

## ОТЗЫВ

официального оппонента профессора Кохана Евгения Павловича на диссертационную работу Гордова Максима Юрьевича на тему: «Новые подходы к стимуляции неоваскулогенеза при лечении экспериментальной критической ишемии конечностей», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, по специальности 14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия.

**Актуальность темы.** Диссертационная работа М.Ю. Гордова посвящена изучению одной из важнейших проблем сердечно-сосудистой хирургии, а именно лечению пациентов с критической ишемией нижних конечностей на почве облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей. Критическая ишемия нижних конечностей встречается у 500-1000 человек на 1 млн. жителей в год. Ежегодно по данным мировой статистики на 1 млн. жителей выполняется до 500 больших и малых ампутаций. В России ежегодно от 50 до 70 тысяч ампутированных больных становятся инвалидами, что представляет собой не только медицинскую, но и социальную проблему. При поражении артерий голени и стопы и неудовлетворительном состоянии дистального русла большинство хирургов предпочитают отказываться от реконструктивных операций и проводят консервативную терапию без или в сочетании с паллиативными операциями. Отсутствие возможности выполнения реконструктивной операции диктует необходимость разработки, внедрения и тщательного анализа новых путей реваскуляризации пораженной конечности. Прорывом в поиске новых способов лечения хронической ишемии конечностей стала разработка инновационных технологий терапевтического ангиогенеза – стимуляции роста кровеносных сосудов и коллатералей в зоне ишемии с помощью фармакологических и иных средств. Интенсивное изучение клеточных механизмов ангиогенеза и выделение клеток-предшественников сосудистого эндотелия и ангиобластов позволила сначала в экспериментальных, а затем в клинических условиях для лечения ишемии тканей широко применять стволовые клетки. Однако представленные литературные данные являются мало изученными и требуют дальнейших экспериментальных и клинических исследований. С точки зрения объективной экспериментальной практики, оценка результатов доклинических исследований эффективности различных методов лечения критической ишемии нижних конечностей оказалась крайне затруднительной, прежде всего из-за неадекватности моделей ишемии на лабораторных животных. Недостатки существующих моделей экспериментальной ишемии конечности сводятся к сложности реализации и высокой стоимости модели, сохранению анатомического строения сосудистой системы конечности животного.

В связи с чем автором разработана и обоснована экспериментальная модель создания критической ишемии конечности, позволяющей воспроизвести у лабораторного животного схожую клиническую картину ишемии конечности как у пациентов, страдающих хроническими

облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей. Разработана методика получения и введения моноклеарной фракции аутологичного костного мозга в ишемизированную конечность, позволяющая улучшать коллатеральное кровообращение и активизировать процессы неоваскулогенеза в ишемизированных тканях.

Представленная диссертационная работа имеет высокую научную и практическую ценность, поскольку вносит неоспоримый вклад в решение одной из сложных задач современной сердечно-сосудистой хирургии.

### **Научная новизна и практическая ценность работы**

Научная новизна исследования заключается в том, что диссертант впервые в экспериментальной части исследования разработал модель создания критической ишемии конечности, позволяющей воспроизвести у лабораторного животного схожую клиническую картину ишемии конечности как у пациентов, страдающих хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей.

Разработана экспериментальная методика забора клеток костного мозга у лабораторных животных для лечения экспериментальной критической ишемии конечности. Обоснована методика получения и введения моноклеарной фракции аутологичного костного мозга в ишемизированную конечность, позволяющая улучшать коллатеральное кровообращение и активизировать процессы неоваскулогенеза в ишемизированных тканях. Доказаны ангиопротективные свойства препарата «Миелопид» при лечении экспериментальной критической ишемии конечности, которые выражаются в позитивном влиянии на микроциркуляцию и регенераторный процесс в ишемизированных тканях. Доказано благоприятное влияние комбинированного применения моноклеарной фракции аутологичного костного мозга и препарата «Миелопид» на процессы микроциркуляции и неоваскулогенеза при лечении экспериментальной критической ишемии.

Материалы диссертации используются в учебном процессе кафедры общей хирургии, кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии, кафедры хирургических болезней факультета последипломного образования ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России. Полученные результаты исследования внедрены в работу НИИ экспериментальной медицины ФГБОУ ВО КГМУ МЗ РФ.

По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе 5 статей в научных журналах из перечня ВАК, 2 патента на изобретение, в которых полностью отражены основные результаты работы.

### **Содержание работы и достоверность исследования**

Диссертация состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего в себя 202 отечественных и зарубежных источников.

Во введении представлена актуальность темы, сформулирована цель и задачи исследования, раскрыты научная новизна, практическая значимость работы, а также определены положения, выносимые на защиту.

Первая глава диссертации посвящена обзору литературы по изучаемой проблеме. На основании современных научных данных автор показал проблему лечения критической ишемии нижних конечностей у неоперабельных больных. Подробно рассматриваются все аспекты стимуляции неоваскулогенеза при ишемии конечностей, их развитие на протяжении последних десятилетий. В главе рассмотрен 181 источник, из них 83 – зарубежный. Нерешенные вопросы клеточной терапии и паллиативного хирургического лечения ишемии нижних конечностей ставит перед собой новые задачи и приводит к дальнейшему изучению этой научной проблемы.

Во второй главе, описывая материалы и методы исследования, диссертант показал себя опытным клиницистом и зрелым исследователем, способным к грамотному подбору клинического и экспериментального материала и выбору адекватных методов исследования для решения поставленных задач.

В работе Гордова М.Ю. проанализирован достаточный клинический материал. Подробно описана клиническая характеристика больных, начиная с жалоб, сопутствующих заболеваний и т.д. В исследование вошли 40 пациентов, пролеченных в условиях отделения сосудистой хирургии с 2014 по 2015 г., с острыми артериальными тромбозами периферических артерий, тромбозами бедренно-подколенных шунтов, а также с критической ишемией III-IV стадии на почве облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей. Все пациенты были мужского пола. Большинство больных (около 80-85%) в обеих группах относилось к группе пожилого и старческого возраста. У всех пациентов выявлена различная сопутствующая соматическая патология: артериальная гипертензия (90%), ишемическая болезнь сердца (100%), хронические неспецифические заболевания легких (30%), сахарный диабет (25%), церебральный атеросклероз (50%). Все пациенты являлись неоперабельными в виду дистального поражения артериального русла и невозможности выполнения реконструктивной операции. Из них 20 (50%) составили первую группу, которым проведено традиционное консервативное лечение, и 20 (50%) – вторую, которым на фоне консервативного лечения проведена операция реваскуляризирующая остеотрепанация бедренной и берцовых костей пораженной конечности. Автор определил отличительные особенности динамики клинического статуса пациентов, перенесших различные варианты лечения.

Подробно описано экспериментальное исследование – определение уровня перфузии тканей, площади некроза мышечных волокон, уровня артерио-веноулярного шунтирования, плотности капиллярной сети при

использовании различных методов лечения экспериментальной критической ишемии конечностей. Всего было использовано 130 белых крыс линии «Wistar», разделенных на пять групп. В первую, интактную, группу вошло 10 животных, у которых оценены показатели микроциркуляции и морфологии мягких тканей, принятых за предполагаемую норму. В контрольной группе проводилось моделирование критической ишемии по разработанной автором методики без последующего лечения. В опытных группах выполнялось моделирование критической ишемии с последующим лечением в 1-й группе мононуклеарной фракцией аутологичного костного мозга, во 2-й – иммуностимулирующим препаратом «Миелопид», в 3-й – комбинированным применением мононуклеарной фракцией аутологичного костного мозга и препарата «Миелопид». Автором разработан способ выделения и введение мононуклеарной фракцией аутологичного костного мозга, заключающийся в имплантации мононуклеарной фракцией аутологичного костного мозга из двух точек: 1) непосредственно под паховую связку в зону анатомического расположения коллатералей подвздошной артерии и ее ветвей; 2) интрамукулярно в икроножную мышцу переднелатеральной поверхности средней трети голени. Измерение уровня перфузии осуществляли методом лазерной доплеровской флоуметрии на 10-е, 21-е и 28-е сутки эксперимента. После измерения уровня перфузии мышечной ткани исследуемую мышцу забирали на биопсию для морфологического и морфометрического исследования. На микрофотографиях проводили измерение среднего диаметра артериол, капилляров, венул и мышечных волокон, зоны некроза и плотности капиллярной сети.

В третьей главе автор приводит результаты клинического и экспериментального исследования. Диссертант анализирует не только отдельные инструментальные и лабораторные методы исследования, но и комплексно оценивает полученные данные. Проведенный автором анализ результатов лечения пациентов с критической ишемией нижних конечностей показал неэффективность консервативной терапии и не прямой реваскуляризации при невозможности выполнения реконструктивной операции. Автор отмечает, что с течением времени у данной группы «неоперабельных» больных снижались показатели макрогемодинамики и микроциркуляции в пораженной конечности, нарастали симптомы ишемии и, вследствие чего, им выполняли первичные ампутации. В связи с этим диссертант делает вывод, что традиционная консервативная терапия критической ишемии нижних конечностей в сочетании с реваскуляризирующей остеотрепанацией позволяет сохранить пораженную конечность у 5% больных при наличии проходимых берцовых артерий. Автор подчеркивает, что поиск новых решений для лечения критической ишемии конечностей, позволяющих уменьшить риск потери конечности и улучшить качество жизни пациентов является актуальным.

Подробным образом изложена динамика электрофизиологических и морфологических изменений в ишемизированных мышцах на 10, 21 и 28 сутки эксперимента с иллюстрациями гистологических препаратов. Обобщая

итоги экспериментального исследования, автор делает следующие выводы. Разработанная оригинальная модель создания критической ишемии конечностей в эксперименте путем иссечения магистрального сосуда, включающего бедренную артерию, подколенную артерию и артерию сафена, позволяет получить схожую патогномичную картину ишемии конечности, соответствующую III–IV стадии ишемии по классификации Покровского-Фонтейна у пациентов, страдающих хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей. Диссертантом подтверждено положительное влияние моноклеарной фракцией аутологичного костного мозга, препарата «Миелопид», а также их комбинированного применения, на процессы микроциркуляции и неоваскулогенеза при лечении экспериментальной критической ишемии конечностей. Под действием моноклеарной фракцией аутологичного костного мозга по разработанному способу увеличивались уровень перфузии тканей (на 96,5%) и плотность капиллярной сети (на 20,2%), снижались индекс артерио-веноулярного шунтирования (на 19,9%) и площадь некроза мышечных волокон (на 16,3%) в сравнении с контрольной группой. При лечении препаратом «Миелопид» возрастали перфузия тканей (на 50,3%) и плотность капилляров (на 46,4%), а зона некроза и артерио-веноулярное шунтирование уменьшались (на 14,3% и 12,1% соответственно) при сравнении с контролем. Комбинированное применение моноклеарной фракцией аутологичного костного мозга и препарата «Миелопид» также вызывало увеличение уровня перфузии (на 112,9%) и плотности капиллярной сети (на 30,7%), снижение площади некроза мышечных волокон (на 16,1%) и артерио-веноулярного шунтирования (на 29,1%) в сравнении с контрольной группой исследования.

Автором доказано, что неоваскулогенез в ишемизированных мышцах наблюдался уже на 10-е сутки эксперимента в 3-ей опытной группе (моноклеарная фракция аутологичного костного мозга + «Миелопид») и к 21-м в 1-ой (моноклеарной фракцией аутологичного костного мозга). Новообразованные сосуды были представлены капиллярами, находящимися в толще миобластов. Во 2-й опытной группе («Миелопид») рост новообразованных сосудов происходил с 21-х суток и завершался к 28-м. В контрольной группе животных неоваскулогенез не был установлен: гистологическая картина была представлена разрастанием грануляционной ткани и единичными скоплениями миобластов.

В заключении диссертации кратко и, в то же время, полноценно обобщены результаты работы, а также обоснованы механизмы действия разработанного способа лечения экспериментальной критической ишемии конечностей.

Выводы и практические рекомендации логично вытекают из материалов проведенного исследования, объективны и последовательны, соответствуют поставленным целям и задачам.

Автореферат изложен в научном, доступном для понимания стиле, содержит хороший иллюстрированный материал. Содержание автореферата

и научных трудов, опубликованных по теме диссертации, полностью отражает основные аспекты представленного исследования.

Диссертация написана понятным языком и оформлена надлежащим образом.

Принципиальных замечаний к работе Гордова М.Ю. нет.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Кандидатская диссертация Гордова Максима Юрьевича на тему: «Новые подходы к стимуляции неоваскулогенеза при лечении экспериментальной критической ишемии конечностей» является законченной научно-исследовательской работой, в которой содержится решение задач, имеющих важное значение для лечения пациентов с критической ишемией нижних конечностей.

Представленная работа по актуальности, методическому уровню, научной новизне и практической значимости является самостоятельной научно-квалифицированной работой, содержащей решение задач экспериментальной и практической ангиохирургии при лечении критической ишемии конечностей, и полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 (с изменениями от 21.04.2016 г., № 335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор, Гордов Максим Юрьевич, достоин присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.26 – сердечно-сосудистая хирургия.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, профессор,  
консультант хирург Центра сосудистой хирургии  
Центрального военного клинического  
госпиталя им. А.А. Вишневого,  
Лауреат Государственной премии СССР

Е.П. Кохан

«\_\_» июля 2017 г.

Адрес: Россия, 143320, Московская область,  
Красногорский район, п/о Архангельское, пос. Новый  
Телефон: 8(495)562-12-74  
Эл. адрес: zhospital@mail.ru

Подпись профессора Кохана Е.П. заверяю

Начальник отдела кадров  
ЦВКГ им. А.А. Вишневого

С.С. Пономаренко

