21-е сутки, рассматривали как промежуточные [18].

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 ИССЛЕДОВАНИЯ

Среднее значение уровня микроциркуляции в мышцах голени интактных животных на 21-е сутки составило 527 ± 13 ПЕ. Гистологическое исследование показало, что миоциты образовывали плотные пучки, в толще которых проходили полнокровные венулы и артериолы, содержавшие единичные эритроциты. Просветы сосудов были широкими, эндотелиальные клетки — без патологических изменений (рисунок, А).

В группе ложнооперированных животных средние значения уровня микроциркуляции не отличались достоверно от таковых в группе интактных животных: 519 ± 13 ПЕ — на 21-е сутки ($p = 0,66$) и 521 ± 16 ПЕ — на 28-е сутки ($p = 0,77$). Отличий в строении мышечной ткани также не выявили (рисунок, Б).

В группе животных с ишемией мышц голени, не получавших лечения, средние значения уровня микроциркуляции были достоверно ниже в сравнении со значениями показателя в группе интактных крыс: 325 ± 3 ПЕ — на 21-е сутки ($p < 0,05$) и 371 ± 2 ПЕ — на 28-е сутки ($p < 0,05$). На 21-е сутки пораженные мышцы выглядели набухшими, имелись крупные участки серовато-коричневого цвета. Гистологическое исследование показало, что это крупные очаги организующегося некроза с резорбцией некротических волокон и разрастанием грануляционной ткани. На 28-е сутки цвет мышц нормализовался, но они выглядели несколько гипотрофичными. Участки резорбируемого некроза были значительно мельче. В микроциркуляторном русле отмечались полнокровие и новообразование единичных капилляров. Вблизи участков некроза встречались пучки атрофированных мышечных волокон (рисунок, В).

Коррекция силденафилом способствовала достоверному повышению уровня регионарного кровотока в ише-

мизированных мышцах голени крыс по сравнению с 3-й группой на соответствующем сроке: 425 ± 4 ПЕ — на 21-е сутки ($p < 0,05$) и 803 ± 10 ПЕ — на 28-е сутки ($p < 0,05$). Уровень микроциркуляции в 4-й группе на 21-е сутки приближался к значению этого показателя в группе интактных животных, а на 28-е сутки значительно превосходил его. Макроскопически ишемизированные мышцы не отличались по общему виду и цвету от мышц интактных крыс. При микроскопии некротических изменений также не обнаружили, однако в некоторых участках встречали мелкие очаги атрофирующихся миоцитов с пролиферацией клеток (рисунок, Г).

В группе животных с ишемией мышц голени, получавших «Церебролизин», был отмечен достоверный рост уровня микроциркуляции в сравнении с 3-й группой: 429 ± 12 ПЕ — на 21-е сутки ($p < 0,05$) и 767 ± 8 ПЕ — на 28-е сутки ($p < 0,05$). На 21-е сутки в мышцах имелись отдельные участки серовато-коричневого цвета, представлявшие собой крупные очаги организующегося некроза с резорбцией некротических волокон и разрастанием грануляционной ткани. На 28-е сутки мышцы не отличались по общему виду и цвету от мышц интактных крыс. При микроскопии некротические изменения в мышцах не обнаруживались. В микроциркуляторном русле отмечались полнокровие и новообразование капилляров (рисунок, Д).

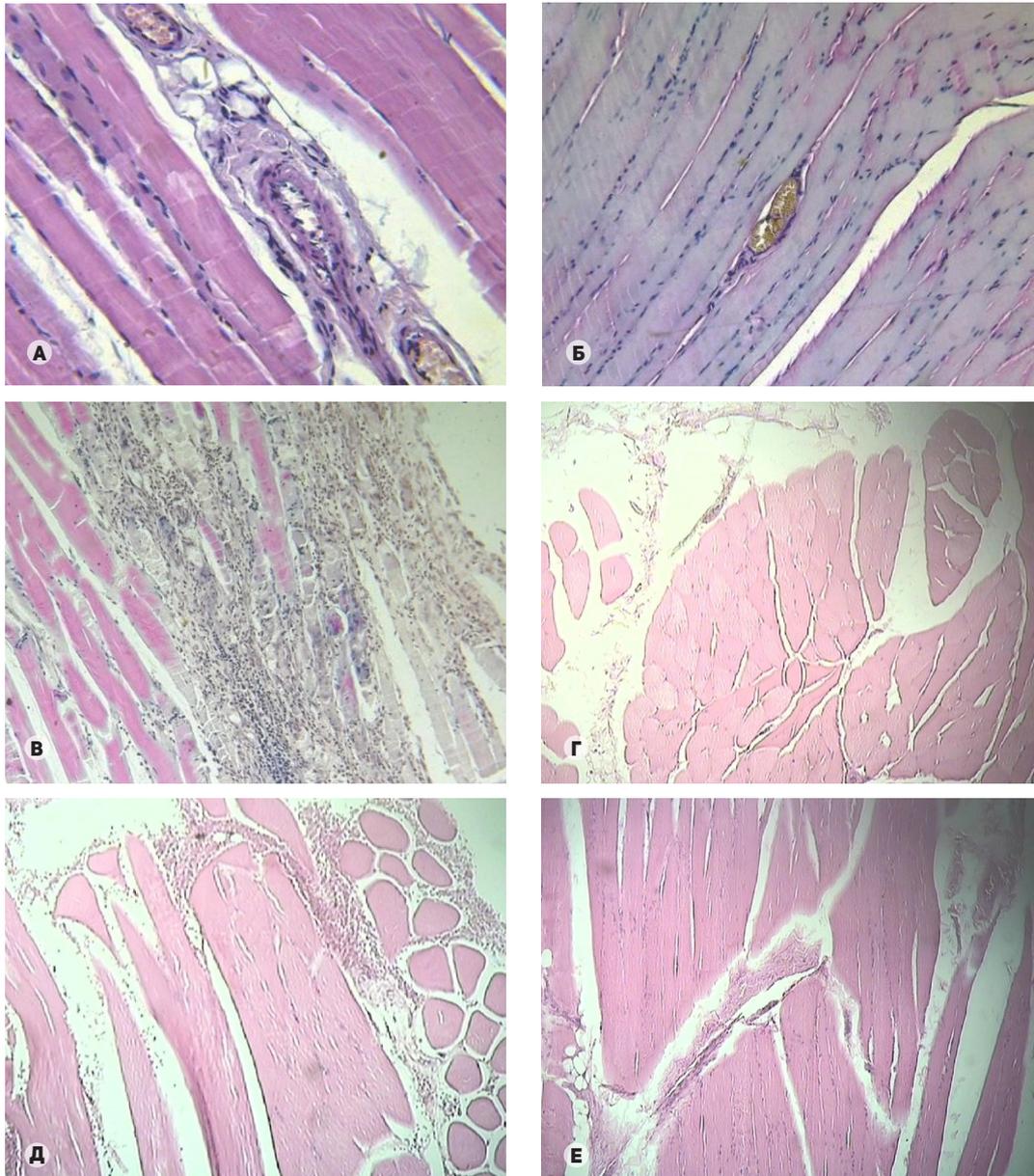
При комбинированной коррекции ишемии силденафилом и «Церебролизин» на 21-е сутки среднее значение уровня микроциркуляции составило 754 ± 9 ПЕ ($p < 0,05$ в сравнении с контрольной группой животных), а на 28-е сутки оно возросло до 1004 ± 13 ПЕ ($p < 0,05$). Морфологическая картина была идентична картине при коррекции силденафилом (рисунок, Е).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наши результаты говорят о том, что фармакологическая коррекция ишемии мышц голени крыс как при терапии силденафилом и «Церебролизин» так и при монотерапии данными препаратами способствует достоверному повышению уровня регионарного кровотока. Однако совместное применение силденафила и «Церебролизина» эффективнее стимулирует развитие коллатералей сосудистого русла.

Силденафил — ингибитор ФДЭ-5, фермента, вовлеченного во многие биохимические процессы в клетке. Открытия последних десятилетий показали возможность применения ингибиторов ФДЭ-5 для лечения различных патологических состояний [19]. Силденафил запускает каскад, который активирует протеинкиназу C и повышает внутриклеточный уровень цГМФ в кардиомиоцитах за счет активации индуцибельной и эндотелиальной NO-синтазы. В результате достигается эффект кардиопротекции, опосредованный открытием митохондриальных АТФ-чувствительных калиевых каналов (mitoKATP-channels) [20]. Открытие mitoKATP-каналов увеличивает электрохимический потенциал на мембране клеток миокарда, скорость синтеза АТФ и транспорта Ca^{2+} через мембрану. Происходит расслабление гладкомышечных клеток, расширяется просвет артерий, увеличивается приток крови [21].

Именно mitoKATP-каналы играют главную роль в реализации антиишемической защиты. Они обнаружены в клетках многих органов, в том числе сосудистой сети. Первоначально их активность была выявлена в сарколемме (sarcoKATP-channels), а затем — в митохондриях. Активность тех и других ингибируются физиологическими



Морфологическое исследование мышц голени крыс. (А) Мышцы голени интактных крыс (группа 1). (Б) Мышцы голени ложнооперированных крыс (группа 2). (В) Мышцы голени крыс контрольной группы (группа 3). (Г) Ишемизированные мышцы голени крыс, получавших силденафил (группа 4). (Д) Ишемизированные мышцы голени крыс, получавших «Церебролизин» (группа 5). (Е) Ишемизированные мышцы голени крыс, получавших силденафил и «Церебролизин» (группа 6). Окраска гематоксилином и эозином, $\times 140$

внутриклеточными концентрациями АТФ, т. е. каналы открываются при существенном снижении концентрации АТФ или общего пула адениновых нуклеотидов, являясь таким образом сенсорами (датчиками) наличия достаточного количества кислорода и глюкозы (источников АТФ). Можно предположить, что цитопротекторное свойство силденафила объясняется работой КАТР-каналов [21].

Вероятно, силденафил также стимулирует в ишемизированной мышце голени крысы неоваскулогенез. Свидетельством этого являются полученные нами результаты ЛДФ и морфологического исследования: на 28-е сутки происходило компенсаторное восстановление и затем усиление регионарного кровотока в ишемизированных мышцах животных опытных групп за счет новообразования сосудов.

Ранее нами было упомянуто, что «Церебролизин» уменьшает ферментативную активность супероксид-

дисмутазы и каталазы (антиоксидантный эффект) и обладает антиапоптотическим действием. Однако, кроме того, препарату свойствен противовоспалительный эффект [22, 23]. Таким образом, «Церебролизин» создает благоприятные условия для стимуляции естественных механизмов ангиогенеза силденафилом.

ВЫВОДЫ

Показана высокая эффективность терапии ишемии нижней конечности, смоделированной на крысах, комбинацией силденафила и «Церебролизина». Уровень микроциркуляции крови в пораженных мышцах голени животных соответствующей опытной группы на 28-е сутки был достоверно практически в два раза выше (в перфузионных единицах), чем у животных контрольной группы.

Литература

1. Кириченко А. А., Новичкова Ю. Н. Хроническая ишемическая болезнь ног. М.; 1998. 24 с.
2. Покровский М. В., Колесник И. М., Ходов С. В., Покровская Т. Г., Должиков А. А., Ефременкова Д. А. и др., авторы; Курский государственный медицинский университет, патентообладатель. Способ фармакологической коррекции ишемии скелетной мышцы силденафилом, в том числе при L-name-индуцированном дефиците оксида азота. Патент РФ RU 2497203 от 27.10.2013.
3. Князев В. В. Микроскопическое исследование репаративной регенерации нервных волокон после химической десимпатизации. В сб.: Университетская наука: Взгляд в будущее. Сборник трудов 72-й научной конференции КГМУ и сессии Центрально-Черноземного научного центра РАМН. Российский симпозиум «Закономерности интеграции физиологических функций в норме и их дезинтеграция в патологии»; 1–2 февраля 2007 г.; Курск. Т. 1. Курск: КГМУ; 2007. с. 116–9.
4. Коваленко В., Калитко И., Темрезов М., Чемурзиев Р., Петров А. Возможности лечения больных с атеротромботическим поражением артерий нижних конечностей. Врач. 2010; (3): 55–8.
5. Сепиашвили Р. И., Шубич М. Г., Карпюк В. Б. Оксид азота при астме и различных формах иммунопатологии. Астма. 2009; 2 (2): 5–14.
6. Червяков Ю. В., Староверов И. Н., Нерсесян Е. Г., Исаев А. А., Деев Р. В. Терапевтический ангиогенез в лечении больных с хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей. Ближайшие и отдаленные результаты. Ангиол. и сосуд. хир. 2012. 18 (3): 19–27.
7. Rowe VL, Lee W, Weaver FA, Etzioni D. Patterns of treatment for peripheral arterial disease in the United States: 1996–2005. J Vasc Surg. 2009 Apr; 49 (4): 910–7.
8. Горчаков В. Д., Сергиенко В. И., Владимиров В. Г. Селективные гемосорбенты. М.: Медицина: 1989. 221 с.
9. Покровская Т. Г., Чулюкова Т. Н., Покровский М. В. Эндотелиопротективные эффекты силденафила и тадалафила при экспериментальном моделировании L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота. Кубанский науч. мед. вест. 2009. 4: 136–9.
10. Покровская Т. Г., Чулюкова Т. Н., Покровский М. В., Филиппенко Н. Г. Эндотелиопротективные дозозависимые эффекты силденафила в комбинациях с L-аргинином при экспериментальном моделировании L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота. Биомедицина. 2010. 1 (5): 118–20.
11. Masliah E, Díez-Tejedor E. The pharmacology of neurotrophic treatment with Cerebrolysin: brain protection and repair to counteract pathologies of acute and chronic neurological disorders. Drugs Today (Barc.). 2012. 48 Suppl A: 3–24.
12. González ME, Francis L, Castellano O. Antioxidant systemic effect of short-term Cerebrolysin administration. J Neural Transm Suppl. 1998. 53: 333–41.
13. Sugita Y, Kondo T, Kanazawa A, Itou T, Mizuno Y. [Protective effect of FPF 1070 (cerebrolysin) on delayed neuronal death in the gerbil-detection of hydroxyl radicals with salicylic acid]. No To Shinkei. 1993. 45 (4): 325–31. Japanese.
14. EVER Neuro Pharma. Cerebrolysin — product monograph. 2010. 84 p.
15. Гамбарян П. П., Дукельская Н. М. Крыса. М.: Советская наука; 1955. 254 с.
16. Артюшкова Е. Б., Пашков Д. В., Покровский М. В., Файтельсон А. В., Гудырев О. С., Покровская Т. Г. и др. Возможности фармакологической коррекции хронической ишемии конечности в эксперименте. Экспер. и клин. фармакол. 2008; 71 (3): 23–5.
17. Young W, Keck WM. Церебролизин: обзор клинических и экспериментальных исследований. Практ. ангиол. [Интернет]. 2009 [дата обращения: 1 сентября 2016 г.]; 8 (27): [ок. 8 стр.]. Доступно по ссылке: <http://angiology.com.ua/ru-issue-article-273>.
18. Колесник И. М., Лазаренко В. А., Покровский М. В. Влияние фармакологического прекондиционирования силденафилом и варденафилом на состояние микроциркуляторного русла в ишемизированной скелетной мышце. Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2015; (1): 83–6.
19. Beyer S, Speich R, Fischler M, Maggiorini M, Ulrich S. Long-term experience with oral or inhaled vasodilator combination therapy in patients with pulmonary hypertension. Swiss Med Wkly. 2006 Feb 18; 136 (7–8): 114–8.
20. Das S, Maulik N, Das DK, Kadowitz PJ, Bivalacqua TJ. Cardioprotection with sildenafil, a selective inhibitor of cyclic 3',5'-monophosphate-specific phosphodiesterase 5. Drugs Exp Clin Res. 2002; 28 (6): 213–9.
21. Верткин А. Л. Клиническая фармакология ингибиторов ФДЭ 5: взгляд клинического фармаколога. Consilium medicum. 2004; 6 (7): 502–5.
22. Alvarez XA, Lombardi VR, Fernández-Novoa L, Garcíá M, Sampedro C, Cagiao A, et al. Cerebrolysin reduces microglial activation in vivo and in vitro: a potential mechanism of neuroprotection. J Neural Transm. Suppl. 2000; 59: 281–92.
23. Lombardi VR, Windisch M, García M, Cacabelos R. Effects of Cerebrolysin on in vitro primary microglial and astrocyte rat cell cultures. Methods Find Exp Clin Pharmacol. 1999; 21 (5): 331–8.

References

1. Kirichenko AA, Novichkova N. Khronicheskaya ishemicheskaya bolezn' nog. Moscow; 1998. 24 p. Russian.
2. Pokrovsky MV, Kolesnik IM, Chodov SV, Intercession TG, Dolzhikov AA, Ephremenkova DA, et al., inventors; Kursk State Medical University, assignee. Sposob farmakologicheskoy korrektsii ishemii skeletnoy myshtsy sildenafilom, v tom chisle pri L-name-indutsirovannom defitsite oksida azota. Patent RU 2497203. 2013 Oct 27. Russian.
3. Knyazev VV. Mikroskopicheskoe issledovanie reпаратivnoy regeneratsii nervnykh volokon posle khimicheskoy desimpatizatsii. In: Universitetskaya nauka: Vzglyad v budushchee. Sbornik trudov 72 nauchnoy konferentsii KGMU i sessii Tsentral'no-Chernozemnogo nauchnogo tsentra RAMN. Rossiyskiy simpozium «Zakonovernosti integratsii fiziologicheskikh funktsiy v norme i ikh dezintegratsiya v patologii»; 2007 Feb 1–2; Kursk, Russia. Vol. 1. Kursk: KGMU; 2007. p. 116–9. Russian.
4. Kovalenko V, Kalitko I, Temrezov M, Chemurziev R, Petrov A. Vozmozhnosti lecheniya bol'nykh s aterotromboticheskim porazheniem arteriy nizhnikh konechnostey. Vrach. 2010; (3): 55–8. Russian.
5. Sepiashvili RI, Shubich MG, Karpuk VB. Oksid azota pri astme i razlichnykh formakh immunopatologii. Aстма. 2009; 2 (2): 5–14. Russian.
6. Chervyakov YuV, Staroverov IN, Nersisyan EG, Isaev AA, Deev RV. [Therapeutic angiogenesis in treatment of patients with chronic obliterating diseases of lower limb arteries]. Angiology and Vascular Surgery. 2012. 18 (3): 19–27. Russian.
7. Rowe VL, Lee W, Weaver FA, Etzioni D. Patterns of treatment for peripheral arterial disease in the United States: 1996–2005. J Vasc Surg. 2009 Apr; 49 (4): 910–7.
8. Gorchakov VD, Sergienko VI, Vladimirov VG. Selektivnye gemosorbenty. Moscow: Meditsina; 1989. 221 p. Russian.
9. Pokrovskaya TG, Chulyukova TN, Pokrovskii TV [Endotheliotective effects of sildenafil and tadalafil at experimental model of the L-name-induced deficiency of nitric oxide]. Kubanskiy nauchnyi meditsinskiy vestnik. 2009. 4: 136–9. Russian.
10. Pokrovskaya TG, Chulyukova TN, Pokrovskiy MV, Filippenko

- NG. Endotelioprotektivnye dozozavisimye efekty sildenafil v kombinatsiyakh s L-argininom pri eksperimental'nom modelirovanii L-NAME-indutsirovannogo defitsita oksida azota. *Biomedicine*. 2010. 1 (5): 118–20. Russian.
11. Masliah E, Díez-Tejedor E. The pharmacology of neurotrophic treatment with Cerebrolysin: brain protection and repair to counteract pathologies of acute and chronic neurological disorders. *Drugs Today (Barc.)*. 2012. 48 Suppl A: 3–24.
 12. González ME, Francis L, Castellano O. Antioxidant systemic effect of short-term Cerebrolysin administration. *J Neural Transm Suppl*. 1998. 53: 333–41.
 13. Sugita Y, Kondo T, Kanazawa A, Itou T, Mizuno Y. [Protective effect of FPF 1070 (cerebrolysin) on delayed neuronal death in the gerbil-detection of hydroxyl radicals with salicylic acid]. *No To Shinkei*. 1993. 45 (4): 325–31. Japanese.
 14. EVER Neuro Pharma. Cerebrolysin — product monograph. 2010. 84 p.
 15. Gambaryan PP, Dukelskaya NM. Krysa. Moscow: Sovetskaya nauka; 1955. 254 p. Russian.
 16. Artyushkova EB, Pashkov DV, Pokrovsky MV, Faitelson AV, Gudyrev OS, Pokrovskaya TG, et al. [Possibilities of pharmacological correction of experimental chronic limb ischemia]. *Éksperimentalnaya i Klinicheskaya Farmakologiya*. 2008; 71 (3): 23–5. Russian.
 17. Young W, Keck WM. Tserebrolozin: obzor klinicheskikh i eksperimental'nykh issledovaniy. *Prakticheskaya angiologiya* [Internet]. 2009 [cited 2016 Sep 1]; 8 (27): [about 8 p.]. Available from: <http://angiology.com.ua/ru-issue-article-273>. Russian.
 18. Kolesnik IM, Lasarenko VA, Pokrovskiy MV. [The influence of pharmacological preconditioning with sildenafil and vardenafil on condition of microvasculature in the ischemic skeletal muscle]. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2015; (1): 83–6. Russian.
 19. Beyer S, Speich R, Fischler M, Maggiorini M, Ulrich S. Long-term experience with oral or inhaled vasodilator combination therapy in patients with pulmonary hypertension. *Swiss Med Wkly*. 2006 Feb 18; 136 (7–8): 114–8.
 20. Das S, Maulik N, Das DK, Kadowitz PJ, Bivalacqua TJ. Cardioprotection with sildenafil, a selective inhibitor of cyclic 3',5'-monophosphate-specific phosphodiesterase 5. *Drugs Exp Clin Res*. 2002; 28 (6): 213–9.
 21. Vertkin AL. Klinicheskaya farmakologiya inhibitorov FDE 5: vzglyad klinicheskogo farmakologa. *Consilium medicum*. 2004; 6 (7): 502–5. Russian.
 22. Alvarez XA, Lombardi VR, Fernández-Novoa L, Garcíá M, Sampedro C, Cagiao A, et al. Cerebrolysin reduces microglial activation in vivo and in vitro: a potential mechanism of neuroprotection. *J Neural Transm. Suppl*. 2000; 59: 281–92.
 23. Lombardi VR, Windisch M, Garcíá M, Cacabelos R. Effects of Cerebrolysin on in vitro primary microglial and astrocyte rat cell cultures. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 1999; 21 (5): 331–8.