



## УТВЕРЖДАЮ:

Начальник Федерального государственного бюджетного учреждения «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, генерал-майор медицинской службы  
Евгений Владимирович Крюков  
«14» марта 2019 г.

## ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

о научно-практической значимости диссертации Пшенникова Александра Сергеевича на тему: «Реализация ишемии и реперфузии в хирургии магистральных артерий нижних конечностей», представленной к защите на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия.

### Актуальность темы

В настоящее время одним из наиболее важных подходов к лечению облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей служит стратегия своевременной реваскуляризации. Однако существуют патофизиологические механизмы, способные свести к минимуму эффект реваскуляризации даже при её полной успешности. К таким механизмам относится феномен «no-reflow». В связи с активным внедрением новых высокотехнологичных методов и возможностей, количество реваскуляризаций конечностей во многих регионах России увеличивается, а, следовательно, увеличивается частота «no-reflow» и актуальность его для современной медицины. Это обуславливает необходимость понимания его клинического значения, основных механизмов возникновения и методов профилактики, лечения. Кроме того, отсутствие однозначных принципов предотвращения этого состояния свидетельствует о необходимости крупных проспективных рандомизированных исследований, посвящённых изучению данного феномена и механизмам адаптации тканей к ишемическому и реперфузионному стрессам.

Исходя из этого, важным стала оценка функционального состояния эндотелия у пациентов с острой и хронической ишемией нижних конечностей с позиции концентрации метаболитов NO в сыворотке крови на различных этапах хирургического лечения, определение динамики изменения белков теплового шока, эндотелиального фактора роста, проапоптотического белка в течение послеоперационного периода восстановления магистрального кровотока

после острой и хронической ишемии конечностей, проанализировать работу стресс-лимитирующей системы NO-HSP70-bcl2 в условиях острой и хронической ишемии нижних конечностей и оценить информативность изучаемых показателей в качестве диагностических и прогностических маркеров течения послеоперационного периода с позиции реперфузионного повреждения эндотелия сосудистой стенки.

Таким образом, все перечисленные положения актуальны и требуют комплексного исследования морфофункциональных изменений эндотелиального монослоя на различных этапах хирургического лечения критической и острой ишемий конечностей с разбором клинических и экспериментальных групп, вовлечением трансмиссионной электронной микроскопии сосудистой стенки и специфическими биохимическими методами.

### **Связь с планом научных исследований**

Исследование выполнено на кафедре сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии, в соответствии с планом научно-исследовательских работ ГБОУ ВО Рязанского государственного медицинского университета им. И.П. Павлова по теме: «Реализация ишемии и реперфузии в хирургии магистральных артерий нижних конечностей», утвержденной ученым советом Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова».

### **Новизна исследования и полученных результатов**

При выполнении диссертационного исследования 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 произ-

водных 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 кетондинитрофенилгидразонов в сосудистой стенке в качестве маркера реперфузионного повреждения.

### **Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Диссертационная работа Пшенникова А.С. отличается грамотным планированием и высоким методическим уровнем выполнения. Значительное количество объектов исследования и реализованных экспериментальных моделей позволило получить и проанализировать достаточный объем фактического материала в *in vivo*- и *in vitro*- экспериментах. При выполнении работы использовались современные биохимические методы исследования.

Сформулированные автором научные положения, выводы и рекомендации основываются на адекватном статистическом анализе значительного количества полученных в экспериментальном и клиническом исследованиях данных и логически вытекают из результатов, полностью соответствуя цели и задачам исследования.

Все вышеизложенное дает основание считать научные положения, выводы и рекомендации диссертационной работы Пшенникова А.С. обоснованными и достоверными.

### **Значимость для науки и практики полученных результатов**

Полученные Пшенниковым А.С. в ходе выполнения диссертационной работы результаты имеют важное научно-практическое значение.

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-динитрофенилгидразонов и вторичных кетон-динитрофенилгидразонов 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 аутовены 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.

Получен патент РФ № 2677471 «Способ оценки реперфузионного повреждения сосудистой стенки в эксперименте».

#### **Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации**

Представляется важным внедрение результатов и выводов диссертации Пшенникова А.С. в исследовательскую и практическую деятельность. Целесообразно внести дополнение к обследованию пациентов перед проведением хирургического лечения, направленного на восстановление магистрального кровотока, определением показателей работы стресс-лимитирующей системы (минимальный рекомендуемый спектр – это определение метаболитов оксида азота и белков теплового шока). Рассмотреть возможность этапности восстановления магистрального кровотока у пациентов с угнетением стресс-лимитирующей системы, имеющим многоуровневое поражение артериального русла на фоне IV стадии заболевания по классификации Fontaine-Покровского. С учетом времени работы стресс-лимитирующей системы дополнить послеоперационный спектр медикаментозной терапии длительным приемом антиоксидантных средств (от 3 до 6 месяцев) вне зависимости от хирургического вмешательства на магистральных артериях с разным объемом интродоперационного травматизма, будь это бифуркационное аорто-бедренное шунтирование либо рентгенэндоваскулярная дилатация, не влияющего на тяжесть течения реперфузионного повреждения эндотелия сосудов. Проявление любого клинического, либо биохимического признака реперфузионного поражения сосудистой стенки диктует необходимость и важность диспансер-

ного наблюдения за пациентами с учащенной кратностью визитов и УЗИ контролем зон реконструкции и путей оттока не реже чем 1, 3, 6 месяцев после оперативной коррекции магистрального кровотока вне зависимости от объема выполненного вмешательства. С целью коррекции неизбежно возникающего реперфузионного повреждения эндотелия в прикладной сосудистой хирургии и профилактики развития феномена «no-reflow» очевидна значимость разработки и внедрения эндотелиопротективных медикаментозных средств на этапах восстановления магистрального кровотока.

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты исследования Пшенникова А.С. внедрены в лечебную работу отделений сосудистой хирургии и гнойной хирургии Государственного бюджетного учреждения Рязанской области «Областная клиническая больница», клиническую практику отделения сосудистой хирургии Государственного бюджетного учреждения Рязанской области «Областной клинический кардиологический диспансер», а также в учебный процесс кафедры сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной, оперативной хирургии и топографической анатомии, кафедры биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики ФДПО федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

### **Оценка содержания и оформления диссертации**

Общая структура диссертации и ее оформление соответствуют современным требованиям. Объем работы составляет 201 страница печатного текста и состоит из: введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов клинического, экспериментального исследований и их обсуждения, клинических примеров, заключения, выводов и практических рекомендаций, списка использованной литературы. Диссертация иллюстрирована 71 рисунком, 32 таблицами, 6 клиническими примерами. Список литературы содержит 314 источников, из которых 82 отечественных и 232 зарубежных авторов.

В целом, все разделы диссертации являются весьма содержательными, последовательно раскрывают научные идеи автора, стиль изложения свидетельствует о научной зрелости автора.

Введение обосновывает актуальность темы, содержит формулировки цели, задач исследования и основных научных положений, описание научной новизны, теоретической и практической значимости.

Обзор литературы представляет собой подробный систематизированный анализ актуальных научных источников и дает возможность получить полное представление о современном состоянии научного знания по изучаемой проблематике. Следует отметить, что каждый раздел обзора литературы завершается кратким резюме, где автор не только формулирует основную идею раздела, но и указывает на нерешенные проблемы или недостаточность научных данных по анализируемому вопросу.

Описание материалов и методов исследования, представленное в соответствующей главе, является весьма скрупулезным, свидетельствует о полноте владения автором навыками планирования исследования, экспериментального моделирования, получения материала и реализации заявленных методов исследования и статистического анализа полученных данных. Материалы и методы исследования соответствуют поставленной цели и способствуют успешному решению сформулированных в ее рамках задач.

Третья глава дает представление о клинических группах в соответствии с заявленным протоколом. По результатам предложена следующая схема физиологического течения периода реперфузии, основанная на ингибирующем апоптоз эндотелиальной клетки свойстве стресс-лимитирующей системы. Нарушение представленных биохимических взаимодействий стимулирует повреждение эндотелия в период реперфузионного воздействия с развитием феномена «no-reflow».

В четвертой главе разбирается экспериментальный этап, выполненный на 90 лабораторных животных (крысах линии Wistar массой тела 250-300 г). Создавались две модели ишемии и ишемии/реперфузии путем пережатия брюшного отдела аорты (первая группа 45 животных) с последующим кондиционированием (вторая группа 45 животных). Все операции осуществлялись под наркозом с использованием препаратов «Ксило» 1 мг/кг и «Золетил 50» 15 мг/кг. В ходе проведенного исследования доказано, что при экспериментальном моделировании реперфузии окислительный стресс развивается с 3-их суток в сосудистой стенке с преобладанием вторичных маркеров, которые и является маркером реперфузионного поражения сосудистой стенке после оперативного вмешательства на магистральных артериях.

Представленные в пятой главе клинические случаи прогрессирования некротических процессов позволили создать модель развития феномена «no-reflow» в реконструктивной хирургии магистральных артерий.

Заключение представляет собой отдельную главу диссертации, содержит основные итоги исследования и, что весьма украшает работу, формулировки перспектив исследований и дальнейшей разработки темы.

Выводы соответствуют задачам, опираются на результаты исследования и весьма обоснованы.

Практические рекомендации соответствуют результатам, обоснованы и четко сформулированы.

#### **Публикации основных результатов диссертации в научных изданиях**

Основные положения диссертационного исследования изложены в опубликованных 59 работах, из которых 15 в рецензируемых научных журналах, цитируемых в библиографических системах Web of Science -1, Scopus – 7, два учебных пособия, получен патент РФ № 2677471 «Способ оценки реперфузионного повреждения сосудистой стенки в эксперименте».

Финансовая поддержка осуществлена из средств Гранта Президента Российской Федерации МК-1878.2014.7 для поддержки молодых ученых кандидатов наук, средств гранта РФФИ в рамках научного проекта № 18-313-00129 «молодой ученый», средств стипендии Президента Российской Федерации молодым ученым СП-2164.2018.4, осуществляющих перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики.

#### **Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации**

Автореферат полностью отражает основные положения диссертации.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе Пшенникова А.С. не имеется. В разделе «Заключение» представлены перспективы исследований в рамках дальнейшей разработки темы. В этой связи, хотелось бы узнать мнение, какие из них планируются к реализации непосредственно научной школой, к которой принадлежит автор работы и, в особенности, о новых методических подходах, которые могли бы способствовать обоснованности выдвинутой в работе гипотезы.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

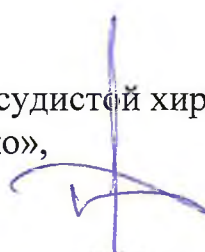
Диссертация Пшенникова Александра Сергеевича «Реализация ишемии и реперфузии в хирургии магистральных артерий нижних конечностей» является самостоятельным законченным научно-квалификационным исследованием, в котором решена научная проблема. В работе сформулированы основные положения о механизмах адаптации артериального эндотелия к условиям ишемического и реперфузионного стрессов и раскрыты механизмы работы стресс-лимитирующей системы на различных этапах хирургического лечения, направленного на восстановление магистрального кровотока в нижних конечностях, что может быть квалифицировано как научное достижение, вносящее крупный вклад в развитие науки. Разработка указанного научного направле-

ния имеет важное медико-социальное значение, способствующая оптимизации антиоксидантной терапии и поиску путей фармакологической эндотелиопротекции. Также, результаты диссертационной работы Пшенникова Александра Сергеевича существенно расширяют представления о роли артериального эндотелия в течение послеоперационного периода восстановления магистрального кровотока.

По актуальности, научной новизне, теоретической, практической значимости и достоверности результатов, а также обоснованности выводов и практических рекомендаций диссертационная работа Пшенникова Александра Сергеевича «Реализация ишемии и реперфузии в хирургии магистральных артерий нижних конечностей» соответствует всем требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а автор достоин присуждения искомой ученой степени по специальности 14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия.

Отзыв обсужден и одобрен на заседании научно-методического совета ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н. Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации» 14.03.2019, протокол № 1.

Начальник Центра сердечно-сосудистой хирургии  
ФГБУ «ГВКГ им. Н.Н. Бурденко»,  
доктор медицинских наук



Дмитрий Леонидович Краинин

Подпись доктора медицинских наук Д.Л. Краина  
«УДОСТОВЕРЯЮ»

Начальник отдела кадров  
ФГБУ «ГВКГ им. Н.Н. Бурденко»



Феликс Яковлевич Гольдшмидт

105229, г. Москва, Госпитальная площадь, д. 3  
+7(499)263-55-55  
gvkg@mail.ru