

# The effect of buflomedil upon the parameters of vascular flow and blood rheology in patients with obliterative atherosclerosis of lower extremities

## Wpływ buflomedilu na parametry przepływu naczyniowego oraz parametry hemoreologiczne krwi u chorych z miażdżycą zarostową tętnic kończyn dolnych

Kazimierz Krupiński

Department of Hematology, Medical University of Białystok, Poland (Klinika Hematologii Akademii Medycznej w Białymstoku)

---

### Abstract

**Background.** The paper was aimed to evaluate the effect of buflomedil hydrochloride (Buflox, Hexal, Germany) upon the selected hemorheological parameters, such as platelet-leukocyte adherence, deformability of red cells and oxygen pressure in ischemic extremities, measured employing the transcutaneous method in 30 patients with obliterative atherosclerosis of the arteries of lower extremities in stage 2 and 3 according to Fontaine.

**Material and methods.** Buflomedil was administered orally 2×300 mg for 30 days.

**Results.** After 30 days of administration of the drug, a significant increase in the index of erythrocyte deformability was observed as well as a decrease in leukocyte adherence, a drop in the total number of leukocyte-platelet aggregates, and an increase in oxygen partial pressure in ischemic extremities.

**Conclusion.** The observed effect of buflomedil upon the blood rheological parameters suggests a positive effect of this drug on the improvement of microcirculation in patients with the lower limb obliterative atherosclerosis.

**Key words:** peripheral occlusive arterial disease, hemorheology, buflomedil

### Streszczenie

**Wstęp.** Celem pracy była ocena wpływu chlorowodoru buflomedilu (Buflox, Hexal, Niemcy) na wybrane parametry hemoreologiczne krwi — agregaty płytkowo-leukocytarne, adhezję leukocytów, odkształcalność krwinek czerwonych oraz zachowanie się prężności tlenu w niedokrwionych kończynach, mierzonego metodą przezskórną u chorych na miażdżycę zarostową tętnic kończyn dolnych.

**Materiał i metody.** Chorym z miażdżycą zarostową tętnic kończyn dolnych w 2 i 3 okresie wg Fontaine (30 osób) podawano Buflox 2×300 mg doustnie przez 30 dni.

**Wyniki.** Po 30 dniach podawania leku odnotowano istotny wzrost wskaźnika odkształcalności erytrocytów, obniżenie adhezji krwinek białych, zmniejszenie całkowitej liczby agregatów płytkowo-leukocytarnych oraz wzrost stężenia parcjalnego tlenu w niedokrwionych kończynach.

**Wniosek.** Wykazany wpływ Bufloxu na parametry reologiczne krwi sugeruje pozytywny efekt działania tego leku na usprawnienie mikrokrążenia u chorych z miażdżycą zarostową tętnic kończyn dolnych.

**Słowa kluczowe:** miażdżycza zarostowa tętnic kończyn dolnych, hemoreologia, Buflox

---

Address for correspondence (Adres do korespondencji):

Dr hab. med. Kazimierz Krupiński, Klinika Hematologii AM, ul. M. Curie-Skłodowskiej 24a, 15–276 Białystok, Poland  
tel: +48 (0 85) 746 82 07, e-mail: kazimierz\_krupiński@o2.pl

## Introduction

The atherosclerotic process causes obliteration of the arteries of lower extremities in 90% of the cases. Increase of fibrinogen level, impairment of blood fibrinolytic activity, significant increase of TXA<sub>2</sub> level, decreased production of PGI<sub>2</sub>, lowering of cAMP level as well as excessive platelet adhesion and activation can be observed in patients suffering from obliterative atherosclerosis of the lower limb arteries.

Impairment of the fibrinolytic activity is primarily caused by a decrease of the tissue plasminogen activator activity due to impaired synthesis and increased level of the activator's inhibitor [1, 2].

Peripheral occlusive arterial disease (POAD) affecting the lower extremity arteries is accompanied by an increased blood viscosity and the procoagulative activity. In the course of the disease there is also a continuous interaction of blood platelets, leukocytes and erythrocytes with the vessel wall, leading to a release of various procoagulative substances and subsequent decrease of fibrinolytic activity [1, 3].

The role of morphotic blood elements is another important feature of hemorheology. The greatest impact on blood flow within the microcirculation network is assigned to red and white blood cells. Blood circulation is conditioned by the ability of erythrocytes and leukocytes to change their shape, enabling them to pass through vessels of the diameter smaller than that of a single cell [4, 5]. Erythrocyte deformability is decreased because of lesser elasticity of their cell membranes in patients with obliterative atherosclerosis of the lower extremity arteries [6, 7]. There is concomitant increase of leukocyte adhesion. Because of their big dimensions and lesser deformability, leukocytes strongly determine the blood flow within the microcirculation, in spite of their small count compared to the red cell count [8].

The study was aimed to evaluate the effect of buflomedil on selected hemorheologic parameters in patients with POAD affecting the lower extremities. The impact of treatment upon transcutaneous oxygen pressure measurements in chronic limb ischemia was also assessed.

## Material and methods

The studied group included 30 patients aged 49–68 with obliterative atherosclerosis of the lower extremity arteries in stage 2 and 3 according to Fontaine, confirmed by ultrasound, pletysmography and percutaneous oximetry. Patients were administered oral buflomedil hydrochloride (Buflox, Hexal AG, Germany) 2×300 mg for 30 days. The criterion of study adherence was lack of other medication during the preceding 14 days, which could possibly influence the analysed hemorheologic parameters.

## Wstęp

Niedrożność tętnic kończyn dolnych w 90% jest wywołana procesem miażdżycowym. U chorych na miażdżycę zarostową tętnic kończyn dolnych występuje wzrost stężenia fibrynogenu, upośledzenie aktywności fibrynolitycznej krwi, istotny wzrost stężenia TXA<sub>2</sub> (*thromboxan A<sub>2</sub>*), zmniejszenie produkcji prostacyliny PGI<sub>2</sub> (*prostaglandin I<sub>2</sub>*), obniżenie stężenia cAMP (*cyclic adenosine monophosphate*) oraz nadmierna adhezja i aktywacja płytek krwi.

Upośledzenie aktywności fibrynolitycznej wiąże się głównie z obniżeniem aktywności tkankowego aktywatora plazminogenu w wyniku upośledzenia jego syntezy oraz ze wzrostem stężenia jego inhibitora [1, 2].

W miażdżycy zarostowej tętnic kończyn dolnych wzrasta lepkość krwi oraz jej aktywność prokoagulacyjna. Ponadto dochodzi do ciągłej interakcji płytek krwi, krwinek białych i czerwonych ze ścianą naczynia, co powoduje uwolnienie wielu substancji o właściwościach prozakrzepowych, a także spadek aktywności fibrynolitycznej [1, 3].

Ważnym zagadnieniem hemoreologii jest również udział elementów upostaciowionych krwi. Największą rolę w przepływie na poziomie mikrokrążenia przypisuje się krwinkom czerwonym i białym. Zdolność erytrocytów i leukocytów do zmiany kształtu, umożliwiającą przechodzenie przez naczynia włosowate o średnicy mniejszej niż wielkość komórki, jest zasadniczym warunkiem krążenia krwi [4, 5]. U chorych na miażdżycę zarostową tętnic kończyn dolnych następuje obniżenie odkształcalności krwinek czerwonych w wyniku spadku elastyczności błon komórkowych [6, 7]. Jednocześnie wzrasta adhezja krwinek białych, które mimo małej liczby (w stosunku do krwinek czerwonych) w znacznym stopniu warunkują przepływ w mikrokrążeniu, ze względu na duże wymiary i mniejszą zdolność do odkształcania [8].

Celem badań była ocena wpływu Bufloxy na niektóre parametry hemoreologiczne krwi u pacjentów z miażdżycą zarostową tętnic kończyn dolnych. Ponadto poddano ocenie wpływ tego leczenia na prężność tlenu mierzonego metodą przezskórną w ocenie przewlekłego niedokrwienia kończyn.

## Materiał i metody

U 30 chorych w wieku 49–68 lat z miażdżycą zarostową tętnic kończyn dolnych w 2 i 3 okresie według Fontaine, potwierdzoną badaniami ultradźwiękowymi, pletyzmograficznymi oraz oksymetrią przezskórną, podawano doustnie chlorowodorek buflomedilu (Buflox, Hexal AG, Niemcy) w dawce 2×300 mg przez 30 dni. Do badań zakwalifikowano osoby, które przez co najmniej 14 dni nie przyjmowały leków, mogących wpływać

Measurements were performed prior to the first drug administration and after 30 days of treatment with buflomedil. Percutaneous oxygen pressure measurement was performed with the Medico Teknik A/S oxymonitor type S 101. The device was set to zero and calibrated before every measurement.

During the test each patient was in horizontal position. Oxygen electrode was attached on the dorsum of the foot of ischemic limb. For laboratory analyses a blood sample was taken from the elbow region veins without stasis. The following parameters were assessed:

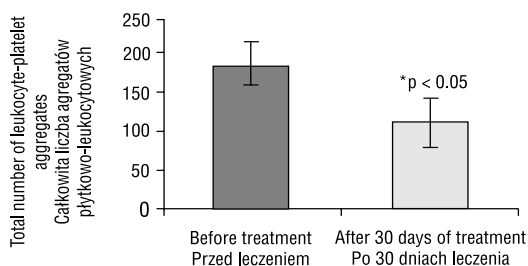
- total number of leukocyte-platelet aggregates, according to the Silbergleit's method with the author's modification [9];
- leukocyte adhesion to nylon fibres, according to Mac Gregor [10];
- blood platelet adhesion to extracellular matrix. The preformed plates containing extracellular matrix from the IBT Int. Bio-Technologies Ltd. Kiryat Hadassah Jerusalem (Israel) were used according to the procedure described by Vlodosky and Eldor [11] with the author's modification [12];
- erythrocyte deformability, measured employing the filtration method as described by Reid et al. [13]. Nuclepore filters of 5 micrometers diameter were used.

Statistical analysis of the obtained results was carried out with t-Student's test.

## Results

Figure 1 presents the total numbers of the leukocyte-platelet aggregates before and after 30 days of buflomedil treatment in patients with obliterative atherosclerosis of the lower extremity arteries.

After 30 days of buflomedil administration a significant decrease of the number of circulating leukocyte-platelet



**Figure 1.** Total number of leukocyte-platelet aggregates with obliterative atherosclerosis before and after 30 days of Buflox treatment

**Rycina 1.** Zachowanie się całkowitej liczby agregatów płytkowo-leukocytarych u pacjentów z miażdżycą zarostową tętnic kończyn dolnych przed leczeniem i po 30 dniach podawania Bufloxy

na badane parametry hemoreologiczne krwi. Niniejsze badania wykonano przed podaniem leku oraz po 30 dniach przyjmowania Bufloxy. Przeskórne pomiary prężności tlenu wykonywano za pomocą oksymonitora firmy Medico Teknik A/S typ S 101. Aparat zerowano i kalibrowano przed każdym badaniem. W trakcie badania chorego układano w pozycji poziomej. Tlenową elektrodę przykładano na grzbiecie stopy niedokrwiolnej kończyny. Krew do badań pobierano z żył zgięcia łokciowego bez zastosowania zacisku.

Całkowitą liczbę agregatów płytkowo-leukocytarych oznaczano według metody Silbergleita w modyfikacji własnej [9]. Adherencję leukocytów do włókien nylonowych oznaczano metodą Mac Gregora [10], zaś adhezję krwinek płytkowych do macierzy pozakomórkowej oceniano, korzystając z gotowych płytek z macierzą produkowaną przez IBT Int. Bio-Technologies Ltd. Kiryat Hadassah Jerusalem (Izrael) według metody opisanej przez Vlodosky'ego i wsp. [11] w modyfikacji własnej [12]. Odkształcalność erytrocytów badano metodą filtracyjną opisaną przez Reida i wsp. [13], używając filtrów Nuclepore o średnicy 5 mm. Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono za pomocą testu t-Studenta.

## Wyniki

Na rycinie 1 przedstawiono wartości całkowitej liczby agregatów płytkowo-leukocytarych przed leczeniem i po 30 dniach podawania Bufloxy u chorych z miażdżycą zarostową kończyn dolnych.

Po 30 dniach leczenia Bufloxy stwierdzono istotnie statystycznie obniżenie całkowitej liczby krążących agregatów płytkowo-leukocytarych w porównaniu z okresem przed podawaniem leku. Podobne wyniki odnotowano również w przypadku adhezji krwinek białych (ryc. 2) — przed leczeniem wynosiła ona  $15,8 \pm 4,4\%$ , natomiast po 30 dniach terapii zmniejszyła się do  $5,4 \pm 2,3\%$ .

Adhezję krwinek płytkowych do macierzy pozakomórkowej przedstawiono w tabeli 1. Po 30 dniach przyjmowania leku zaobserwowano znamienne statystycznie zahamowanie adhezji płytek krwi do macierzy pozakomórkowej w porównaniu z okresem przed podawaniem leku.

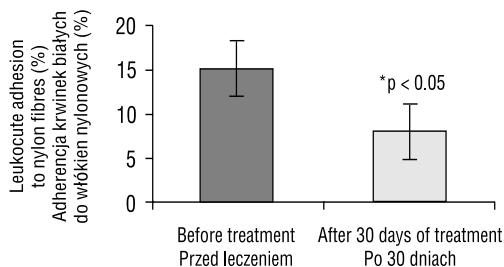
Na rycinie 3 przedstawiono zmiany odkształcalności erytrocytów u chorych z miażdżycą zarostową tętnic kończyn dolnych zarówno przed, jak i po 30 dniach leczenia Bufloxy [14]. Wykazano, że po 30 dniach leczenia Bufloxy nastąpił wzrost wskaźnika odkształcalności erytrocytów z 0,38 do 0,98 (ryc. 4). Jednocześnie wzrosła szybkość przepływu krwi przez badane filtry. Poprawie parametrów hemoreologicznych krwi

telet aggregates was observed compared to the number before treatment. A similar change was observed regarding leukocyte adherence (Fig. 2), which was  $15.8 \pm 4.4\%$  before and  $5.4 \pm 2.3\%$  after the 30-days-long bufloxedil therapy, respectively.

Measurements of the intensity of blood platelet adhesion to the extracellular matrix are presented in Table I. A statistically significant arrest of platelet adhesion to the elements of the extracellular matrix was observed after treatment with bufloxedil for 30 days.

Erythrocyte deformability rates in subjects with lower limb occlusive arteriopathy before and after 30 days of bufloxedil treatment are presented in Figure 3 [1].

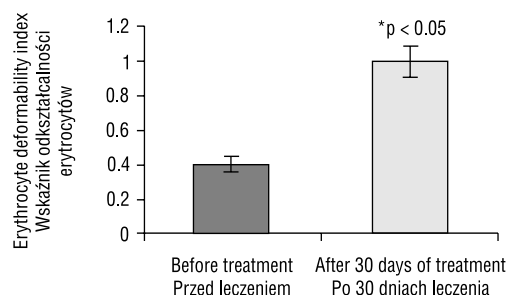
The author demonstrated the increase of the erythrocyte deformability index from 0.38 to 0.98 after 30 days of bufloxedil administration (Fig. 4). This finding was accompanied by an increase in blood flow velocity through the employed filters. Apart from the improvement of hemorheologic parameters, at the end of the study period there was also an increase in oxygen partial pressure from  $36.7 \pm 0.8$  mm Hg measured percutaneously on ischemic limbs.



**Figure 2.** Leukocyte adhesion in patients with obliterative atherosclerosis before and after 30 days of Buflox treatment

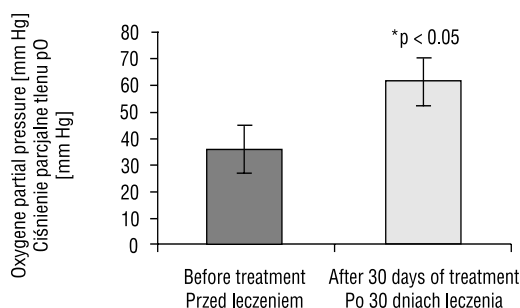
**Rycina 2.** Zachowanie się adhezji krwinek białych u pacjentów z miażdżycą zarostową tętnic kończyn dolnych przed leczeniem oraz po 30 dniach podawania Bufloxy

towarzyszył również wzrost stężenia parcjalnego tlenu, mierzonego metodą przezskórną na niedokrwiolnych kończynach z wartości  $36,7 \pm 0,8$  mm Hg przed terapią do  $58,5 \pm 8,5$  mm Hg po 30 dniach leczenia Bufloxem.



**Figure 3.** Erythrocyte deformability in patients with obliterative atherosclerosis before and after 30 days of Buflox treatment

**Rycina 3.** Zachowanie się wskaźnika odkształcalności erytrocytów u chorych z miażdżycą zarostową tętnic kończyn dolnych przed leczeniem oraz po 30 dniach podawania Bufloxy



**Figure 4.** Oxygen partial pressure in patients with obliterative atherosclerosis before and after 30 days of Buflox treatment

**Rycina 4.** Zachowanie się wartości pomiarów ciśnienia parcjalnego tlenu u chorych z miażdżycą zarostową tętnic kończyn dolnych przed leczeniem oraz po 30 dniach podawania Bufloxy

**Table I.** Blood platelet adhesion to extracellular matrix in patients with obliterative atherosclerosis before and after 30 days of Buflox treatment

**Tabela I.** Zachowanie się adhezji płytek krwi do macierzy pozakomórkowej u pacjentów z miażdżycą zarostową tętnic kończyn dolnych po 30 dniach leczenia Bufloxem

Time of treatment Czas podawania leku	After 30 days Po 30 dniach
Adherence inhibition in comparison with the stage before treatment (%)	16.5 ± 4.3
Hamowanie adhezji w porównaniu z okresem przed przyjmowaniem leku (%)	
p	< 0.01

## Discussion

The study results show that 300 mg of buflomedil administered twice daily in subjects with POAD improves perfusion of the affected lower extremities, as demonstrated by percutaneous measurements of the oxygen partial pressure.

It should be noted that the mentioned change was accompanied by the subjective improvement noted by the patients as well as by the elongation of the distance to claudication.

The influence of buflomedil on leukocyte adherence in patients suffering from the occlusive atherosclerotic lower limb arteriopathy is a very interesting feature. As it has been demonstrated recently, leukocytes are a major determinant of blood flow in obliterative angiopathies beside erythrocytes and platelets [4, 7, 8]. Since the capillaries, which play the role of tissue trophic vessels, are of a very small diameter, the leukocytes and erythrocytes have to undergo deformation in order to enter them. It is easier for erythrocytes because of their structure. However, as for the leukocytes the deformation is more difficult due to the presence of nuclei and the lesser cell flexibility potential. As a consequence of low perfusion pressure and atherosclerotic changes in the vessel wall, leukocytes are trapped in the microcirculation network and undergo activation. It is accompanied by the release of leukotrienes, thromboxane, platelet activating factor (PAF) and free oxygen radicals, which cause additional damage to the affected endothelium. Apart from occlusion by entrapped leukocytes and erythrocytes, microcirculation is also impaired due to vasoconstriction caused by the release of leukocyte-derived factors (leukotrienes, thromboxane) or platelet aggregation induced by the erythrocyte-derived ADP. Therefore, the effect of buflomedil observed in the studied POAD-affected subjects (decreased number of circulating leukocytes, increased erythrocyte deformability) suggests a new positive impact of this drug upon microcirculation flow.

It seems that the inhibitory effect of buflomedil on leukocyte adhesion to the extracellular matrix, which has also been demonstrated in this study, is not the only factor determining the decreased number of circulating leukocyte-platelet aggregates observed in the treated POAD-affected patients. Explanation of this phenomenon warrants further study.

## References

1. D' Angelo, Vill S, Myśliwiec M, Donati MB, De Gaetano D (1978) Defective fibrinolytic and prostacyclin activity in human atheromatous plaque. *Thromb Haemostas*, 39: 535–536.

## Dyskusja

W przeprowadzonych badaniach wykazano, że Buflomedil podawany doustnie 2×300 mg chorym z miażdżycą zarostową tętnic kończyn dolnych poprawia ukrwienie niedokrwiionych kończyn, wyrażające się wzrostem ciśnienia parcjalnego tlenu, badanego metodą przezskórną. Ukrwieniu towarzyszyło wydłużenie dystansu chromania przestankowego. Pacjenci zgłaszali także subiektywną poprawę.

Bardzo interesujący jest wpływ Buflomedilu na zachowanie się adhezji krwinek białych u chorych z miażdżycą zarostową tętnic kończyn dolnych. W ostatnich latach wykazano, że właśnie krwinki białe, poza erytrocytami i płytkami krwi, są głównym czynnikiem warunkującym przepływ w mikrokrążeniu w zarostowych chorobach naczyń [4, 7, 8]. Wiadomo, że naczynia włosowate, spełniające rolę odżywczą w stosunku do tkanek, mają małą średnicę, toteż leukocyty, podobnie jak erytrocyty, aby przejść przez kapilary, muszą się zdeformować. Krwinki czerwone są komórkami, które ze względu na swoją budowę łatwiej się odkształcają, natomiast w przypadku leukocytów — komórek jądrazstych mniej podatnych na odkształcanie — proces deformowania jest trudniejszy. W związku ze spadkiem ciśnienia perfuzyjnego oraz zmianami w ścianie miażdżycowo zmienionego naczynia, uwięzione w mikrokrążeniu leukocyty ulegają aktywacji z uwalnianiem leukotrienów i tromboksanu, czynnika aktywującego płytki (PAF, *platelet activating factor*) oraz wolnych rodników tlenowych, które uszkadzają śródbłonek naczyniowy i tak już chorobowo zmieniony. Poza wywoływaniem niedrożności kapilarów na skutek uwięzionych w nich leukocytów i erytrocytów dodatkowo czynnikiem upośledzającym mikrokrążenie jest skurcz naczynia pod wpływem uwalnianych czynników z leukocytów (leukotreiny, tromboksan) czy też agregacji krwinek płytkowych pod wpływem ADP uwolnionego z erytrocytów. Zatem stwierdzone przez autorów niniejszej pracy działanie Buflomedilu u chorych z miażdżycą zarostową tętnic kończyn dolnych, polegające na zmniejszeniu liczby krążących leukocytów i wzroście wskaźnika odkształcalności krwinek czerwonych, wskazuje na nowe, pozytywne działanie tego leku na poprawę przepływu naczyniowego w mikrokrążeniu.

W niniejszym badaniu wykazano hamujący wpływ Buflomedilu na adhezję krwinek płytkowych do macierzy pozakomórkowej. Prawdopodobnie jednak nie jest to jedyny czynnik wpływający na zmniejszenie liczby krążących agregatów płytkowo-leukocytarnych u chorych z miażdżycą zarostową tętnic kończyn dolnych, leczonych Buflomedilem. Wyjaśnienie tego zjawiska wymaga jednak dalszych badań.

2. Wilczyńska M, Czerniewski Cz (1984) Miejsce i rola tkankowego aktywatora plazminogenu w procesie fibryno- lizy. *Post Hig Med Dośw*, 38: 481.
3. Dambińska-Kieć A, Kostka-Trąbka E, Gryglewski RJ (1982) Effect of prostacyclin fibrinolytic activity in patients with arteriosclerosis obliterans. *Thromb Haemostas*, 47: 190.
4. Diftenfass L (1976) Blood microrheology-viscosity factors in blood flow, ischemia and thrombosis, Ed. Butterworth. London.
5. Turczyński B, Sroczyński J, Matyszczyk B, Szczęśny S, Strugała M (1990) Lepkość krwi osocza a dystans chromania przestankowego u chorych na cukrzycę typu II z chorobą niedokrwinną kończyn dolnych. *Wiad Lek*, 43: 483–488.
6. Lukjan H, Rość D, Chyży R, Szpak A (1983) Erythrocyte deformability of red cells in patients with arteriosclerosis obliterans of lower limb. *Acta Med Pol*, 24: 55–63.
7. Stolz JF (1981) Cardiovascular disease, risk factors and hemorheological parameters. *Clin Hemorheol*, 3: 257–259.
8. Ernst H, Hammwrschmidt DE, Bagge U, Matrai A, Dormandy JE (1987) Leukocytes and the risk of ischemic disease. *JAMA*, 257: 2318–2324.
9. Bielawiec M, Kiersnowska-Rogowska B, Myśliwiec M, Perzanowski A (1975) The behaviour of the platelet-leu- kocyte aggregation in the thrombotic conditions. *Folia Haematol*, 102: 220–224.
10. Mac Gregor RR, Macarek EJ, Kefalides NA (1976) Com- parative adherence of granulocytes to endothelial mono- layers and to the nylon fiber. *J Clin Invest*, 61: 697.
11. Vlodavsky J, Eldor A, Hy AE, Atumon R, Fuchs Z (1982) Platelet interaction with the extracellular matrix produced by cultured endothelial cells: A model to study the throm- bogenicity of isolated subendothelial basal lamina. *Thromb Res*, 28: 179.
12. Krupiński K, Basis-Micić M, Linhoff E, Breddin HK (1990) Inhibition of coagulation and platelet adhesion to extra- cellular matrix by unfractionated heparin and low mo- lecular weight heparin. *Blut*, 61: 289–294.
13. Reid HL, Barnes AJ, Lock PJ, Dormandy JA, Dormandy TL (1976) A simple method for measuring erythrocyte deformability. *J Clin Pathol*, 29: 855.
14. Forconi S, Pieragalli D, Guerrini M, Di Pierri T (1987) Hemorheology and peripheral arterial diseases. *Clin Hemorheol*, 7: 145.