

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной работе и инновационному развитию федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук, доцент

Сучков Игорь Александрович
 «дф» _____ 2018 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Диссертация Пшенникова Александра Сергеевича «Реализация ишемии и реперфузии в хирургии магистральных артерий нижних конечностей» выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, на кафедре сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии.

В период подготовки диссертации соискатель Пшенников Александр Сергеевич работал в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации на кафедре сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии в должности доцента.

В 2008 году окончил государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» по специальности «Лечебное дело».

В 2012 году защитил кандидатскую диссертацию на тему «Эндотелиотропная терапия в комплексном лечении облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей» по специальности «Сердечно-сосудистая хирургия».

Научный консультант – Калинин Роман Евгеньевич, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии, заведующий кафедрой.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Оценка выполненной соискателем работы. Диссертация «Реализация ишемии и реперфузии в хирургии магистральных артерий нижних конечностей» посвящена изучению влияния ишемического и реперфузионного периодов реконструктивно-восстановительной хирургии магистральных артерий нижних конечностей на сосудистый эндотелий.

Рутинной практикой стало определение типа поражения магистральных артерий по TASC II - (TransAtlantic Inter-Society Consensus) и оценка путей оттока по Rutherford для оптимального выбора хирургического лечения пациентов с заболеванием артерий нижних конечностей. Тем не менее, несмотря на такой технический прогресс, процент повторных реконструкций в течение первого года у пациентов с поражением бедренно-подколенного, подколенно-берцового сегмента приближается к 50%. Основными причинами этих частых осложнений становится либо рестенотический процесс зоны реконструкции вследствие гиперплазии неоинтимы, либо парадоксально быстрое прогрессирование атеросклеротического процесса в артериальном русле оперированной конечности. Очевидно, что ни одно из рассматриваемых осложнений не обходится без травмы эндотелия артерии. При выполнении любой хирургической реконструкции механизм травматического воздействия понятен. Это может быть как локальная травма в месте прямого воздействия шовного материала, протеза, сосудистого катетера, баллона, так и системное повреждение эндотелиального монослоя – прямое ишемическое и реперфузионное воздействие.

Проявления синдрома ишемии/реперфузии активно изучаются в реконструктивной хирургии артерий нижних конечностей, как при острых, так и хронических стадиях заболевания. В современной литературе есть подробное описание ишемического повреждения тканей (мышечная ткань, периферические нервы) конечностей, имеющих полное клиническое и лабораторное описание и представлена их связь с уровнем осложнений и летальности.

В сосудистой хирургии разработаны основные критерии обратимости ишемии с учетом предполагаемого риска. Однако описание повреждения основного регуляторного органа периферического кровотока – эндотелия, встречаются в единичных исследованиях. А оценка степени повреждения эндотелиального монослоя и клиническое течение периода ишемии/реперфузии в хирургии магистральных артерий конечностей не встречается.

Наши клинические наблюдения и наблюдения других авторов часто описывают после адекватной реваскуляризации (речь идет о восстановлении

периферического пульса на артериях стопы), выполненной по основным канонам сосудистой хирургии, в раннем послеоперационном периоде ухудшение состояния конечности в виде послеоперационного отёка, расширения зоны трофических нарушений, появления влажной гангрены, иногда приводящих к трагическим последствиям. Эти наблюдения могут быть объяснены развитием феномена невосстановления кровотока или «no-reflow», коррекция которого невозможна без изучения его этиологии и патогенеза. Нерешенным остается также один из ключевых вопросов сосудистой хирургии. Почему при технически правильной реконструкции магистральных артерий восстановления функционального статуса пациента не происходит, либо эффект от операции существенно не значим?

Адаптация тканей к ишемии/реперфузии при хирургическом лечении облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей является сложным и многокомпонентным процессом, который предполагает участие клеточного (тканевого) механизм, механизма формирования коллатерального русла (неоангиогенез), а также во многом зависит от функционального состояния эндотелия сосудов и выраженности эндотелиальной дисфункции, и степени ишемии. Сопряженное изучение всех этих процессов может способствовать формированию нового взгляда на адаптационные ишемические и реперфузионные резервы при острой и хронической артериальной недостаточности. Своеобразный механизм «клеточной» адаптации будет представлен в клинических группах через молекулярные механизмы эндогенных ангиопротекторов стресс-лимитирующей системы NO - стресс-белки HSP70 – bcl2.

Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации. Диссертационная работа представляет собой самостоятельный труд. Опубликованные научные работы подтверждают личное участие автора в выполнении исследования.

Автором были исследованы в динамики инструментальные данные и состояние здоровья 307 пациентов.

Объем и характер заимствованных фрагментов текста диссертации позволяют считать их законными цитатами. На основании полученных данных автором сделаны соответствующие выводы.

Степень достоверности результатов проведенных исследований.

Диссертационная работа Пшенникова А.С. выполнена на современном научном уровне с использованием статистических методов. Научные положения, выводы и рекомендации основаны на достаточном количестве исследований со статистической обработкой результатов с помощью программ Statistica 10.0, Microsoft Office, Microsoft Excel. В работе использовались современные лабораторные методы исследования.

Получение достоверных результатов обеспечено выполнением достаточного объема экспериментального и клинического исследования с

использованием современных лабораторных (иммуногистохимический, гистологический, морфометрический) и инструментальных (ультразвуковая доплеросфигмоманометрия, ультразвуковое дуплексное сканирование с определением скорости кровотока, измерение транскутанного напряжения кислорода, ангиография) методов исследования.

Достоверность первичных материалов подтверждена их экспертной оценкой и не вызывает сомнений. Научные положения, полученные выводы и практические рекомендации достаточно обоснованы и логически вытекают из результатов исследования. В исследовании использован достаточный объем литературных источников как отечественных, так и иностранных авторов.

Новизна результатов проведенных исследований. У больных острой и хронической ишемией нижних конечностей (307 пациентов) при различных методах хирургического лечения, направленного на восстановление магистрального кровотока, впервые проведено комплексное биохимическое исследование основных механизмов адаптации тканей к ишемии и реперфузии, включающих в себя клеточный (тканый) механизм (HSP70, bcl-2), механизм формирования коллатерального русла (VEGF), во многом зависящий от функционального состояния эндотелия сосудов и выраженности эндотелиальной дисфункции (метаболиты NO). Сопряженное изучение всех этих процессов раскрывает новый взгляд на адаптационные резервы при острой и хронической артериальной недостаточности.

Проведен морфологический сравнительный анализ степени повреждения эндотелия сосудов на фоне ишемического и реперфузионного поражений.

Проведен сравнительный анализ развития окислительного стресса при моделировании ишемии и ишемии-реперфузии в сосудистой стенке и плазме в экспериментальных моделях с количественной оценкой карбонильных производных протеинов, изучена активность лизосомальных цистеиновых протеиназ В, L в условиях экспериментального моделирования ишемии и ишемии/реперфузии в плазме крови и стенке артерии.

Дана комплексная оценка окислительной модификации белков плазмы и стенки артерии, а именно: рассчитаны площадь под кривой спектра поглощения продуктов карбонилирования протеинов, доля первичных и вторичных маркеров окислительного стресса, резервно-адаптационный потенциал в экспериментальных моделях ишемии и ишемии/реперфузии.

Разработан способ оценки реперфузионного повреждения сосудистой стенки в эксперименте после операций на аорте, заключающийся в оценке окислительной модификации белков, отличающийся определением кетон-динитрофенилгидразонов в сосудистой стенке в качестве маркера реперфузионного повреждения (заявка на патент РФ № 2018100408 от 10.01.2018).

Практическая значимость результатов проведенных исследований. Полученные результаты будут использованы в практическом здравоохранении, а

именно в сосудистой хирургии и ангиологии; в учебной работе высших медицинских учебных заведений для подготовки врача-лечебника, подготовке научно-педагогических кадров вузов. Результаты исследования окажут положительное влияние на расширение теоретических и практических знаний о патогенезе эндотелиальной дисфункции, биологических механизмах адаптации к ишемии и реперфузии.

Показана перспективность оценки окислительной модификации белков и соотношения первичных альдегид-динитрофенилгидразоны (АДНФГ) и вторичных кетон-динитрофенилгидразоны (КДНФГ) маркеров окислительного стресса, как предикторов оценки стадии и потенциальной обратимости окислительного повреждения на фоне ишемического и реперфузионного повреждения эндотелия сосудов.

Представлен новый аргумент преимущественного использования аутоветны в реконструкциях на бедренно-подколенном сегменте, позволяющий воспринимать ее не только как тропный соединительнотканый протез, но и биологический конduit с физиологической активностью эндотелиальных клеток.

Представлена прогностическая модель развития реперфузионного повреждения, вплоть до развития феномена «no-reflow» в раннем послеоперационном периоде после восстановления магистрального кровотока.

Ценность научных работ соискателя. Установлено, что после восстановления магистрального кровотока уровень метаболитов NO достоверно снижается во всех хирургических группах на всех этапах наблюдения и через 6 месяцев отмечается снижение на 24%, 21,5%, 27% соответственно.

Показано достоверное повышение HSP70 во всех хирургических группах в раннем послеоперационном периоде на 45%, 47,6%, 7,2% соответственно с последующей динамикой снижения и выравниванием показателей в группах к 3-ему и 6-ому месяцу наблюдения.

Выработка VEGF в плазме пациентов с хронической ишемией превосходит ее уровень у пациентов с острой ишемией (средняя разница соответствует 20 пг/мл, что составляет 15,4%). У пациентов 3-ей группы уровень VEGF в послеоперационном периоде возрастает на 20%, а у пациентов 1-ой группы достоверно снижается на 25%.

Показано, что динамика изменений bcl-2 белков схожа во всех хирургических группах и не имеет достоверной разницы со степенью ишемии и стадии хронического процесса, однако динамика роста в послеоперационном периоде статистически достоверна во всех хирургических группах и составляет 37,8%, 31,3%, 26,7% соответственно.

Доказано развитие окислительного стресса у пациентов 3-ей группы на 3-и и 5-е сутки после оперативного лечения с увеличением вторичных маркеров к 7 суткам (41,1 [39,4;46,7] $p=0,001$) и увеличением экспрессии катепсинов В и L на 3,5 и 7 сутки.

При экспериментальном моделировании ишемии показано развитие окислительного стресса на 3-и, 5-е сутки с преобладанием первичных маркеров, с истощением резервно-адаптационного потенциала и активацией катепсинов В и L плазмы и сосудистой стенки.

При экспериментальном моделировании ишемии-реперфузии окислительный стресс развивается с 1 по 7-е сутки в плазме и с 3 по 7-е сутки в сосудистой стенке. Окислительный стресс как в плазме, так и в сосудистой стенке характеризуется истощением резервно-адаптационного потенциала и преобладанием вторичных маркеров на фоне активации катепсинов В и L на 3-и, 5-е, 7-е сутки.

Сопоставление патоморфологических данных, полученных при изучении аорт и подвздошных артерий экспериментальных животных двух групп, показывает, что достоверных структурных и ультраструктурных отличий в картине повреждения и реактивных изменений в группах «ишемия» и «ишемия-реперфузия» обнаружено не было.

Выявленные закономерности в экспериментальном исследовании позволили установить, что определение кетон-динитрофенилгидразонов сосудистой стенки является маркерным для ранней диагностики реперфузионного повреждения сосудистой стенки.

Комплексный биохимический анализ выявил, что средние значения изучаемых показателей NO - 66,01 мкм/мл, HSP70 – 0,94 нг/мл, VEGF – 126,21 пг/мл, Bcl2 – 11,84 нг/мл, являются моделью благоприятного течения периода реперфузии, а двукратное уменьшение экспрессии HSP70 и bcl2 – приводит к развитию феномена «no-reflow» с прогрессированием гнойно-некротических изменений после технически успешных реконструктивно-восстановительных операций.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем. По материалам диссертации опубликовано 58 работ, из них 15 в рецензируемых научных журналах, цитируемых в библиографических системах Web of Science – 1, Scopus – 7:

1. Пшенников А.С. Динамика некоторых биохимических показателей у больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей в различные сроки после реконструктивных операций / Р.Е. Калинин, А.С. Пшенников, И.А. Сучков [и др.] // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. - 2012.- № 1.- С.41-44.

2. Пшенников А.С. К вопросу об эндотелиальном резерве у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей /Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, А.С. Пшенников // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. - 2012. - Т.7, № 2.- С.14-17.

3. Пшенников А.С. Биохимическая и морфологическая оценка функционального состояния эндотелия при реконструктивных операциях на брюшной аорте в эксперименте на животных / Р.Е. Калинин, А.С. Пшенников,

И.А. Сучков [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2013.- Т.19, № 3.- С. 30-33

4. Пшенников А.С. Коррекция эндотелиальной дисфункции как компонент в лечении облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, А.С. Пшенников // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2014.- Т.20, № 3.- С. 17-22.

5. Пшенников А.С. Молекулярные механизмы клеточной защиты в реконструктивно-восстановительной хирургии магистральных артерий / Р.Е. Калинин, А.С. Пшенников, И.А. Сучков // Тихоокеанский медицинский журнал. - 2014.- № 3 (57). - С.52-55.

6. Пшенников А.С. Реализация ишемии и реперфузии в хирургии магистральных артерий нижних конечностей / Р.Е. Калинин, А.С. Пшенников, И.А. Сучков // Новости хирургии. - 2015.-Т. 23, № 1.- С.51-56.

7. Пшенников А.С. Реперфузионное повреждение тканей в хирургии артерий нижних конечностей (клинический пример) / Р.Е. Калинин, А.С. Пшенников, И.А. Сучков // Новости хирургии. - 2015. -Т. 23, № 3.- С. 348-352.

8. Пшенников А.С. Состояние функции эндотелия при артериальных реконструкциях в эксперименте в зависимости от вида синтетических заплат / Р.Е. Калинин, А.С. Пшенников, И.А. Сучков [и др.]// Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. - 2015. - Т.10, № 4. - С.32-35.

9. Пшенников А.С. Эффективность препарата для терапевтического ангиогенеза в комплексном лечении пациентов с сахарным диабетом и критической ишемией нижних конечностей/ Р.Е. Калинин, А.С. Пшенников, И.А. Сучков [и др.]//Казанский медицинский журнал. - 2016. - Т. 97, вып. 5. - С. 674-680.

10. Пшенников А.С. Взаимосвязь окислительного карбонилирования белков и лизосомального протеолиза плазмы в условиях экспериментального моделирования ишемии и ишемии-реперфузии / Р.Е. Калинин, А.С. Пшенников, И.А. Сучков [и др.] // Наука молодых (Eruditio Juvenium). - 2017.-Т. 5, № 3.- С. 338-351.

11. Пшенников А.С. Катепсины как возможный способ адаптации сосудистой стенки к окислительному стрессу в условиях ишемии и реперфузии / Р.Е. Калинин, А.С. Пшенников, И.А. Сучков [и др.]// Медицинский вестник Северного Кавказа. - 2017. - Т. 12, № 2. - С.191-195.

12. Пшенников А.С. Окислительное карбонилирование белков при экспериментальной ишемии и реперфузии нижних конечностей / Р.Е. Калинин, А.С. Пшенников, И.А. Сучков [и др.]// Ангиология и сосудистая хирургия. - 2017. - Т. 23, № 3. - С. 32-37.

13. Пшенников А.С. Стресс-лимитирующая система у пациентов с ишемией нижних конечностей / Р.Е. Калинин, А.С. Пшенников, И.А. Сучков [и

др.] // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. - 2017.- Т.12, № 3.- С. 123-128.

14. Пшенников А.С. Изучение возможных биохимических и морфологических маркеров феномена «NO-REFLOW» в эксперименте / Р.Е. Калинин, А.С. Пшенников, Р.В. Деев, // Клиническая и экспериментальная хирургия. - 2018.- Т.6, №1. - С.62-69.

15. Пшенников А.С. Морфологическая иллюстрация изменений артериального эндотелия на фоне ишемического и реперфузионного повреждений / А.С. Пшенников, Р.В. Деев // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. - 2018.- Т. 26, № 2.- С.184-194.

Специальность, которой соответствует диссертация. Диссертация посвящена улучшению результатов лечения пациентов с критической и острой ишемией нижних конечностей. Она соответствует паспорту специальности 14.01.26 - Сердечно-сосудистая хирургия.

Диссертация Пшенникова Александра Сергеевича «Реализация ишемии и реперфузии в хирургии магистральных артерий нижних конечностей» рекомендуется к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.26 - Сердечно-сосудистая хирургия.

Заключение принято на межкафедральном заседании кафедр: сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии; онкологии; госпитальной хирургии; общей хирургии; хирургии, акушерства и гинекологии факультета дополнительного профессионального образования; биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики; анатомии; факультетской терапии; экономики, права и управления здравоохранением. Присутствовало на заседании профессорско-преподавательского состава кафедр 37 человек. Результаты голосования: «за» - 37 чел., «против» - нет, «воздержалось» - нет. Протокол № 1 от 19 ноября 2018 г.



Куликов Евгений Петрович,
доктор медицинских наук,
профессор,
заведующий кафедрой онкологии

