

На правах рукописи

ПШЕННИКОВ

Александр Сергеевич

**РЕАЛИЗАЦИЯ ИШЕМИИ И РЕПЕРФУЗИИ
В ХИРУРГИИ МАГИСТРАЛЬНЫХ АРТЕРИЙ
НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ**

14.01.26 - Сердечно-сосудистая хирургия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора медицинских наук

Рязань - 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор **Калинин Роман Евгеньевич**

Официальные оппоненты:

Аракелян Валерий Сергеевич, доктор медицинских наук, профессор, Институт коронарной и сосудистой хирургии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отделение хирургии артериальной патологии, руководитель отделения

Кательницкий Иван Иванович, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра хирургических болезней № 1, заведующий кафедрой

Лазаренко Виктор Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра хирургических болезней ФПО, заведующий кафедрой

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н.Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___»_____2019 года в «___» часов на заседании объединенного диссертационного совета Д 999.052.02, созданного на базе ФГБУ «Национальный медико-хирургический Центр им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, ГБУЗ Московской области «Московский областной научно-клинический институт им. М.Ф. Владимирского», по адресу: 105203, Москва, Нижняя Первомайская, 70.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института усовершенствования врачей ФГБУ «Национальный медико-хирургический Центр им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, по адресу: 105203, Москва, Нижняя Первомайская, 65 и на сайте www.pirogov-center.ru

Автореферат разослан «___»_____ 2019 года

Ученый секретарь объединенного
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Матвеев Сергей Анатольевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. О динамике развития сосудистой хирургии в России можно достоверно судить по темпу ежегодного роста количества артериальных реконструкций, превышающих 80 тысяч операций в 2017 году. Что касается острой ишемии нижних конечностей, то в последние годы в России выполняется около 8 тысяч операций у больных с острой артериальной непроходимостью, 90% которых - по поводу эмболий периферических артерий (Покровский А.В., 2018).

Большинство сосудистых хирургов страны уже владеют как открытыми, так и эндоваскулярными методиками, широкое внедрение получили гибридные технологии восстановления магистрального кровотока с возможностью одномоментной коррекции нескольких сосудистых бассейнов, во всех регионах страны широко используется концепция своевременной реваскуляризации конечностей, о чем говорят ежегодные отчеты президента общества ангиологов и сосудистых хирургов академика РАН А.В. Покровского.

Рутинной практикой стало определение типа поражения магистральных артерий по Trans Atlantic Inter-Society Consensus и оценка путей оттока по Rutherford для оптимального выбора хирургического лечения пациентов с заболеванием артерий нижних конечностей (TASC II, 2007). 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 рестеноотический процесс зоны реконструкции вследствие гиперплазии неоинтимы, либо парадоксально быстрое прогрессирование атеросклеротического процесса в артериальном русле оперированной конечности (Калинин Р.Е., 2009).

Очевидно, что ни одно из рассматриваемых осложнений не обходится без травмы эндотелия и нарушений его функционирования. В современной практике сосудистой хирургии начали обращать внимание на функциональное состояние эндотелия, как основного регуляторного органа, определяющего

течение и прогрессирование сердечно-сосудистых заболеваний (Шевченко Ю.Л., Стойко Ю.М., Кательницкий И.И.).

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 (Исхаков М.М.), так и хронических стадиях заболевания (Гавриленко А.В., 2002). 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 (Альхимович В.Л., 2014).

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 «po-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.

В настоящее время окислительный стресс и асептическое воспаление играют ключевую роль в патогенезе периферического атеросклероза и представляют собой молекулярную дисрегуляцию метаболизма, нарушения функции эндотелия и потери биодоступности оксида азота. Поскольку окислительный стресс является объединяющим признаком почти всех кардиоваскулярных патологий, а окислительная модификация белков - надежным критерием его оценки (Фомина М.А., 2013), оптимальным представляется сочетанное изучение работы стресс-лимитирующей системы в условиях окислительного стресса. В работе представлен анализ окислительной модификации белков в плазме пациентов после восстановления магистрального кровотока в нижних конечностях, плазме лабораторных животных, после моделирования ишемии и реперфузии, и в сосудистой стенке аорты и подвздошных артерий лабораторных животных.

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.

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.

Опираясь на вышеизложенный материал, были сформированы цель и задачи исследования.

Цель исследования. Улучшение результатов хирургического лечения пациентов с острой и хронической ишемией нижних конечностей, совершенствование диагностики с учетом прогнозирования развития реперфузионного повреждения тканей в хирургии магистральных артерий конечностей путём комплексного изучения функционального и морфологического состояния эндотелия.

Задачи исследования:

1. Оценить функциональное состояние эндотелия у пациентов с острой и хронической ишемией нижних конечностей с позиции концентрации

метаболитов NO в сыворотке крови на различных этапах хирургического лечения после реконструктивных и восстановительных операций.

2. Определить динамику изменений белков теплового шока (HSP70), эндотелиального фактора роста (VEGF), антиапоптотического белка (bcl2) в течение послеоперационного периода восстановления магистрального кровотока у пациентов с острой и хронической ишемией конечностей.

3. Провести анализ работы 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 сосудов у пациентов после реконструктивно-восстановительных операций на магистральных артериях.

4. Выявить активность лизосомальных протеиназ и уровень окислительно-модифицированных белков плазмы пациентов с острой ишемией нижних конечностей до и после восстановления магистрального кровотока.

5. Оценить и сравнить развитие окислительного стресса в сосудистой стенке и плазме в условиях экспериментальной ишемии и ишемии-реперфузии. Проанализировать зависимость состояния лизосомального цистеинового протеолиза от степени окислительной модификации белков в сосудистой стенке и плазме в условиях экспериментального моделирования ишемии и ишемии-реперфузии.

6. Провести морфологический анализ изменений сосудистой стенки в экспериментальных моделях ишемии и ишемии-реперфузии.

7. Выявить биомаркеры, ответственные за реперфузионное повреждение сосудистой стенки.

Научная новизна исследования. Поставленные задачи уходят далеко за рамки «прикладной» сосудистой хирургии и решение их является больше междисциплинарной проблемой (сердечно-сосудистая хирургия, биохимия, морфология, цитология). 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 B, 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.

Теоретическая и практическая значимость работы. 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 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.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Прогнозирование течения послеоперационного периода в хирургии магистральных артерий нижних конечностей может осуществляться с позиции реперфузионного повреждения эндотелия сосудов.

2. Состояние стресс-лимитирующей системы раскрывает адаптационные механизмы к ишемическому и реперфузионному повреждению эндотелия сосудов.

3. Развитие окислительного стресса происходит как в стадию ишемии, так и стадию реперфузии, однако преобладание вторичных маркеров, свидетельствующих об усугублении окислительного стресса, переходе его в позднюю стадию и утрате биологических свойств протеинов, наблюдается при моделировании реперфузии.

4. Определение вторичных метаболитов окислительной модификации белков кетон-динитрофенилгидразонов в сосудистой стенке является биохимическим маркером ее реперфузионного повреждения.

5. Выявленная зависимость между уровнем биохимических показателей в сосудистой стенке и степенью морфологической перестройки позволяет комплексно оценить процессы реперфузионного повреждения тканей и представить один из патогенетических путей формирования феномена «no-reflow».

Внедрение результатов исследования в практику и учебный процесс.

Результаты исследования 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.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов исследования определена большим набором клинических наблюдений, экспериментальных моделей, современных морфологических и биохимических методов исследования и способов статистической обработки.

Основные результаты диссертационного исследования доложены и обсуждены на ежегодной научной конференции университета (Рязань, 2011), 19th international student congress of (bio) medical sciences (ISCOMS)(The Netherlands, 2012), 23 Международной конференции «Актуальные вопросы сосудистой хирургии» (г.Санкт-Петербург, 2012), Spring Meeting in London (Page, 2014), 29

Международной конференции российского общества ангиологов и сосудистых хирургов «Новые направления и отдаленные результаты открытых и эндоваскулярных вмешательств в лечении сосудистых больных» (Рязань, 2014), IX научно-практической конференции ЦФО с участием ведущих специалистов России «Проблемы и перспективы лечения мультифокального атеросклероза» (Тверь, 2014), межрегиональной научной конференции с международным участием Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова с международным участием (Рязань, 2014), Девятым Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов (Москва, 2014), III молодежном медицинском форуме «MedWAYS-перспективные научные направления-2014», финале общероссийского научно-практического мероприятия «эстафета вузовской науки (Москва, 2014), 64th International Congress of the European Society of Cardiovascular and Endovascular Surgery ESCVS (2015), 30 Международной конференции российского общества ангиологов и сосудистых хирургов «Новые направления в лечении сосудистых больных» (Сочи, 2015), XII Съезде хирургов России (Ростов-на-Дону, 2015), Всероссийской научной конференции студентов и молодых специалистов (Рязань, 2015), Двадцать первом Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов (Москва, 2015), XXXI Международной конференции Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов «Избранные страницы сосудистой хирургии» (Москва, 2015), Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых специалистов с международным участием «Биохимических научных чтениях памяти академика РАН Е.А. Строева» (Рязань, 2016), XX Ежегодной сессии научного центра сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева Минздрава России с Всероссийской конференцией молодых учёных (Москва, 2016), 9-ой Международной конференции «Дисфункция эндотелия - Экспериментальные и клинические исследования» (Витебск, 2016), XXXII Международной конференции Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов Открытые и эндоваскулярные операции в сосудистой хирургии (Калининград, 2016), II Всероссийской научной конференции студентов и

молодых специалистов «Актуальные вопросы современной медицины» (Рязань, 2016), Двадцать втором Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов (Москва, 2016), ежегодной научной конференции Рязанского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова (Рязань, 2016), Республиканской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы сердечно-сосудистой и эндоваскулярной хирургии» (Душанбе, 2016), 27th World Congress of the International Union of Angiology (Lyon, 2016), The 66th International Congress of the European Society of Cardiovascular and Endovascular Surgery ESCVS (2017), XXXIII Международной конференции Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов «Отдаленные результаты и инновации в сосудистой хирургии» (Сочи, 2017), III Всероссийская научная конференция молодых специалистов, аспирантов, ординаторов (Рязань, 2017), Первом Съезде хирургов Центрального федерального округа Российской Федерации (Рязань, 2017), Двадцать третьем Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов (Москва, 2017), The 26th Annual Meeting of the Asian Society for Cardiovascular and Thoracic Surgery (Moscow, 2018).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 59 работ, из них 15 в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России (цитируемых в библиографических системах Web of Science -1, Scopus – 7), два учебных пособия, получен патент РФ на изобретение «Способ оценки реперфузионного повреждения сосудистой стенки в эксперименте» (№2677471).

Конфликт интересов. 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 «мол-а», средств стипендии Президента Российской Федерации молодым ученым СП-2164.2018.4, осуществляющим перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики.

Иных финансовых и других конфликтных интересов, получения вознаграждения ни в какой форме от фирм-производителей лабораторного оборудования, диагностического оборудования нет.

Объём и структура диссертации. Объём работы составляет 201 страницу 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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

В исследование включили 307 больных за период 2012-2017 года (6 лет), госпитализированных в отделение сосудистой хирургии ГБУ РО «Рязанский областной клинический кардиологический диспансер», клинику сосудистой хирургии ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России, для оперативного лечения по поводу облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей. Из них мужчин было - 256 (83,4%), женщин - 51 (16,6%). Средний возраст составил 65,3 лет. В зависимости от степени ишемии нижних конечностей и оперативной тактики все пациенты разделены на 4 группы:

1-я группа включила 83 пациента IIб-III стадиями заболевания по классификации Фонтена-Покровского, которым была выполнена прямая ре-васкуляризирующая операция на магистральных артериях с учетом типа поражения магистральных артерий по TASCII (таблица 1);

2-я группа – 76 пациентов с IV стадией заболевания по классификации Фонтена-Покровского, которым выполнены реконструктивно-восстановительные операции с учетом типа поражения магистральных артерий по TASCII (таблица 1);

3-я группа 73 пациентам выполнены в экстренном (срочном) порядке тромбэмболектomie на фоне кардиогенной неклапанной эмболии артерий нижних конечностей (таблица 1);

4-я группа (контрольная) 75 пациентов со IIб стадией заболевания, которым оперативное лечение не проводили в виду неудовлетворительного периферического русла либо отказа пациента от операции.

Таблица 1

***Распределение реконструктивно-восстановительных операций
в исследуемых группах***

	БАБШ	БПШ/БПП PTFE- графт*	Рентгенэндо- васкулярная дилатация/ стентирование	Аутове- нозный шунт in situ*	Тромбэндартер- эктомия из ОБА, ПБА	Эмбол- эктомия **
1-я группа	14	23	19		27	
2-я группа	15	19	17	2	23	
3-я группа						73

БАБШ – бифуркационное аорто-бедренное шунтирование, БПШ/БПП – бедренно-подколенное шунтирование/протезирование, ОБА – общая бедренная артерия, ПБА – поверхностная бедренная артерия; *- реконструкция выше щели коленного сустава, **- во всех операциях использовался доступ к артериям в в/3 и н/3 бедра по линии Кена.

Абсолютный критерий включения пациентов в исследование – это одномоментная хирургическая коррекция магистрального русла, с компенсацией кровообращения в раннем послеоперационном периоде. Повторных госпитализаций в течение шести месяцев вследствие тромбоза шунта либо прогрессирования заболевания не зарегистрировано, все выявленные случаи из клинического исследования были исключены для того, чтобы создать биохимическую модель благоприятного течения реперфузионного поражения. А выключенные из исследования случаи

прогрессирования некротических процессов позволили создать модель развития феномена «no-reflow» в реконструктивной хирургии магистральных артерий.

В соответствии с заявленным протоколом исследования всем пациентам проводилось определение NO, bcl-2, HSP70, VEGF в установленные сроки (исходный уровень, до и после оперативного лечения, 2, 10 сутки, 1,3,6 месяцев). Активность лизосомальных протеиназ и уровень окислительно-модифицированных белков определяли только у пациентов в 3-ей группе (с острой ишемией) на 1, 3, 5, 7 сутки, с целью выявления репрезентативности основных патогенетических законов окислительного стресса в клинических и экспериментальных группах.

Все пациенты были обследованы в объеме, отраженном в проекте «профессиональный стандарт – специалист в области хирургии», а комплекс ангиоспецифических диагностических методов опирался на «Национальные рекомендации по ведению пациентов с заболеванием периферических артерий».

С целью выявления закономерностей между ишемическим, реперфузионным повреждением эндотелия и степенью биохимических изменений проведен экспериментальный этап, во время которого определена активность лизосомальных протеиназ и уровень окислительно-модифицированных белков не только в плазме лабораторных животных, но и сосудистой стенке с гистологическим контролем.

Эксперимент выполнен 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).

Морфологическое исследование проводили с помощью микроскопа Leica DMI 4000 B с видеозахватом камерой Leica. Для проведения трансмиссионной электронной микроскопии использовали микроскоп “Libra 120” с автоматическим сканированием изображений (“Carl Zeiss”, Германия).

Статистическая обработка данных

Статистический анализ результатов экспериментального исследования проводился с использованием программы Statistica 10.0. Проверку нормальности распределения данных осуществляли с помощью критерия Шапиро-Уилка (W-критерий). Результаты представлены в формате Me [min; max], где Me- медиана, max - максимальное значение и min - минимальное. Для анализа статистической значимости различий независимых выборок использовали ранговый критерий Манна-Уитни (U-тест). Для проверки равенства медиан нескольких выборок использовали критерий Краскела-Уоллиса. Для оценки ранговой корреляции использовали коэффициент Спирмена. Критический уровень значимости нулевой гипотезы (p) принимали равным 0,05. В клиническом исследовании степень зависимости средних величин изучаемых маркеров характеризуется значением коэффициента корреляции по Пирсону, Кендаллу и Спирмену и была определена при доверительной вероятности 0,9; 0,95 и 0,99.

Результаты и обсуждение клинического исследования

Анализируя тенденцию изменений заявленных показателей, можно выделить ряд закономерностей, которые прослеживаются в хирургических группах и несут не только зависимость от этапности послеоперационного периода, но и степени ишемии конечности.

Так, динамика изменений белков теплового шока, заявленной генерации, носит похожий характер во всех хирургических группах, и отличается резким подъемом в раннем послеоперационном периоде с последующим снижением. Надо отметить, что тренд представленных хирургических групп выглядят в виде параллельных линий (рис. 1). Исходный уровень белков теплового шока у пациентов с хронической ишемией равнозначный и не зависящий от стадии заболевания (даже пациенты с трофическими изменениями имели тождественный уровень HSP70). Среднее значение исходного уровня HSP70 у пациентов с хронической ишемией с учетом контрольной группы 0,82 нг/мл. Надо отметить, что уровень белков теплового шока у пациентов с острой

ишемией превосходил группы с хронической ишемией на 23 %, от начальных показателей.

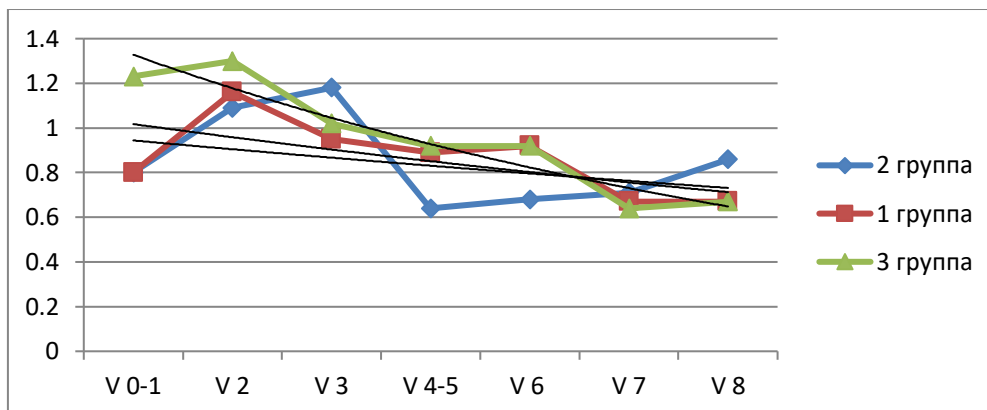


Рис. 1. Динамика изменений HSP 70 у пациентов хирургических групп

Экспрессия белков теплового шока в плазму должна быть оценена у пациентов 3-й группы как немедленная адаптационная реакция, развившаяся в короткий период времени на фоне острого ишемического стресса. Парадоксальным остается поведение HSP70 после хирургического восстановления магистрального кровотока у пациентов всех групп. Отметим, что одним из критериев включения пациентов в данное исследование является одномоментная коррекция кровотока и компенсация кровообращения на всех этапах послеоперационного наблюдения, т.е. отсутствие ишемического стресса. Однако, уровни стресс-белка в раннем послеоперационном периоде резко возрастают, что говорит о продолжающемся стрессе, носящем другую патогенетическую природу (реперфузионный стресс). Может появиться мнение, что резкая экспрессия HSP70 на 1-е и 2-е сутки – это реакция на хирургическую травму, тогда динамика изменений должна иметь сильную корреляционную связь с объемом хирургической инвазии, но в данном исследовании динамика изменений не нашла достоверных отличий у пациентов после бифуркационных аорто-бедренных реконструкций, после технически несложных эмболэктомий и рентгенэндоваскулярных инвазий. Выявленная закономерности позволяют нам воспринимать экспрессию HSP70 только как реакцию на реперфузионное воздействие, в независимости от объема хирургической манипуляции.

Клиническое подтверждение реперфузионного повреждения было получено не более чем у 40% оперированных пациентов и носило только местный характер, в виде отека нижней конечности, который самостоятельно купировался через 1-2 месяца после восстановления кровотока, а биохимическое подтверждение данного воздействия зарегистрировано у 100% пациентов в виде угнетения продукции оксида азота и экспрессии белков теплового шока.

Выравнивание показателей стресс-белка во всех хирургических группах наблюдаем к 3-ему и 6-ому месяцу наблюдения. Данное биохимическое проявление может говорить о прекращении стрессового воздействия ишемии/реперфузии только с 3-его месяца после восстановления магистрального кровотока.

Сопоставимые закономерности наблюдаются и в уровне метаболитов оксида азота у пациентов хирургических групп, которое проявляется статистически значимым снижением у всех пациентов от исходных значений и от группы контроля. Угнетение функции эндотелия с развитием эндотелиальной дисфункции является прямым проявлением реперфузионного воздействия на интиму сосуда. Несомненно, что любая хирургическая манипуляция не проходит без травматизации эндотелиального монослоя, которая происходит и при артериотомии, и контактная травматизация с шовным материалом, протезом (речь идет о линии анастомоза), катетерная травматизация эндотелия, травматизация при РЭД, являющиеся в последствии зонами повышенной миграции эндотелиальных клеток и гиперплазии интимы, как ответ на интраоперационную травму (Р.Е.Калинин, 2009).

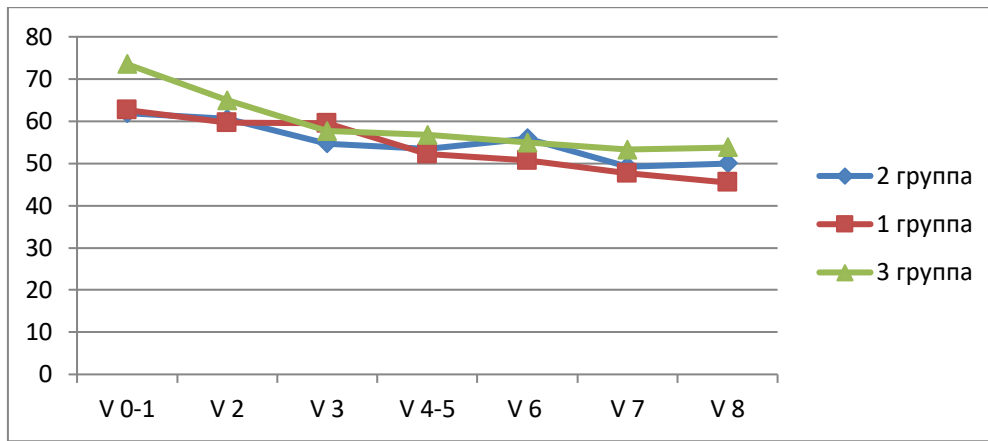


Рис. 2. Динамика изменений NO у пациентов хирургических групп

Однако, динамика прогрессивного угнетения секреции метаболитов оксида азота носит в данном случае не местный характер, поскольку у пациентов с различным объемом хирургической инвазии нет достоверных различий угнетения функции эндотелия. В данном случае угнетается функция всего эндотелиального монослоя артерий конечности и МЦР как прямой ответ на реперфузионное повреждение.

В данном исследовании нам не удалось добиться достоверных отличий исходного уровня показателей оксида азота у пациентов разных групп хронической ишемии. Только пациенты третьей группы имели достоверно высокий исходный уровень, отличающийся от других групп минимум на 19 %, что может говорить и об отсутствии атеросклеротических проявлений, поскольку у данных пациентов окклюзия обусловлена неклапанной кардиогенной эмболией магистральных артерий.

Изменения VEGF после хирургических вмешательств имеет самую большую статистически значимую основу, однако, динамика изменений в каждой хирургической группе противоположная. Исходный уровень эндотелиального фактора роста ниже у пациентов с острой ишемией примерно на 20 пг/мл, что составляет разницу от пациентов с хронической ишемией на 15,4%. В данном случае сложившаяся картина говорит о длительной адаптации к ишемическому стрессу путем компенсации кровообращения через стимуляцию ангиогенеза, что нашло отражение у пациентов с хронической

ишемией. Ангиогенез надо рассматривать как вариант долгосрочной адаптации ишемическому стрессу.

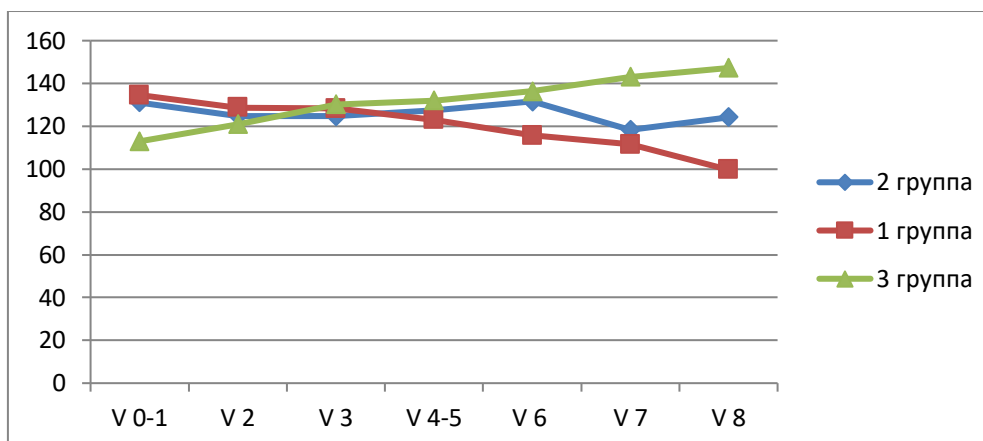


Рис. 3. Динамика изменений VEGF у пациентов хирургических групп

Угнетение экспрессии VEGF у пациентов первой группы в послеоперационном периоде на фоне компенсации кровообращения носит характер отрицательной обратной связи, блокирующей неоангиогенез в условиях компенсации кровообращения.

Наиболее низкая концентрация эндотелиального фактора роста выявлена у пациентов с острой ишемией $112,97 \pm 22,7$ пк/мл. Выступая в роли «долгосрочного» механизма адаптации, VEGF не успевает реагировать в короткие сроки (время от момента начала заболевания до восстановления кровотока 12-16 часов у всех пациентов). Однако, через три месяца наблюдения в данной группе показатель достоверно превосходил исходный уровень и уровень всех пациентов с хронической ишемией, несмотря на удовлетворительный операционный результат и составил $143,3 \pm 18,8$ пк/мл. Используя в своей клинической практике шкалу CHA₂DS₂-VASc, всем пациентам был присвоен высокий риск повторного тромбоэмболизма (4-6 баллов), что послужило основанием назначения антикоагулянтов, которые являются косвенными ингибиторами ангиогенеза. Гиперпродукция VEGF, возможно, направлена на обратную активацию процессов ангиогенеза у данных пациентов на фоне длительного приема антикоагулянтной терапии.

Анализируя динамику изменения VEGF, можно увидеть ее отсутствие у больных во 2-й группе в послеоперационном периоде, что характеризует

усиление у этих пациентов катаболических процессов на фоне депрессии ангиогенеза. Подобные изменения у этой группы больных носят стойкий, часто необратимый характер. Вышеуказанные изменения, свидетельствующие об угнетении функции микроциркуляторного русла, можно объединить под понятием «микроциркуляторная дисфункция». Микроциркуляторная дисфункция, с ее яркими морфофункциональными изменениями при хронической ишемии, вызванной облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей, наряду с изменением концентрации сосудистого эндотелиального фактора роста, нарушением функционального состояния эндотелия являются важными показателями, указывающим на тяжесть поражения. Это определило тесную корреляционную зависимость у пациентов во 2-й группе между концентрациями VEGF – NO ($r_s=0,69$), VEGF – HSP 70 ($r_s=0,74$).

Динамика изменений bcl-2 белков схожа во всех хирургических группах и не имеет достоверной разницы от степени ишемии и стадии хронического процесса. Однако динамика роста в послеоперационном периоде статистически достоверна во всех хирургических группах и носит характер долгосрочной адаптации.

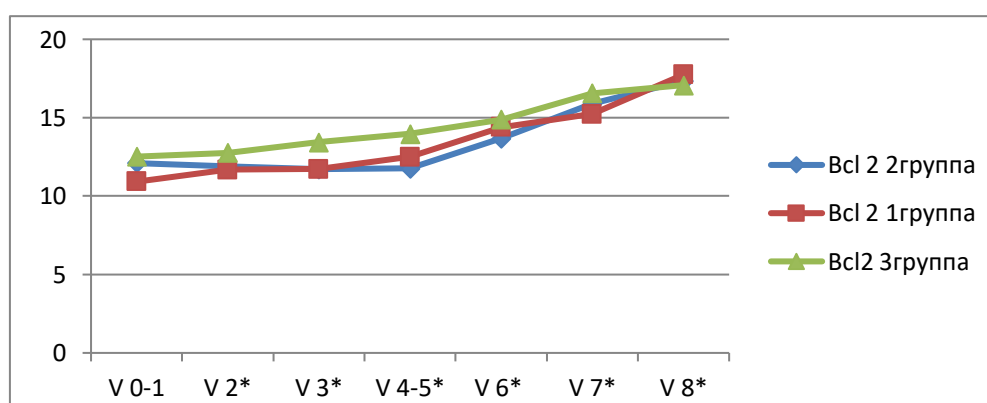


Рис. 4. Динамика изменений bcl 2 у пациентов хирургических групп

*- статистически значимые показатели от V 0-1

Такое изменение bcl-2 на фоне реперфузионного стресса, выступающего в роли апоптотического раздражителя, является благоприятной тенденцией для устойчивости трансмембранного потенциала митохондрий, препятствуя образованию «апоптосомы» и последующей биохимической реализацией апоптоза. Динамика прироста во всех хирургических группах весьма ощутима: 37,8%, 31,3%, 26,7% и говорит о степени и выраженности реперфузионного стресса.

Прогресс современной медицинской науки тесно переплетается с научными успехами молекулярной биологии. Стресс-индуцибельные системы оксида азота и белков теплового шока формирует своеобразный «щит», своевременно ограничивая действие повреждающих факторов (ишемия, реперфузия).

Вектор формирования долгосрочной адаптации у пациентов с хронической ишемией нижних конечностей после реконструктивно-восстановительных вмешательств на магистральных артериях направлен на стимуляцию процессов ангиогенеза, во многом определяемых эндотелиальным фактором роста, и профилактикой миоинтимальной гиперплазии в зоне анастомоза, работой анти- и проапоптотических систем. Изучение регуляции представленных метаболитов очень быстро перешла в область практической медицины из академической, фундаментальной среды.

Суммируя данные клинического исследования, предложена следующая модель физиологического течения периода реперфузии, основанная на ингибирующем апоптоз эндотелиальной клетки свойстве стресс-лимитирующей системы (рис. 5).

Выявленные закономерности у пациентов всех хирургических групп со стабильным течением послеоперационного периода позволило сформулировать предложение о «правильной» работе стресс-лимитирующей системе, направленной на купирование реперфузионного воздействия, а средние значения изучаемых показателей – как прогностический критерий благоприятного течения всего периода реперфузии. Таким образом, средние

значения изучаемых показателей составили: NO - 66,01 мкм/мл, HSP70 – 0,94 нг/мл, VEGF – 126,21 пг/мл, Bcl2 – 11,84 нг/мл.

Нарушение представленных биохимических взаимодействий стимулирует повреждение эндотелия в период реперфузионного воздействия с развитием феномена «no-reflow» (рис. 6).

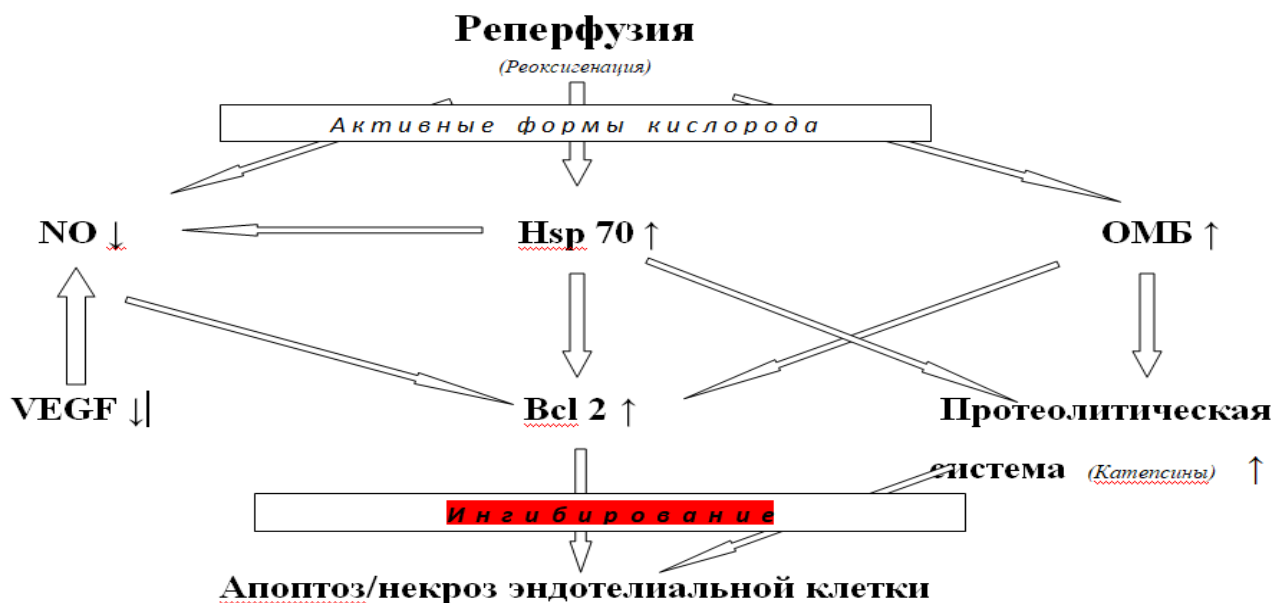


Рис. 5. Физиологический путь течения реперфузии и работы стресс-лимитирующей системы

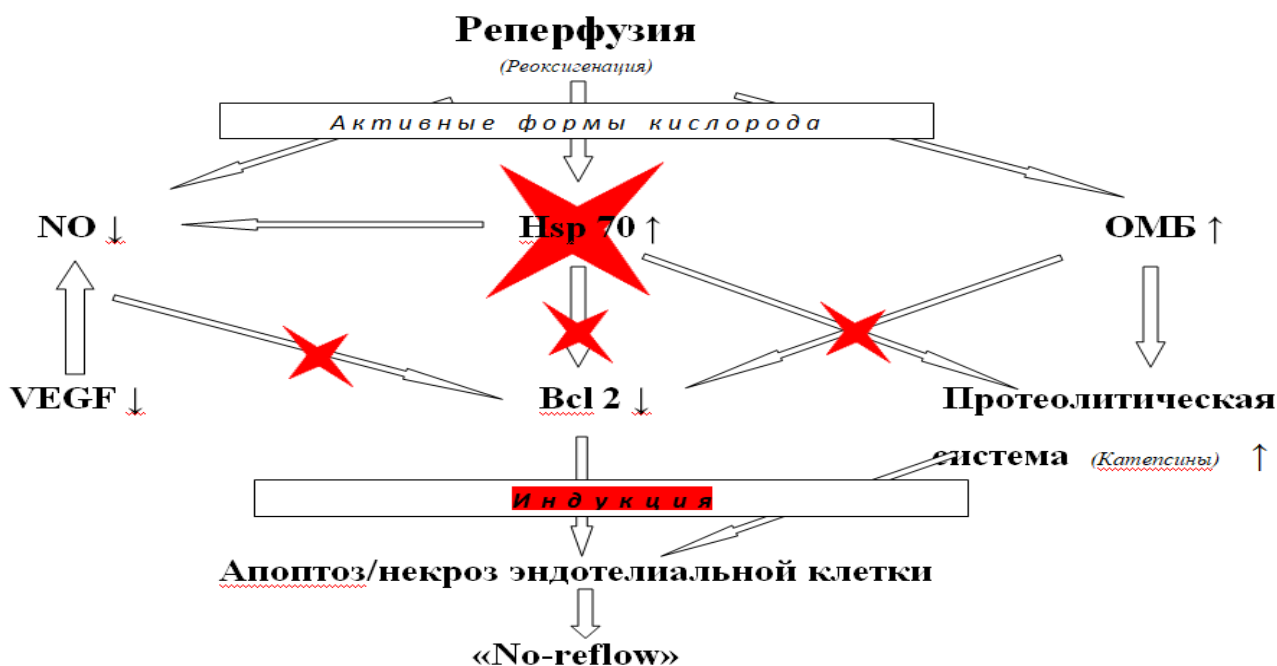


Рис. 6. Патогенез феномена «no-reflow»

Представление феномена «no-reflow» в хирургии магистральных артерий

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 ее успешности. В частности, к таким механизмам относится феномен «no-reflow» или феномен невосстановления кровотока. Действительно, это явление редкое и требует более детального изучения не только с позиции основных канонов сосудистой хирургии, но и с патобиохимическим анализом.

В работе представлен анализ клинических случаев лечения пациентов, страдающих облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей, характеризующихся прогрессированием заболевания в раннем послеоперационном периоде после адекватного восстановления магистрального кровотока.

Пациент Г., 56 лет, диагноз – «Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей. Бедренно-подколенная окклюзия справа. IV стадия заболевания по классификации Фонтена-Покровского».

Anamnesis morbi. Характерные патогномоничные жалобы появились в течение месяца до госпитализации, когда сформировался точечный некроз четвертого пальца стопы.

Ангиологический статус. УЗДСММ 0.43/1.0. По данным ДС артерий и периферической ангиограммы определена короткая окклюзия поверхностной бедренной артерии в нижней трети (что согласно классификации бедренно-подколенного поражения на основе TASC II соответствует Типу А), диффузное поражение остальных артерий не имеет гемодинамической значимости (рис. 7).

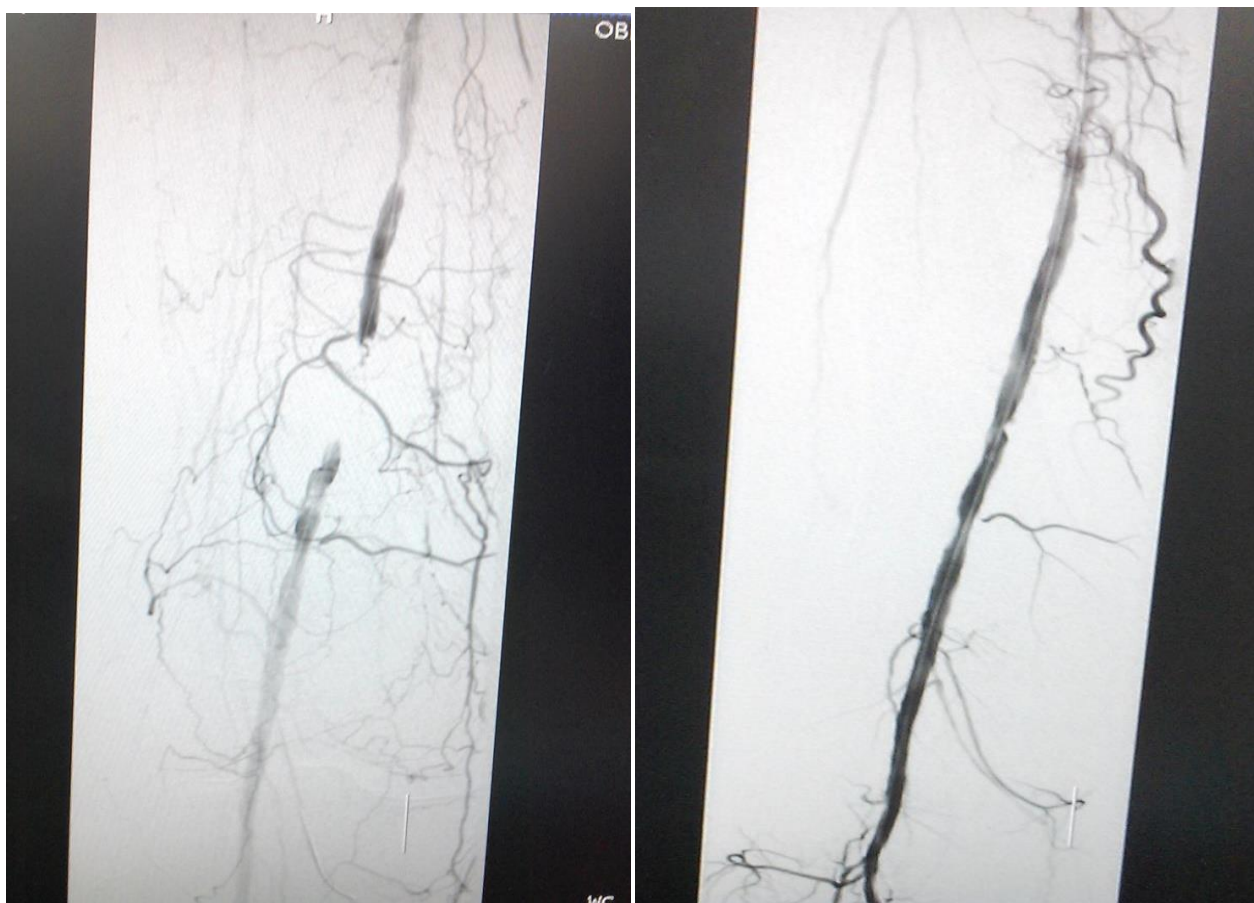


Рис. 7-8. Периферическая ангиограмма - окклюзия поверхностной бедренной артерии в нижней трети (Тип А – TASC II) (рис. 6), Периферическая ангиограмма после РЭД ПБА (остаточный стеноз ПБА не более 30%)(рис. 7)

Общеклинические методы обследования и лабораторные показатели в пределах физиологической нормы. Консервативная терапия назначена согласно «Национальным рекомендациям по ведению пациентов с заболеваниями артерий нижних конечностей».

Пациенту выполнена рентгенэндоваскулярная дилатация ПБА. Остаточный стеноз не более 30 % (рис. 8).

Послеоперационный период. Появление периферического пульса на передней большеберцовой артерии, УЗДСММ 0,87/1,06. Несмотря на успехи миниинвазивной хирургической техники, на вторые сутки развивается влажная гангрена стопы, что послужило основанием выполнить ампутацию голени по экстренным показаниям.

Пациент Л., 89 лет, диагноз – «Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей. Бедренно-подколенная окклюзия слева. IV стадия заболевания по классификации Фонтена-Покровского».

Anamnesis morbi. Характерные патогномоничные жалобы появились в течение трех месяцев до госпитализации, когда появился болевой синдром в покое и развитие сухого некроза большого пальца стопы.

Ангиологический статус. УЗДСММ 1.0/0. По данным ДС артерий и периферической ангиограммы определена окклюзия поверхностной бедренной артерии более 10 см. в средней трети (что согласно классификации бедренно-подколенного поражения на основе TASC II соответствует Типу C), диффузное поражение остальных артерий не имеет гемодинамической значимости (рис. 9).

Общеклинические методы обследования и лабораторные показатели в пределах физиологической нормы. Консервативная терапия назначена согласно «Национальным рекомендациям по ведению пациентов с заболеваниями артерий нижних конечностей». Сопутствующая патология: Ишемическая болезнь сердца: стенокардия напряжения II функциональный класс. Хроническая сердечная недостаточность IIА, функциональный класс III по NYHA (New York Heart Association). Цереброваскулярная болезнь, атеросклероз сосудов головного мозга.

Пациенту выполнено оперативное лечение – тромбэктомия из поверхностной бедренной артерии с аутовенозной пластикой артерий.

Послеоперационный период. Появление периферического пульса на передней большеберцовой артерии, УЗДСММ 1.0/0.9. Несмотря на успехи хирургической тактики в послеоперационном периоде ишемическое поражение не разрешилось, прогредиентное прогрессирование трофических расстройств послужило основанием выполнить ампутацию голени на 9-е сутки.

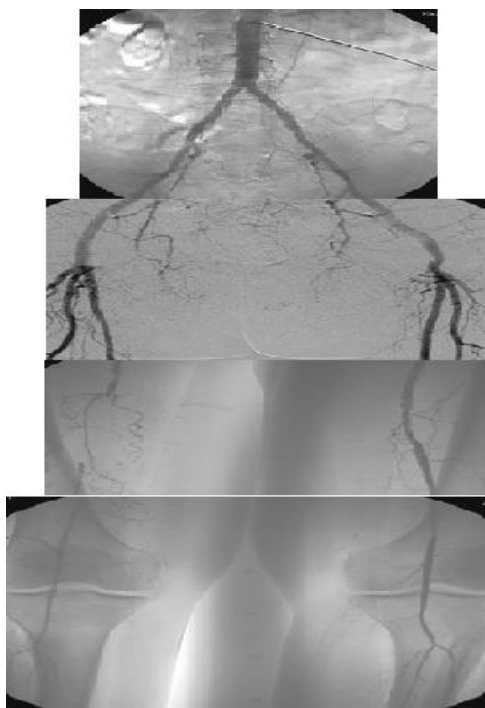


Рис. 9. Периферическая ангиограмма - окклюзия поверхностной бедренной артерии в средней трети (Тип С – TASC II)

Предполагалось включение данных пациентов во 2-ю группу клинического исследования, но отсутствие компенсации кровообращения в послеоперационном периоде стало критерием исключения из протокола. Тем не менее, им определили исходные уровни метаболитов оксида азота, фактора роста эндотелия сосудов, проапоптотических белков, белков теплового шока по стандартной методике до и после оперативного лечения, у пациента Л. на вторые сутки после операции (табл. 2, 3).

Таблица 2

Исследуемые показатели. Исходный уровень

	Пациент Г., 56 лет	Пациент Л., 89 лет
NO, мкм/мл	57,4	59,31
VEGF, пк/мл	112,3	107,1
Bcl-2, нг/мл	6,85	6,7
HSP70, нг/мл	0,37	0,28

Таблица 3

Изучаемые показатели. 1-е сутки после операции

	Пациент Г., 56 лет	Пациент Л., 89 лет
NO, мкм/мл	49,1	51,23
VEGF, пк/мл	108,2	105,3
Bcl-2, нг/мл	6,93	6,81
HSP70, нг/мл	0,35	0,3

Снижение изучаемых показателей (NO, VEGF, HSP70) до и после оперативного периода во многом раскрывает тяжесть и глубину поражения эндотелия сосудов и тканей конечности. Отсутствие ответа биохимических маркеров на успешное восстановление кровотока (время реперфузионного повреждения) во многом объяснила клинический результат. Подобные изменения у этой группы больных носят стойкий, часто необратимый характер. Вышеуказанные явления, свидетельствующие об угнетении функции микроциркуляторного русла.

Таблица 4

Изучаемые показатели. 2-е сутки после операции

	Пациент Л., 89 лет
NO, мкм/мл	49,1
VEGF, пк/мл	98,1
Bcl-2, нг/мл	7,93
HSP70, нг/мл	0,23

Микроциркуляторная дисфункция, с ее яркими морфофункциональными изменениями при хронической ишемии, наряду с изменением концентрации сосудистого эндотелиального фактора роста, нарушением функционального состояния эндотелия являются важными показателями, указывающим на тяжесть исходного поражения и прогрессирование его в послеоперационном периоде, вплоть до развития необратимых изменений.

Данные клинические примеры иллюстрируют явное угнетение элементов стресс-лимитирующей системы и, как следствие, нарушение функции эндотелия сосудов у пациентов с IV стадией заболевания по классификации Фонтена-Покровского.

Еще несколько клинических наблюдений, не вошедших в данное исследование из-за развития гнойно-некротических изменений в раннем послеоперационном периоде, позволили развить теорию реперфузионного поражения тканей и значимость ее в практической медицине.

Пациент Б., 64 лет, диагноз – «Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей. Синдром Лериша. III стадия заболевания по классификации Фонтена-Покровского». В плановом порядке выполнено БАБШ с развитием флегмоны голени на 7 сутки (рис. 10-11).

Развитие подобного осложнения на фоне отсутствия видимых трофических поражений кожи и мягких тканей очень редкое явление в сосудистой хирургии, подчеркивающее тяжесть течения реперфузионного периода. Разумеется, данное осложнение продлило сроки госпитализации пациента в стационаре, изменило стандартный лекарственный протокол.



Рис. 10-11. Флегмона передней поверхности голени после БАБШ на 7-е сутки (рис. 10). Фото через 4 месяца (рис. 11)

Другой клинический пример обширных поверхностных некротических дефектов мягких тканей после тромбэктомии из подвздошно-бедренного сегмента (рис. 12, 13).



Рис. 12. Пациент М. Множественные некрозы после тромбэктомии из подвздошно-бедренного сегмента слева (фото - 7 сутки после операции)

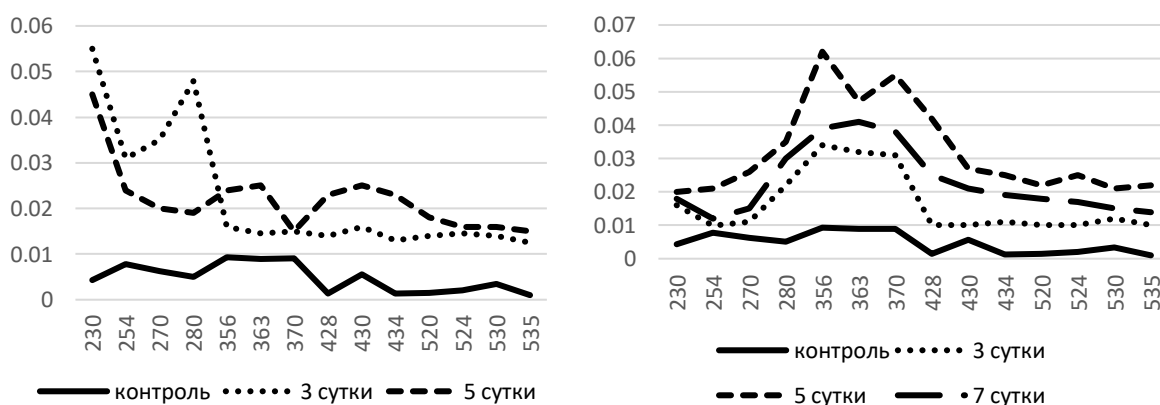


Рис. 13. Пациент М. (фото - 6 месяцев после операции)

Изучив биохимический профиль данных пациентов, пришли к выводу, что угнетение экспрессии HSP70 и Bcl 2 белков (7,12 нг/мл, 7,56 нг/мл, 0,41 нг/мл, 0,33 нг/мл) может спровоцировать развитие феномена «no-reflow» в раннем послеоперационном периоде в реконструктивной хирургии магистральных артерий и является прогностическим критерием течения реперфузионного периода.

Результаты и обсуждение экспериментального исследования

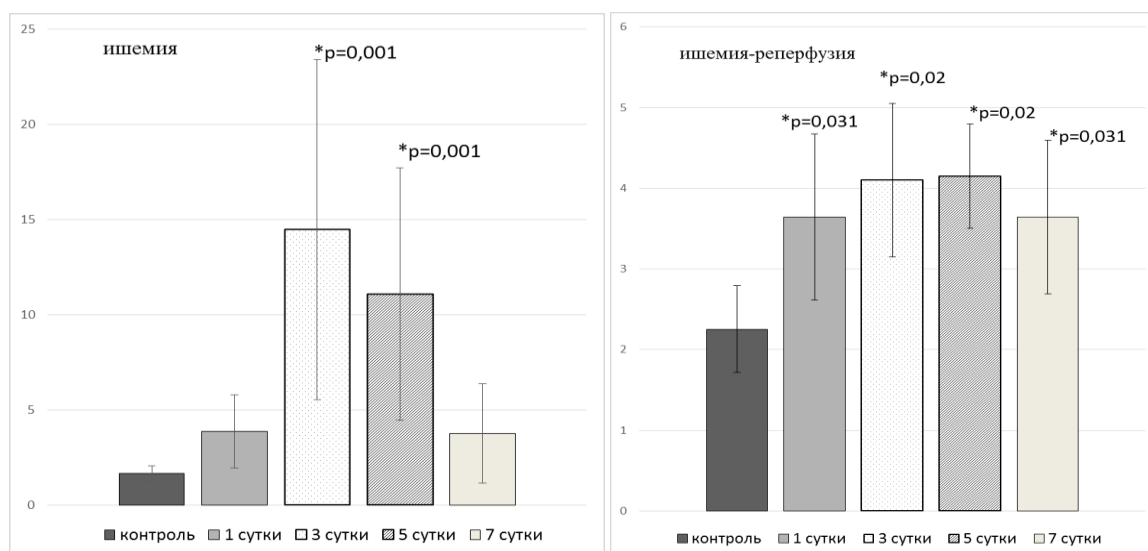
Полученные значения площади под кривой спектра поглощения продуктов окислительной модификации белков свидетельствуют о развитии окислительного стресса при моделировании ишемии на 3 и 5 сутки в сосудистой стенке (рис. 14) и плазме (рис. 15), при моделировании ишемии-реперфузии - 3, 5 и 7 сутки в сосудистой стенке (рис. 14) и с 1 по 7 сутки в плазме (рис.15).



	ишемия	ишемия-реперфузия
контроль	2,23[1,50;4,97]	2,23[1,50;4,97]
1 сутки	3,08[1,13;8,41]	2,53 [2,1;5,9]
3 сутки	18,01[11,94;26,38]* p=0,001	8,4 [5,1;8,3]* p=0,03
5 сутки	86,80[63,11;95,34]* p=0,001	45,63 [21,3;64,1]* p=0,001
7 сутки	2,37[1,04;4,08]	43,67 [28,1;52,7]* p=0,001

Примечание: *- статистически значимые отличия от контрольной группы

Рис. 14. Оценка окислительной модификации белков сосудистой стенки при ишемии (слева) и ишемии-реперфузии (справа), у.е./г белка



Примечание: *- статистически значимые отличия от контрольной группы ($p < 0,05$)

Рис. 15. Оценка окислительной модификации белков плазмы при ишемии (слева) и ишемии-реперфузии (справа), у.е./г белка

С целью оценки степени повреждения белковых молекул проводили анализ доли первичных и вторичных маркеров окислительного стресса. Из приведенных результатов следует, что при моделировании ишемии нарастает доля первичных маркеров относительно показателей контрольной группы на 3 и 5 сутки (табл. 5) в сосудистой стенке и плазме, а при моделировании ишемии-реперфузии преобладают вторичные маркеры на 3, 5 сутки (табл. 5) в сосудистой стенке, а в плазме еще и на 7 сутки, что свидетельствует об усугублении окислительного стресса и переходе в позднюю стадию.

При анализе полученных данных были выявлены прямые корреляционные связи между общей площадью под кривой окислительной модификации белков и общей активностью катепсина L плазмы при ишемии на 3, 5 сутки, в сосудистой стенке – для катепсинов В и L на 5 сутки, при ишемии-реперфузии - на 3 сутки для катепсина L плазмы и на 5 сутки для катепсина В и L сосудистой стенки (табл. 6,7), что свидетельствует о существовании взаимосвязи между развитием окислительного стресса и активацией катепсина L плазмы и катепсинов В и L сосудистой стенки.

**Значения доли первичных и вторичных маркеров (%)
окислительного стресса при ишемии и ишемии-реперфузии
в сосудистой стенке и плазме**

	ишемия		ишемия-реперфузия	
	Первичные маркеры (АДНФГ)	Вторичные маркеры (КДНФГ)	Первичные маркеры (АДНФГ)	Вторичные маркеры (КДНФГ)
сосудистая стенка				
контроль	69,5 [57,6;74,2]	30,5[25,3;34,7]	69,5 [57,6;74,2]	30,5[25,3;34,7]
1 сутки	77,5[72,1;81,2]	22,5[27,5;32,9]	74,5[70,9;85,9]* p=0,03	25,5[21,2;31,4]* p=0,03
3 сутки	81,9[78,4;85,6]* p=0,002	18,1[15,4;20,1]* p=0,002	31,8[25,6;35,7]* p=0,001	68,2[61,4;72,9]* p=0,001
5 сутки	90[84,2;92,7]* p=0,001	10[8,1;13,6]* p=0,001	33,2[21,4;36,9]* p=0,001	66,8[59,9;72,7]* p=0,001
7 сутки	61,8[52,4;65,9]	38,2[23,7;42,9]	87,6[75,8;90,9]* p=0,031	12,4[10,3;15,8]* p=0,03
плазма				
контроль	73,4[70,3;78,2]	26,6[24,2;28,2]	73,4[70,3;78,2]	26,6[24,2;28,2]
1 сутки	73,4[71,3;79,1]	26,6[23,8;27,9]	76,7[72,3;79,3]	23,3[20,2;26,1]
3 сутки	82,5[79,3;85,7]* p=0,02	17,5[15,6;19,1]* p=0,02	61,6[64,1;76,8]* p=0,03	38,4[31,5;40,2]* p=0,03
5 сутки	78,1[74,2;81,9]* p=0,031	21,9[19,3;26,5]* p=0,031	62,6[60,1;74,9]* p=0,001	37,4[34,1;41,7]* p=0,001
7 сутки	74,5[71,2;77,1]	25,5[23,1;27,6]	55,7[51,3;59,6]* p=0,001	44,3[41,3;47,3]* p=0,001

АДНФГ – альдегид-динитрофенилгидразоны, КДНФГ – кетон-динитрофенилгидразоны

**Активность катепсина В и L сосудистой стенки и плазмы
при экспериментальной ишемии и ишемии-реперфузии**

		ишемия		ишемия-реперфузия	
		Сосудистая стенка, нмоль/сек × г ткани	Плазма, нмоль амидо-метилкумарина/сек × г белка	Сосудистая стенка нмоль/сек × г ткани	Плазма, нмоль амидо- метилкумарина/сек × г белка
катепсин В	контроль	0,29[0,24;0,42]	4,29[3,24;6,42]	0,29[0,24;0,42]	4,29[3,24;6,42]
	1 сутки	0,04[0,03;0,08]	1,25[0,93;2,8]	0,28[0,25;0,51]	1,3[0,91;5,05]
	3 сутки	0,38[0,15;0,93]	6,38[4,15;9,93]* p=0,02	5,8[4,45;10,93]* p=0,03	6,83[5,25;10,13]* p=0,02
	5 сутки	2,11[1,02;2,32]* p=0,03	8,11[7,02;9,32]* p=0,001	6,31[4,12;16,79]* p=0,02	9,54[6,32;11,52]* p=0,03
	7 сутки	0,51[0,41;0,72]* p=0,02	4,51[4,41;8,72]	6,59[3,31;11,62]* p=0,03	5,59[4,35;10,91]* p=0,02
катепсин L	контроль	0,25[0,19;0,35]	1,25[0,9; 2,35]	0,25[0,19;0,35]	1,25[0,9; 2,35]
	1 сутки	0,17[0,06;0,38]	1,7[0,6;3,18]	0,27[0,16;0,69]	0,62[0,46;1,98]
	3 сутки	0,57[0,48;1,52]	4,57[2,48;4,52]* p=0,02	4,87[2,39;7,89]* p=0,02	4,97[2,68;7,12]* p=0,02
	5 сутки	1,97[1,85;2,34]* p=0,01	6,97[5,85;7,34]* p=0,003	6,47[4,95;14,94]* p=0,01	6,57[4,15;11,74]* p=0,01
	7 сутки	0,86[0,57;0,88]* p=0,02	4,86[2,57;6,78]* p=0,03	5,46[2,27;7,92]* p=0,02	3,75[2,42; 7,15]* p=0,02

Таким образом, в ходе проведенного исследования доказано, что при экспериментальном моделировании ишемии окислительный стресс развивается на 3, 5 сутки с преобладанием первичных маркеров и сопровождается истощением резервно-адаптационного потенциала, при этом отмечена активация катепсинов В и L плазмы и сосудистой стенки с целью удаления поврежденных белковых молекул. При экспериментальном моделировании ишемии-реперфузии окислительный стресс развивается с 1 по 7 сутки в плазме и с 3 по 7 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, 5, 7 сутки возможно вследствие развития апоптоза клетки.

Таблица 7

Коэффициенты корреляции (R) между общим содержанием карбонильных производных белков и общей активностью катепсинов В, L плазмы и сосудистой стенки при экспериментальном моделировании ишемии и ишемии-реперфузии

		катепсин В		катепсин L	
		ишемия	ишемия-реперфузия	ишемия	ишемия-реперфузия
плазма	контроль	0,36	0,24	0,45	0,33
	1 сутки	0,38	0,20	0,49	0,20
	3 сутки	0,19	-0,57	0,65*, p=0,01	0,79*, p=0,01
	5 сутки	-0,05	-0,06	0,71*, p=0,02	0,19
	7 сутки	0,2	0,19	0,23	-0,16
сосудистая стенка	контроль	0,16	0,14	0,35	-0,34
	1 сутки	0,12	-0,11	-0,24	0,15
	3 сутки	0,25	0,7	0,48	0,17
	5 сутки	0,85*, p=0,015	0,56*, p=0,03	0,61*, p=0,03	0,79*, p=0,01
	7 сутки	0,32	-0,21	0,13	0,23

Представление биохимического маркера реперфузионного повреждения сосудистой стенки

Сопоставление патоморфологических данных, полученных при изучении аорт и подвздошных артерий животных двух групп («ишемия» и «ишемия-реперфузия») показывает, что каскад патоморфологических изменений включает в себя несколько основных этапов и укладывается в традиционные представления о реактивности тканевых систем (рис. 16-17). Следует отметить, что достоверных структурных и ультраструктурных отличий в картине повреждения и реактивных изменений в группах «ишемия» и «ишемия-реперфузия» обнаружено не было. С целью оценки степени повреждения белковых молекул проводился анализ доли первичных и вторичных маркеров

окислительного стресса (рис. 18). Из приведенных результатов следует, что при моделировании ишемии-реперфузии преобладают вторичные маркеры (КДНФГ) на 3-и и 5-е сутки в сосудистой стенке.

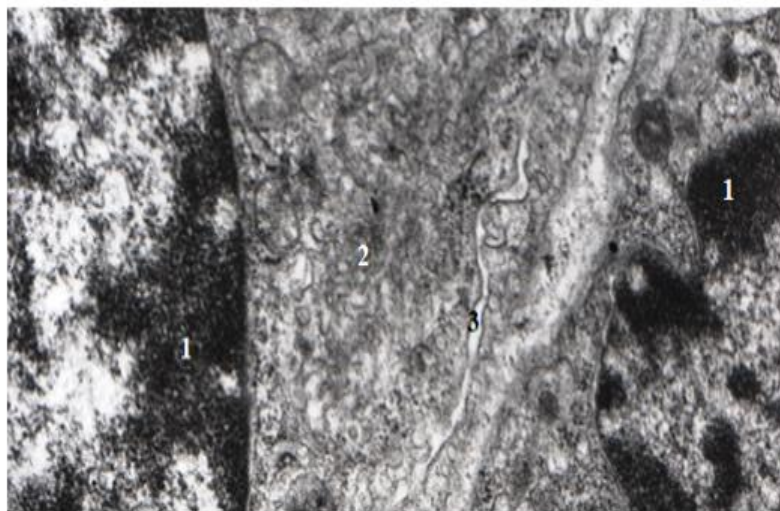


Рис. 16. Ультраструктура эндотелиоцитов крысы через 7 сут. после моделирования ишемии:

- 1 – ядра эндотелиоцитов с маргинацией гетерохроматина;
- 2 – цитоплазма эндотелиоцита с частичной деструкцией органелл;
- 3 – расширенная зона контакта соседних эндотелиоцитов. ТЭМ. Ув. $\times 4000$

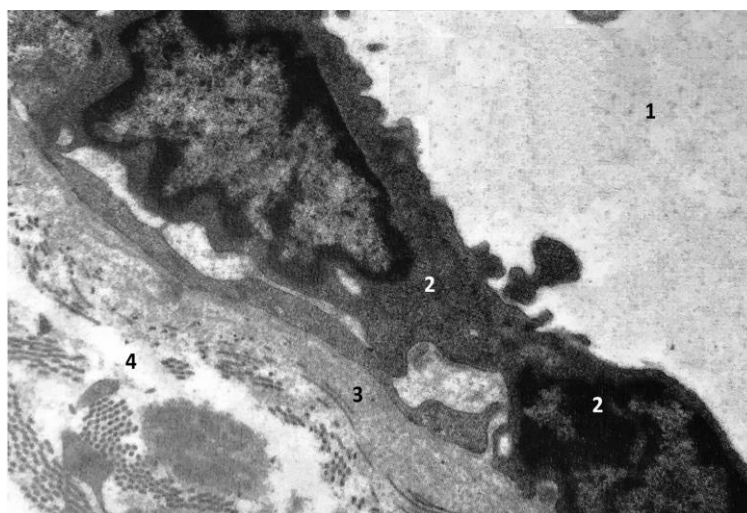


Рис. 17. Ультраструктура t. intima подвздошной артерии крысы через 7 сут. после моделирования ишемии/ реперфузии:

- 1 – просвет сосуда;
- 2 – эндотелиоциты;
- 3 – утолщенная базальная мембрана;
- 4 – отечный субэндотелиальный соединительнотканый слой. ТЭМ. Ув. $\times 4000$

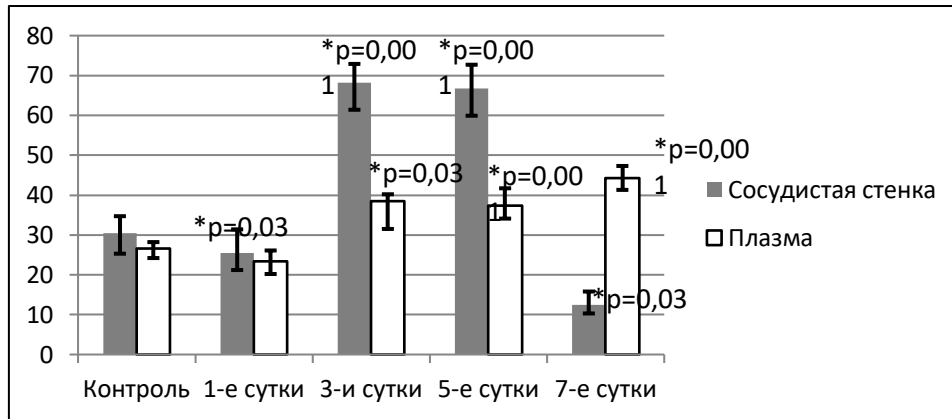


Рис. 18. Значение доли (%) вторичных маркеров окислительного стресса в сосудистой стенке (группа «ишемия-реперфузия»)

Таким образом, выявленные закономерности в исследовании позволили определить КДНФГ как маркер реперфузии в хирургии магистральных артерий конечностей и как ранний маркер реперфузионного поражения сосудистой стенки (патент РФ «Способ оценки реперфузионного повреждения сосудистой стенки в эксперименте» - №2677471).

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что после реконструктивных и восстановительных операций на магистральных артериях нижних конечностей уровень метаболитов NO достоверно снижается во всех хирургических группах на всех этапах наблюдения, составляя к конечному периоду уменьшение на 24%, 21,5%, 27% соответственно.

2. Показано, что после проведения реконструктивно-восстановительных операций на магистральных артериях нижних конечностей по поводу острой и хронической ишемии достоверно повышается 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, рост bcl-2 в послеоперационном периоде статистически достоверен во всех хирургических группах (37,8%, 31,3%, 26,7%), уровень VEGF в послеоперационном периоде

возрастает на 20% у пациентов с острой ишемией, а у пациентов с хронической ишемией достоверно снижается на 25%.

3. 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.

4. Доказано развитие окислительного стресса у пациентов с острой ишемией конечностей на 3 и 5 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.

5. При экспериментальном моделировании ишемии показано развитие окислительного стресса на 3, 5 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 сутки в плазме и с 3 по 7 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, 5, 7 сутки.

6. Сопоставление патоморфологических данных, полученных при изучении аорт и подвздошных артерий экспериментальных животных двух групп, показывает, что каскад патоморфологических изменений включает в себя несколько основных этапов и укладывается в традиционные представления о реактивности тканевых систем.

7. Выявленные закономерности в экспериментальном исследовании позволили установить, что определение кетон-динитрофенилгидразонов

сосудистой стенки является маркерным для ранней диагностики реперфузионного повреждения сосудистой стенки.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. 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).

2. 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.

3. 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.

4. Проявление любого клинического либо биохимического признака реперфузионного поражения сосудистой стенки диктует необходимость и важность диспансерного 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.

5. 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.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных изданиях:

1. **Пшенников А.С.** Динамика некоторых биохимических показателей у больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей в различные сроки после реконструктивных операций / Р.Е. Калинин И.А. Сучков, **А.С. Пшенников**, А.А. Никифоров // Российский медико-биологический вестник им. акад. 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, И.А. Сучков, **А.С. Пшенников**, М.В. Мнихович, А.А. Герасимов // 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 [Текст] / Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников**, И.А. Сучков // Новости хирургии, Республика Беларусь. - 2015.- Vol. 23, № 1.- Р.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, Республика Беларусь. - 2015.- Vol. 23, № 3.- Р. 348-352.
8. **Пшенников А.С.** Состояние функции эндотелия при артериальных реконструкциях в эксперименте в зависимости от вида синтетических заплат / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, **А.С. Пшенников**, А.А. Герасимов, М.В. Мнихович // 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, И.А. Сучков, **А.С. Пшенников**, Н.Д. Мжаванадзе, А.А. Крылов, И.Л. Плакса, Р.В. Деев // 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**, Ю.В. Абаленихина, И.А. Сучков, С.А. Исаков // 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**, Ю.В. Абаленихина, И.А. Сучков, Н.Д. Мжаванадзе, С.А. Исаков // 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, Ю.В. Абаленихина, Н.Д. Мжаванадзе // 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, Н.Д. Мжаванадзе, С.А. Виноградов//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 им. акад. И.П. Павлова. - 2018.- Т. 26, №2.- С.184-194.

Публикации в других изданиях:

16. **Пшенников А.С.** Значение некоторых биохимических показателей в оценке эндотелиальной дисфункции у больных, оперированных по поводу облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей / **А.С. Пшенников**, Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, А.А. Никифоров // Материалы ежегодной научной конференции Рязанского ГМУ им. И.П. Павлова. - Рязань, 2011. - С.61-63.

17. **Пшенников А.С.** Клиническая интерпретация морфологических изменений в зоне сосудистого анастомоза/ Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, **А.С. Пшенников** // Материалы 23-й Международной конференции: Актуальные вопросы сосудистой хирургии, Санкт-Петербург, 2012. - Ангиология и сосудистая хирургия. - 2012. - Т.18, №2.- С.164-165.

18. **Pshennikov A.S.** Correction of endothelial dysfunction in patients with peripheral arterial disease / R.E. Kalinin, **A.S. Pshennikov** I.A. Suchkov, N.D. Mzhavanadze // Book of abstracts 19th International student congress of (bio) medical sciences (ISCOMS) / University Medical Center Groningen.- Netherlands, 2012.- P.472.

19. **Пшенников А.С.** Варианты коррекции эндотелиальной дисфункции в комплексном лечении облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, **А.С. Пшенников**, А.А. Герасимов //

Материалы 29-й Международной конференции Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов: Новые направления и отдаленные результаты открытых и эндоваскулярных вмешательств в лечении сосудистых больных. - Рязань, 2014. - Ангиология и сосудистая хирургия. - 2014. - Т.20, № 2. - С. 159-160.

20. **Пшенников А.С.** Защита тканей в хирургии артерий нижних конечностей / Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников**, И.А. Сучков, А.А. Никифоров // Материалы межрегиональной научной конференции с Международным участием Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова. - Рязань: РИО РязГМУ, 2014. - С. 65-69.

21. **Пшенников А.С.** Значение коррекции нарушения функции эндотелия в прогнозе реконструктивных операций / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, **А.С. Пшенников**, А.А. Герасимов // Материалы межрегиональной научной конференции с Международным участием Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П. Павлова. - Рязань: РИО РязГМУ, 2014. - С. 69-72.

22. **Пшенников А.С.** Белки теплового шока как адаптационный механизм в реконструктивно-восстановительной хирургии на магистральных артериях нижних конечностей / Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников**, И.А. Сучков // Проблемы и перспективы лечения мультифокального атеросклероза: Материалы IX научно-практической конференции ЦФО с участием ведущих специалистов России. - Тверь: РИЦ ТГМА, 2014. - С. 30-35.

23. **Пшенников А.С.** Гуморальные пути адаптации к ишемическому синдрому в реконструктивной хирургии магистральных артерий/ Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников**, И.А. Сучков // Тезисы докладов и сообщений 20-го Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов: Сердечно-сосудистые заболевания. - Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. - 2014.- Т. 15, №6.- С. 294. - Москва, 2014.

24. **Пшенников А.С.** Изучение потенциальных факторов лейкоцитарной и тромбоцитарной агрессии к артериальному эндотелию в эксперименте в условиях ишемии и реперфузии нижних конечностей / **А.С. Пшенников** // Материалы III молодежного медицинского форума «MedWAYS-перспективные научные направления-2014» (финал общероссийского научно-практического мероприятия «Эстафета вузовской науки – 2014», 4-5 декабря 2014г.) /Москва, ПМГМУ. - 2014.

25. **Pshennikov A.S.** Dynamics of heat-shock proteins (HSP 70) levels at different time points after arterial reconstructive surgery of the lower extremity [Text] / R.E. Kalinin, **A.S. Pshennikov**, I.A. Suchkov, N.D. Mzhavanadze // Spring Meeting in London (16-17 May 2014). - London, 2014. - P. 21.

26. **Пшенников А.С.** Биохимический анализ работы стресс-лимитирующей системы в хирургии магистральных артерий нижних конечностей на клинических примерах / Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников**, И.А. Сучков, А.А. Никифоров// Тезисы научных статей XII съезда хирургов России, Ростов н/Д.,

7-9 октября 2015 г. - Альманах института хирургии имени А.В. Вишневского. - М., 2015.- С. 780-781.

27. **Пшенников А.С.** Взаимосвязь биохимического статуса и морфологических изменений сосудистой стенки при артериальных реконструкциях на фоне моделирования эндотелиальной дисфункции/ Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, **А.С. Пшенников**, А.А. Герасимов, М.В. Мнихович // Материалы XXXI Международной конференции Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов: Избранные страницы сосудистой хирургии. - Ангиология и сосудистая хирургия. 2015. - Т. 21, № 4 (Приложение). –С 231.

28. **Пшенников А.С.** Возможные механизмы адаптации к ишемии и реперфузии в хирургии магистральных артерий/ Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников**, И.А. Сучков // Материалы XXX Международной конференции Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов: Новые направления в лечении сосудистых больных. - Ангиология и сосудистая хирургия. - 2015. - Т. 21. -№ 2 (Приложение). - С. 263-264.

29. **Пшенников А.С.** Клинический пример реперфузионного повреждения конечности в восстановительной хирургии магистральных артерий / **А.С. Пшенников**, И.А. Сучков, А.А. Камаев // Актуальные вопросы современной медицины: Взгляд молодого специалиста: Материалы Всероссийской научной конференции студентов и молодых специалистов. - Рязань, 2015. - С. 68-70.

30. **Пшенников А.С.** Морфологические изменения сосудистой стенки при артериальных реконструкциях с использованием различных типов синтетических материалов / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, А.А. Герасимов, **А.С. Пшенников**, М.В. Мнихович // Материалы XXX Международной конференции Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов: Новые направления в лечении сосудистых больных. - Ангиология и сосудистая хирургия. – 2015. - Т. 21. -№ 2 (Приложение). - С. 254-255.

31. **Пшенников А.С.** Оценка биохимических и морфологических изменений в зоне артериальной реконструкции при использовании различных типов пластических материалов (экспериментальное исследование) / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, **А.С. Пшенников**, М.В. Мнихович, Е.В. Киселева // Тезисы научных докладов XII съезда хирургов России, Ростов н/Д., 7-9 октября 2015 г. - Альманах института хирургии имени А.В Вишневского. - М., 2015.- С. 1069-1070.

32. **Пшенников А.С.** Прогностический маркер течения постишемического синдрома в хирургии магистральных артерий / Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников**, И.А. Сучков, А.А. Никифоров // Тезисы докладов и сообщений 21-го Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов, Москва, 2015 г.: Сердечно-сосудистые заболевания. - Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. - 2015. - Т.16, №6. - С. 101.

33. **Пшенников А.С.** Работа стресс-лимитирующей системы в хирургии магистральных артерий нижних конечностей / Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников**, И.А. Сучков, А.А. Никифоров, А.А. Камаев// Тезисы,

- представленные на XII Съезд хирургов России, Ростов н/Д., 7-9 октября 2015 г. - Альманах института хирургии имени А.В. Вишневского. - М., 2015.- С. 788.
34. **Pshennikov A.S.** Humoral Mechanisms of Adaptation to Ischemia and Reperfusion in Lower Extremity Arterial Reconstructive Surgery / R.E. Kalinin **A.S. Pshennikov**, I.A. Suchkov, N.D. Mzhavanadze // The journal of cardiovascular surgery.- 2015.- Vol. 56, № 2 (Suppl.1).- P.11.- (Cont.: The 64th International Congress of the European Society of Cardiovascular and Endovascular Surgery ESCVS: abstract book).
35. **Пшенников А.С.** Активность катепсинов В, L В стенке артерии (эксперимент) / Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников**, Ю.В. Абаленихина, И.А. Сучков, А.А. Крылов, К.С. Кондрашова // 9-я Международная конференция «Дисфункция эндотелия. Экспериментальные и клинические исследования»: Материалы конференции. - Витебск, 2016. - С. 183-185.
36. **Пшенников А.С.** Динамика биохимических маркеров дисфункции эндотелия как критерий эффективности эндотелиотропной терапии при артериальных реконструкциях с использованием различных видов синтетических заплат (экспериментальное исследование) / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, А.А. Герасимов, **А.С. Пшенников**, М.В. Мнихович, Н.В. Архипкина, Е.В. Киселева // Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева, ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России. – Рязань: РИО РязГМУ, 2016. – С.150-153.
37. **Пшенников А.С.** Изучение реперфузионного повреждения стенки артерии в эксперименте / Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников**, И.А. Сучков, Ю.В. Абаленихина // Тезисы докладов и сообщений 22-го Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов: Сердечно-сосудистые заболевания, Москва, 2016 г.-Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. - 2016.- Т. 17. - №6.- С. 89.
38. **Пшенников А.С.** Роль окислительного стресса на артериальный эндотелий в условиях ишемии и реперфузии в эксперименте / Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников**, И.А. Сучков //Материалы XXXII Международной конференции Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов: Открытые и эндоваскулярные операции в сосудистой хирургии. - Ангиология и сосудистая хирургия. - 2016. - Т. 22, № 2 (Приложение). - С. 147-148.
39. **Пшенников А.С.** Морфологические и биохимические особенности ишемии и реперфузии в эксперименте/ Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников**, И.А. Сучков, Ю.В. Абаленихина //Материалы Республиканской научно-практической конференции (с международным участием): «Актуальные вопросы сердечно-сосудистой и эндоваскулярной хирургии», Душанбе, 11 ноября 2016 г. – Душанбе: РНЦССХ, 2016. - С.72-73.
40. **Пшенников А.С.** Прогностическое значение биохимических маркеров эндотелиальной дисфункции в реконструктивной хирургии магистральных артерий (экспериментальное исследование) / Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников**, И.А. Сучков, А.А. Герасимов, **А.С. Пшенников**, М.В. Мнихович // 9-я Международная конференция «Дисфункция эндотелия. Экспериментальные и

клинические исследования»: Материалы конференции. - Витебск, 2016. - С. 135-137.

41. **Пшенников А.С.** Активность лизосомальных цистеиновых протеиназ в условиях экспериментального моделирования ишемии / **А.С. Пшенников**, Ю.В. Абаленихина, О.Н. Сучкова // Материалы ежегодной научной конференции Рязанского ГМУ им. академика И.П. Павлова. - Рязань: РИО РязГМУ, 2016. - С. 35-37.

42. **Пшенников А.С.** Индуцируемая и спонтанная окислительная модификация белков как показатели резорвно-адаптационного потенциала в стенке аорты при экспериментальной ишемии/ **А.С. Пшенников**, Ю.В. Абаленихина // Материалы ежегодной научной конференции Рязанского ГМУ им. акад. И.П. Павлова / Рязань: РИО РязГМУ. - 2016. - С. 37-40.

43. **Пшенников А.С.** Сравнительный анализ окислительного стресса в экспериментальных моделях ишемического и реперфузионного повреждения эндотелия / **А.С. Пшенников**, Ю.В. Абаленихина //Актуальные вопросы современной медицины: Материалы II Всероссийской научной конференции ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. – Рязань, 2016. - С. 276-278.

44. **Пшенников А.С.** Биохимический и морфологический анализ постишемического синдрома в эксперименте / **А.С. Пшенников**, Ю.В. Абаленихина, А.А. Камаев // Актуальные вопросы современной медицины: Материалы II Всероссийской научной конференции ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. – Рязань, 2016. - С. 274-276.

45. **Пшенников А.С.** Изучение влияния окислительного стресса на артериальный эндотелий в эксперименте / **А.С. Пшенников**, Ю.В. Абаленихина, К.С. Кондрашова // Тезисы докладов XX Ежегодной сессии научного центра сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева Минздрава России с Всероссийской конференцией молодых учёных, Москва, 2016 г.: Сердечно-сосудистые заболевания: Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. - 2016. - Т. 11, №3.- С.66.

46. **Пшенников А.С.** Роль окислительного стресса в хирургии магистральных артерий / Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников**, И.А. Сучков, Ю.В. Абаленихина// Тезисы докладов и сообщений 22-го Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов, Москва, 2016г.: Сердечно-сосудистые заболевания// Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. - 2016.- Т. 17, №6.- С. 97.

47. **Пшенников А.С.** Шапероны в сосудистой хирургии / Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников**, И.А. Сучков, К.С. Кондрашова // Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева: Материалы Всероссийской научно-практической конференции. – Рязань: РИО РязГМУ, 2016. – С. 51-56.

48. **Pshennikov A.S.** Effects of oxidative stress on the arterial endothelium in the experimental ischemia-reperfusion injury [Text] / R.E. Kalinin, **A.S. Pshennikov**, I.A. Suchkov, Y.V. Abalenikhina, N.D. Mzhavanadze // Abstracts book 27th World Congress of the International Union of Angiology (Lyon, France, 5-8 October 2016).- Lyon, France, 2016.- P.205-206.

49. **Pshennikov A.S.** Interrelations between oxidative carbonylation of proteins and lysosomal proteolysis in experimental ischemia-reperfusion injury / R.E. Kalinin, **A.S. Pshennikov**, I.A. Suchkov, Y.V. Abalenikhina, N.D. Mzhavanadze // The journal of cardiovascular surgery.- 2017.- Vol. 58, № 3 (Suppl.2).- P. 14-15.- (Cont.: The 66th International Congress of the European Society of Cardiovascular and Endovascular Surgery ESCVS: abstract book).
50. **Пшенников А.С.** NO, Hsp70 на различных этапах хирургии магистральных артерий / Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников**, И.А. Сучков, С.А. Виноградов // Тезисы докладов Первого съезда хирургов Центрального федерального округа Российской Федерации, Рязань, 27-29 сентября 2017 г. -Альманах института хирургии имени А.В. Вишневского. – М. -2017.- С. 283-284.
51. **Пшенников А.С.** Изучение биохимических маркеров тканевой адаптации в хирургии магистральных артерий / Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников**, И.А. Сучков //Материалы XXXIII Международной конференции Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов: Отдаленные результаты и инновации в сосудистой хирургии. -Ангиология и сосудистая хирургия. - 2017. - Т. 23, № 2 (Приложение). - С.163-164.
52. **Пшенников А.С.** Морфологическая оценка артериального эндотелия на лабораторных животных в моделях ишемии и реперфузии / Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников**, Р.В. Деев // Тезисы докладов и сообщений 23-го Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов, Москва, 2017 г.: Сердечно-сосудистые заболевания. - Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. - 2017. - Т. 18, №6.- С. 102.
53. **Пшенников А.С.** Экспериментальное представление возможных маркеров «No-reflow» в хирургии магистральных артерий / Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников**, И.А. Сучков // Ангиология и сосудистая хирургия. - 2017. - Т. 23, № 2 (Приложение). - С. 162-163.
54. **Пшенников А.С.** Маркеры феномена «NO-REFLOW» в хирургии магистральных артерий / Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников**, И.А. Сучков, А.А. Камаев, А.А. Крылов // Тезисы докладов Первого съезда хирургов Центрального федерального округа Российской Федерации, Рязань, 27-29 сентября 2017 г. - Альманах института хирургии имени А.В. Вишневского. – М.,2017.- С. 282-283.
55. **Пшенников А.С.** Оценка морфологических изменений артериального эндотелия на фоне ишемического и реперфузионного повреждений / **А.С. Пшенников**, Р.В. Деев // Инновационные технологии в медицине: Взгляд молодого специалиста. - ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России. - 2017. - С. 146-148.
56. **Pshennikov A.S.** Morphological assessment of vascular wall in ischemia reperfusion model / R.E. Kalinin, **A.S. Pshennikov**, I.A. Suchkov, N.D. Mzhavanadze, M.V. Mnikhovich, R.V. Deev // The 26th Annual Meeting of the Asian Society for Cardiovascular and Thoracic Surgery: lectures/abstracts (Moscow, 2018).- Moscow, 2018.- P.253.

Публикации Роспатента – Патенты на изобретения:

1. № 2524667 Рос. Федерация. 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 / **Пшенников А.С.**, Калинин Р.Е., Сучков И.А., Абаленихина Ю.В.); РязГМУ им. акад. И.П. Павлова.

Учебные пособия

1. **Пшенников А.С.** Ишемические болезни в практике семейного врача: учебное пособие / Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников** [и др.]. -М.: Издат. группа «ГЕОТАР-МЕД», 2016. -208 с.
2. **Пшенников А.С.** Основы ангиологии: учебное пособие: учебное пособие [Текст] / Р.Е. Калинин, **А.С. Пшенников**, И.А. Сучков, Р.В. Деев, Н.Д. Мжаванадзе; под ред. Р.Е. Калинина. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. - 112 с.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АДНФГ	альдегид-динитрофенилгидразоны
БАБШ	бифуркационное аорто-бедренное шунтирование
БПШ/БПП	бедренно-подколенное шунтирование/протезирование
И/Р	ишемия/реперфузия
КДНФГ	кетон-динитрофенилгидразоны
КИ	критическая ишемия
ЛПИ	лодыжечно-плечевой индекс
МЦР	микроциркуляторное русло
ОМБ	окислительно модифицированные белки
ПБА	поверхностная бедренная артерия
РФФИ	Российский фонд фундаментальных исследований
РЭД	рентгенэндоваскулярная дилатация
ТЭМ	трансмиссионная электронная микроскопия
УЗДСММ	ультразвуковая доплеровская сфигмоманометрия
ФСЭ	функциональное состояние эндотелия
ЭД	эндотелиальная дисфункция
ЭК	эндотелиальная клетка
Bcl2	<i>B-cell lymphoma 2</i> , антиапоптотический белок
ESCVS	International Congress of the European Society of Cardiovascular and Endovascular Surgery
HSP70	белки теплового шока 70
NO	оксид азота
NYHA	New York Heart Association
TASC II	Trans Atlantic Inter-Society Consensus II (2007)
VEGF	Vascular endothelial growth factor , фактор роста сосудистого эндотелия

Научное издание

Пшенников Александр Сергеевич

**Реализация ишемии и реперфузии в хирургии магистральных артерий
нижних конечностей**

14.01.26 – Сердечно-сосудистая хирургия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
дотора медицинских наук

Формат 60x84/16.
Бумага писчая. Гарнитура Times. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 3. Тираж 100 экз.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, 9

Отпечатано в отделе технического сопровождения и оперативной полиграфии
управления информационных технологий, телекоммуникаций и оперативной полиграфии
ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России
390026, г. Рязань, ул. Т. Шевченко, 34
Тел.: 8(4912) 46-08-72