

Изучение потенциальных факторов лейкоцитарной и тромбоцитарной агрессии к артериальному эндотелию в эксперименте в условиях ишемии и реперфузии нижних конечностей.

Актуальность исследования. Ишемия и реперфузия – два самостоятельных синдрома с которыми сталкиваются сосудистые хирурги в повседневной клинической практике. Разработаны национальные рекомендации по ведению пациентов с заболеваниями артерий нижних конечностей, Trans-Atlantic Inter-Society Consensus, в которых представлены механизмы и пути коррекции ишемии консервативными и хирургическими методами, а способы коррекции реперфузионного ответа не раскрыты в представленных документах.

Реперфузия ткани, находящейся ранее в состоянии ишемии, хотя и является необходимой для предотвращения необратимых повреждений, вызывает ответную реакцию в микрососудах, которая очень сходна с процессом воспаления. Эти ответные реакции сосудов в сочетании с повреждением эндотелиальных клеток приводят к развитию реперфузионного повреждения, которое может вызывать не только функциональную перестройку тканей, но и их гибель. В основе повреждения тканей при ишемии/реперфузии лежит усиленное привлечение в постишемические сосуды лейкоцитов и тромбоцитов. Продукты активации этих клеток и эндотелиальных клеток в конечном счете приводят к расширению межэндотелиальных контактов дополнительно к диссоциации белковых контактов и сокращениям цитоскелета. Не возникает сомнения, что фаза ишемии вызывает повреждение эндотелия сосудов. Однако фаза реперфузии не является просто запоздалым проявлением эндотелиального повреждения, происходящего во время ишемии и носит свой патогенетический механизм поражения эндотелиального монослоя.

Цель. Изучить факторы лейкоцитарной и тромбоцитарной агрессии к артериальному эндотелию в эксперименте в условиях ишемии и реперфузии нижних конечностей.

Задачи.

1. Постановка двух экспериментальных моделей ишемии и ишемии/реперфузии на лабораторных животных.
2. Определить уровень активности лизосомальных цистеиновых протеиназ, степень аутокаталитического действия катепсинов в исследуемых группах в различные сроки после операционного вмешательства.
3. Изучить цитоархитектуру и воспалительную реакцию эндотелиального монослоя в изучаемых группах с использованием электронной и световой микроскопии в различные сроки после операционного вмешательства.
4. Оценить и сравнить ишемическое и реперфузионное повреждение эндотелия дистальнее зоны «поражения» артерии.

Материалы и методы.

Объект исследования. Конвенциональные половозрелые крысы-самцы линии Wistar массой 280-320 граммов (60 особей).

Моделирование. В исследование войдут две группы животных. В первой будет сформирована модель ишемии нижней конечности (перевязка одной общей подвздошной артерии). Во второй группе – модель реперфузии, после 8-10 часового пережатия подвздошной артерии кровоток будет возобновлен в поврежденную конечность. Выведение животных из эксперимента будет осуществляться на первые, третьи, пятые сутки после операции (Приложение 1,2,3).

Материал для исследования. Плазма, тромбоциты, полиморфноядерные и моноядерные лейкоциты периферической крови, а также срезы и гомогенаты стенок сосудов ниже зоны лигирования.

Получение материала для исследования.

Плазма, тромбоциты полиморфноядерные и моноядерные лейкоциты выделяются из ЭДТА-стабилизированной крови непосредственно после её получения путем дифференциального центрифугирования на градиенте

плотности верографин-полиглюкин. После фракционирования суспензии клеток отмываются 0,9% раствором хлорида натрия с последующим ресуспендированием и подсчетом количества клеток в 1 мл суспензии. После подсчета для разрушения клеток и субклеточных мембран в суспензию добавляют раствор Тритона X-100 в конечной концентрации 0,1% и подготовленный материал замораживают для окончательного разрушения мембран. Размороженные суспензии используют в качестве материала для дальнейшего исследования.

Гомогенаты стенки сосудов. Материалом для исследования у каждого животного служат участок артерии ниже места лигирования и симметричный участок артерии другой конечности (в качестве контроля). Немедленно после выведения животного из эксперимента извлеченные сосуды очищают от жировой ткани и взвешивают на электронных весах, далее измельченную ткань сосуда помещают в холодный 0,25 М раствор сахарозы в соотношении 1/100 и гомогенизируют в течение 60 секунд при 1500 об/мин в гомогенизаторе «Potter S» производства фирмы «Sartorius Stedium Biotech, GmbH» (Германия). Описанные процедуры проводят при температуре не выше 4°C. Полученный гомогенат центрифугируют 10 мин при 1000 g для осаждения не полностью разрушенных клеток и ядер. Супернатант обрабатывают раствором Тритона X-100 в конечной концентрации 0,1% для разрушения субклеточных мембран и используют в качестве материала для дальнейшего исследования.

Определение активности лизосомальных цистеиновых протеиназ.

Активность катепсинов В, L и Н будет изучаться спектрофлуориметрическим методом (System 3 Scanning Spectrofluorometr, Optical technology devices, inc. Elmstord, New York, 10523) по Barrett & Kirschke (1981). Принцип метода – количественное определение 7-амидо-4-метилкумарина, высвобождающегося в результате энзиматического гидролиза пептидной связи $N\alpha$ -CBZ-Arg-Arg-7-amido-4-methylcoumarin («Sigma», США) для катепсина В, $N\alpha$ -CBZ-Phe-Arg-7-amido-4-

methylcoumarin («Sigma», США) для катепсина L, Arg-7-amido-4-methylcoumarin («Sigma», США) для катепсина H («Sigma», США). Преимущества данного метода связаны с высокой чувствительностью и специфичностью используемых субстратов. В качестве стандартного раствора использовали 7-amido-4-methylcoumarin (Sigma, США), растворенный в диметилсульфоксиде (Вектон, Санкт-Петербург). Удельную активность катепсинов в гомогенатах стенок сосудов выражали в нмоль амидо-метилкумарина/сек×г белка и нмоль/сек×г ткани; в тромбоцитах, полиморфноядерных и моноядерных лейкоцитах – в нмоль/сек×10⁶ клеток; в плазме крови – в нмоль/сек×л. Определение содержания белка в пробах осуществляется по методу Лоури коммерческим набором НПЦ «Эко-сервис» (Санкт-Петербург).

Метод определения степени аутокаталитического действия катепсинов.

Для определения степени аутокаталитической активации катепсинов реакционную смесь, включающую 8 мМ ДТТ, 2 мМ ЭДТА и 0,1 мл исследуемого материала, преинкубируют в течение 15 минут при 37⁰ С, после чего к ней добавляют 20 мкМ Nα-CBZ-Arg-Arg-7-amido-4-methylcoumarin для катепсина B, N-CBZ-Phe-Arg-7-амидо-4-метилкумарина для катепсина L и Arg-7-amido-4-methylcoumarin для катепсина H и инкубировали 60 минут при 37⁰ С (Борискина М.А., 1996). Степень аутокаталитической активации катепсинов оценивают по коэффициенту отношения значения активности фермента после прекаталитической инкубации к параллельно определяемому значению активности без преинкубации (K_{aca} – коэффициент аутокаталитического действия).

Электронная и световая микроскопия.

Выделенный сосудистый пучок фиксируется в 10% растворе нейтрального забуференного формалина (фосфатный буфер, pH=7,2–7,4), обезвоживается в серии этанолов возрастающей концентрации, с применением изопропанола, заливали в парафин. Изготавливаются тотальные серии срезов (10 мкм), которые окрашиваются гематоксилином и

эозином (“Biovitrum”, Россия). Гистологические срезы также окрашиваются пикрофуксином по ван Гизону и по методу Маллори по общепринятой методике. Морфологическое исследование будет проведено с помощью микроскопа Leica DMI 4000 B с видеозахватом камерой Leica. В дополнение к стандартной световой микроскопии будет использована трансмиссионная электронная микроскопия. Фрагменты сосудистой стенки фиксируются в 2,5% растворе глутаральдегида (“Fluka”, Швейцария) с постфиксацией в 1% растворе OsO₄ (“Fluka”, Швейцария). Контрастирование проводится 2,5% спиртовым раствором (70° этиловый спирт) уранила ацетата (“Fluka”, Швейцария). Подготовленные кусочки заливают в смесь смол Эпона и Аралдита М (“Fluka”, Швейцария). Полутонкие срезы окрашиваются азуром II и эозином. Ультратонкие срезы дополнительно контрастируются солями свинца и уранилаацетатом по Рейнольдсу. Изучение препаратов будет проведено на трансмиссионном электронном микроскопе “Libra 120” с автоматическим сканированием изображений (“Carl Zeiss”, Германия).

Научный коллектив.

1) Руководитель проекта –

- a) ФИО - Пшенников Александр Сергеевич;
- b) Дата рождения - 10.10.1985;
- c) Ученая степень - кандидат медицинских наук; год присвоения – 2012;
№ диплома ВАК № ДКН-161056;
- d) Ученое звание – нет;
- e) Место работы – ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, кафедра ангиологии, сосудистой, оперативной хирургии и топографической анатомии;
- f) Должность – ассистент;
- g) Тема диссертации – «Эндотелиотропная терапия в комплексном лечении облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей»;

h) Адресс электронной почты – pshennikov1610@rambler.ru

2) Соисполнитель -

a) ФИО – Абаленихина Юлия Владимировна;

b) Дата рождения – 22.11.1988;

c) Ученая степень - нет;

d) Ученое звание – нет;

e) Место работы – ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, кафедра биологической химии с курсом клинической лабораторной диагностики ФДПО;

f) Должность – старший преподаватель;

g) Тема диссертации – «Окислительная модификация белков и лизосомальный цистеиновый протеолиз иммунокомпетентных органов крыс в условиях модулирования синтеза оксида азота» утверждена;

h) Адресс электронной почты – abalenihiina88@mail.ru

3) Соисполнитель -

a) ФИО – Камаев Алексей Андреевич;

b) Дата рождения - 14.07.1990;

c) Ученая степень - нет;

d) Ученое звание – нет;

e) Место работы – ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, кафедра ангиологии, сосудистой, оперативной хирургии и топографической анатомии;

f) Должность – ординатор;

g) Тема диссертации – не утверждена;

h) Адресс электронной почты – kamaev.rgmu@yandex.ru

4) Соисполнитель -

a) ФИО – Теплов Семен Александрович;

b) Дата рождения – 05.11.1999;

c) Ученая степень - нет;

d) Ученое звание – нет;

- e) Место работы – ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России;
- f) Должность – студент 3-его курса лечебного факультета;
- g) Тема диссертации – нет;
- h) Адресс электронной почты – 555lion5345@rambler.ru.

Финансовая модель.

1	Оплата труда (в рублях)	
2	Начисления на фонд оплаты труда (в рублях)	
3	Приобретение предметов снабжения и расходных материалов (в рублях)	1463200.00
4	Спецоборудование для научных (экспериментальных) работ (в рублях)	
5	Командировки и служебные разъезды (в рублях)	
6	Оплата услуг связи (в рублях)	
7	Оплата услуг сторонних организаций (в рублях)	
8	Прочие текущие расходы (в рублях)	536800.00
9	ИТОГО РАСХОДОВ	2000000.00

Смета расходов.

1. Центрифуга многофункциональная *Eppendorf 5702R* охлаждаемая (скорость от 100 до 4.400 об/мин – для осаждения неразрушенных клеток и ядер): 250.000 (без ротора);
2. Угловой ротор *F-35-30-17* 30×15 мл для пробирок типа Falcon 85.000;
3. Спектрофлуориметр *СМ 2203* (ООО «Промэнерголаб»): 800.000;

4. Специфические флуорогенные субстраты для определения активности катепсинов B, L, H в исследуемых образцах:
 - a. N α -CBZ-Arg-Arg-7-amido-4-methylcoumarin («Sigma», USA) 5 мг – 8.500;
 - b. Phe-Arg-7- amido-4-methylcoumarin («Sigma», USA) 5 мг – 10.000;
 - c. Arg-7-amido-4-methylcoumarin («Sigma», USA) 5 мг - 9.700;
5. Приобретение, содержание лабораторных животных и операционные расходы – 50000;
6. Электронная и световая микроскопия – 250000 (привлечение сторонней организации – ФГБУ «НИИМЧ» РАМН).

Новизна научного исследования: Ожидаемые результаты исследования позволят раскрыть принципиально новые задачи в патогенезе ишемии/реперфузии в хирургии магистральных артерий.

Ожидаемые результаты исследования: Результаты исследования способствуют расширению теоретических знаний в сосудистой хирургии и ангиологии, способствуют представлению новых направлений терапии в реконструктивно-восстановительной хирургии артерий с позиций функционального состояния эндотелия в условиях ишемии/реперфузии.

Основные направления дальнейшего использования предполагаемых результатов: 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 и послевузовской подготовке специалистов, подготовке научно-педагогических кадров вузов. Результаты исследования окажут положительное влияние на расширение теоретических и практических знаний о функционировании эндотелия сосудов в условиях ишемии/реперфузии.

Приоритетные направления развития науки, технологий и техники Российской Федерации, развитию которых способствуют результаты научного исследования: Науки о жизни.

Критические технологии Российской Федерации, в которых возможно использование результатов научного исследования: Биомедицинские и ветеринарные технологии.

Индикаторы проекта.

Наименование индикатора	2015 г.
1. Количество основных научных публикаций, подготовленных грантополучателем (монографии, учебники, учебные пособия, статьи, тезисы докладов, другие публикации)	5
1.1 количество публикаций, индексируемых в международной информационно-аналитической системе научного цитирования Scopus	2
1.2 количество публикаций, индексируемых в российской информационно-аналитической системе научного цитирования РИНЦ	3
2. Участие грантополучателя в конференциях, школах-семинарах, выставках и симпозиумах	3
3. Количество курсов лекций, подготовленных и читаемых грантополучателем	1
4. Количество привлекаемых к НИР соисполнителей	3
5. Количество созданных в рамках реализации проекта результатов интеллектуальной деятельности, имеющих государственную регистрацию и (или) правовую охрану в Российской Федерации	1

СПИСОК
научных и учебно-методических работ ассистента кафедры ангиологии, сосудистой,
оперативной хирургии и топографической анатомии
ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, к.м.н.
Пшенникова Александра Сергеевича
по изучению функционирования эндотелия в практике сосудистой хирургии

№ П/П, название		Вид работы	Выходные данные	Кол. страниц	Соавторы
1.	Фотокалориметрический метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови.	Печатный	Астраханский медицинский журнал, том 5, №1 (приложение). Материалы 7-ой международной научно-практической конференции «Достижения фундаментальных наук в решении актуальных проблем медицины». Астрахань, 2010. С. 188-189.	2	Калинин Р.Е., Звягина В.И., Сучков И.А., Матвеева И.В.
2.	Возможности перемежающейся пневмокомпрессии у больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей.	Печатный	Материалы научной конференции университета посвященной 60-летию основания РязГМУ им. акад. И.П. Павлова на Рязанской земле. Рязань, 2010, С. 112-114	3	Швальб П.Г., Калинин Р.Е., Звягина В.И., Сучков И.А., Царегородцев А.А.
3.	Влияние перемежающейся пневмокомпрессии на функциональное состояние эндотелия у больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей.	Печатный	Материалы форума «Пироговская хирургическая неделя». СПб, 2010. С. 598-599	2	Швальб П.Г., Калинин Р.Е., Сучков И.А.
4.	Перемежающаяся пневмокомпрессия как	Печатный	Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые	1	Швальб П.Г., Калинин Р.Е.,

	один из вариантов коррекции эндотелиальной дисфункции у больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей.		заболевания». Том 11, №6, 2010. С. 134. Тезисы докладов и сообщений Шестнадцатого Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов. Москва, 2010.		Сучков И.А.
5.	Одноэтапный метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови.	Печатный	Материалы научно-практической конференции «Актуальные вопросы современной медицины: взгляд молодого специалиста» посвящённой 60-летию со дня основания РязГМУ им. акад. И.П. Павлова на Рязанской земле. Рязань, 2010, С. 183-185	3	---
6.	Корреляционная зависимость между клиническим эффектом перемежающейся пневмокомпрессии и уровнем метаболитов NO в сыворотке крови	Печатный	Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием «Дни биохимии в СПбГМУ» СПб 2011 С.16-17	2	Бельских Э.С., Фрольцов Д.В., Черепанов И.П., Богомолов А.Ю.
7.	Возможные пути коррекции эндотелиальной дисфункции у больных ОААНК	Печатный	Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием «Дни биохимии в СПбГМУ» СПб 2011 С.62-63	2	Бельских Э.С., Фрольцов Д.В., Черепанов И.П., Богомолов А.Ю.
8.	Пути повышения уровня секреции оксида азота у больных ОААНК	Печатный	Сочетанная патология в клинической практике. Сборник научных трудов, посвященный юбилею заслуженного деятеля науки РФ, проф. Гармаша Владимира Яковлевича, Рязань 2011, С.51-53	3	Калинин Р.Е.

9.	Перспективы применения препарата периндоприл у больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей.	Печатный	Материалы заседания Ассоциации хирургов Рязанской области посвященной 80-летию проф. Н.М.Епишина: В поисках оптимальных решений: новые идеи в хирургии и травматологии (Рязань, 2011) С.90-93	3	Швальб П.Г., Калинин Р.Е.
10.	Complex functional-biochemical estimation of arterial wall response to techniques in surgical treatment of obliterating atherosclerosis of lower extremity arteries	Печатный	International Symposium 2 nd Italian-Russian Congress of Surgery and Gynecology "Umbria Region of Science between East and West" abstracts and articles Italian , 2011, С. 37-43	8	P.G. Shvalb, R.E. Kalinin, I.A. Suchkov
11.	Перспективы эндотелиотропной терапии у больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей	Печатный	XI Съезд хирургов Российской Федерации, Материалы съезда, Волгоград 25-27 мая 2011, С.399.	1	Швальб П.Г., Калинин Р.Е., Сучков И.А.
12.	Гиперплазия интимы как специфическая реакция артериальной стенки на повреждение	Печатный	XI Съезд хирургов Российской Федерации, Материалы съезда, Волгоград 25-27 мая 2011, С.400.	1	Швальб П.Г., Сучков И.А., Калинин Р.Е., Левитин А.В.
13.	Possible ways of correcting endothelial dysfunction in cases with obliterating atherosclerosis of lower extremity arteries.	Печатный	Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery. vol. 12 suppl. 1, VP-47 (2011) Abstracts for European Society for Cardiovascular Surgery 60 th International Congress.	1	Kalinin R.E.
14.	Clinical picture of reparatory surgery when complicated	Печатный	Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery. vol. 12 suppl. 1, VP-117 (2011)	2	Shvalb P.G., Kalinin R.E., Suchkov I.A.

	by endothelial dysfunction.		Abstracts for European Society for Cardiovascular Surgery 60 th International Congress.		
15.	Влияние перемежающейся пневмокомпрессии на выработку оксида азота как основного маркера эндотелиальной дисфункции у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей	Печатный	Новости хирургии Том 19, 3/2011 С.77-81 Республика Беларусь, 2011	5	Швальб П.Г., Калинин Р.Е., Сучков И.А.
16.	Возможные пути стимуляции выработки оксида азота, как основного индуктора эндотелиальной дисфункции, кардиотропными лекарственными средствами у больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей.	Печатный	Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П.Павлова, Рязань 2011, №2, С.52-57	7	Швальб П.Г., Калинин Р.Е.
17.	Методы стимуляции секреции оксида азота у больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей с позиции коррекции эндотелиальной	Печатный	Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И.Пирогова, Том 6, №3, 2011, С.12-15	4	Калинин Р.Е.

	дисфункции.				
18.	Перспективы применения перемежающейся пневмокомпрессии у больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей.	Печатный	Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия Т.4, №5, С.37-39, 2011	8	Швальб П.Г., Калинин Р.Е.

19.	Значение некоторых биохимических показателей в оценке эндотелиальной дисфункции у больных, оперированных по поводу облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей.	Печатный	Материалы ежегодной научной конференции университета Рязань, 2011 С.61-63	3	Калинин Р.Е., Сучков И.А., Никифоров А.А.
20.	Оценка результатов реконструктивных операций в бедренно-подколенном сегменте	Печатный	Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». Том 12, №6, 2011. С. 110. Тезисы докладов и сообщений Семнадцатого Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов. Москва, 2011.	1	Швальб П.Г., Калинин Р.Е., Сучков И.А.
21.	Значение уровня молекул	Печатный	Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева	1	Калинин Р.Е.,

	адгезии в оценке эндотелиальной дисфункции		РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». Том 12, №6, 2011. С. 129. Тезисы докладов и сообщений Семнадцатого Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов. Москва, 2011.		Сучков И.А.
22.	К вопросу об эндотелиальном резерве у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей.	Печатный	Вестник Национального медико- хирургического центра им. Н.И.Пирогова, Том 7, №2, 2012, с.14-17	5	Калинин Р.Е., Сучков И.А.
23.	Генетический статус пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей.	Печатный	Новости хирургии, Том 20, № 1 Республика Беларусь, 2012, с.42-45	4	Калинин Р.Е., Сучков И.А., Никифоров А.А.
24.	Динамика некоторых биохимических показателей у больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей. в различные сроки после реконструктивных операций	Печатный	Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П.Павлова, Рязань 2012, №1, с.41-44	4	Калинин Р.Е., Сучков И.А., Никифоров А.А.
25.	Уровень глутатионпероксидазы у пациентов с	Печатный	Актуальные вопросы медицинской биохимии. Сборник научных трудов по материалам Всероссийской научно-	3	Калинин Р.Е., Сучков И.А., Никифоров А.А.,

	облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей.		практической конференции «Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А.Строева» С.236-238 Рязань 2012		Герасимов А.А., Новиков А.Н.
26.	Влияние полиморфизма генов на эффективность эндотелиотропной терапии (клинические наблюдения)	Печатный	Научно-практический журнал «Врач-аспирант», 1.2(50), 2012, с.318-325	8	Калинин Р.Е., Сучков И.А., Никифоров А.А.
27.	Correction of endothelial dysfunction in patients with peripheral arterial disease	Печатный	Book of abstracts 19 th international student congress of (bio) medical sciences (ISCOMS), University Medical Center Groningen, The Netherlands, p.472	1	Kalinin R.E., Suchkov I.A., Mzhavanadze N.D.
28.	Применение лекарственных средств, увеличивающих продукцию метаболитов оксида азота при облитерирующем атеросклерозе артерий нижних конечностей	Печатный	Современная медицина в Таджикистане: проблемы, достижения и перспективы развития. Материалы годовой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали ибни Сино с международным участием посвященной 90-летию профессора С.И.Рахимова. г.Душанбе, 18-мая,-2012.- с.233	1	Бельских Э.С., Фрольцов Д.В., Черепанов И.П., Тебенихин Д.В.
29.	Различия в ответе на эндотелиотропную терапию у пациентов с атеросклерозом артерий нижних конечностей в зависимости от стадии заболевания	Печатный	Современная медицина в Таджикистане: проблемы, достижения и перспективы развития. Материалы годовой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали ибни Сино с международным участием посвященной 90-летию профессора С.И.Рахимова. г.Душанбе, 18-мая,-2012.- с.234-235	2	Сучков И.А.
30.	Клиническая интерпретация	Печатный	Ангиология и сосудистая хирургия. Актуальные вопросы сосудистой	2	Калинин Р.Е., Сучков И.А.

	морфологических изменений в зоне сосудистого анастомоза		хирургии. Материалы 23 Международной конференции. Т.18.-2/2012.-г.Санкт-Петербург.- с.164-165		
31.	Эндотелиотропная терапия в лечении больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей	Печатный	Ангиология и сосудистая хирургия. Актуальные вопросы сосудистой хирургии. Материалы 27 Международной конференции. Т.18.-2/2012.-г.Санкт-Петербург.- с.465-466	2	Швальб П.Г. Калинин Р.Е., Сучков И.А
32.	Evaluation of particular gens polymorphism in patients with lower extremity atherosclerosis	Печатный	International angiology. 25 th World Congress of the International Union of Angiology. Prague, Czech Republic. July 1-5, 2012. P 170-171	2	Suchkov I., Kalinin R., Nikiforov A., Pshennikov A.
33.	Значение мутации гена NO-синтазы в развитие рестеноза зоны реконструкции и эффективность эндотелиотропной терапии	Печатный	Теоретический и практические вопросы клинической медицины. Сборник научных трудов, посвященных 30-летию ГБУ Рязанской области «Рязанская областная клиническая больница», - Рязань, 2012.-с.133-136	4	Калинин Р.Е., Сучков И.А.
34.	L-NAME индуцированная эндотелиальная дисфункция при реконструктивных операциях в эксперименте	Печатный	Материалы ежегодной научной конференции университета. Рязань, 2012.- с.40-44	4	Калинин Р.Е., Сучков И.А., Звягина В.И., Герасимов А.А.
35.	Опыт применения периндоприла после реконструктивных операций на артериях нижних конечностей	Печатный	Материалы ежегодной научной конференции университета. Рязань, 2012.- с.44-48	4	Калинин Р.Е., Сучков И.А., Никифоров А.А.

36.	Гены эндотелиальной дисфункции	Печатный	Постгеномные методы анализа в биологии, лабораторной и клинической медицине. Сборник тезисов III международной научно-практической конференции. Казань, 2012. с.289-290	2	Калинин Р.Е., Сучков И.А.
37.	Эндотелиотропные эффекты периндоприла у пациентов после операций на магистральных артериях нижних конечностей	Печатный	Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». Том 13, №6, 2012. С. 124. Тезисы докладов и сообщений Восемнадцатого Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов. Москва, 2012.	1	Сучков И.А., Калинин Р.Е., Никифоров А.А.
38.	Применение L-аргинина после реконструктивных операций у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей	Печатный	Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». Том 13, №6, 2012. С. 121. Тезисы докладов и сообщений Восемнадцатого Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов. Москва, 2012.	1	Сучков И.А., Калинин Р.Е., Никифоров А.А.
39.	Способы моделирования эндотелиальной дисфункции в эксперименте на животных	Печатный	Вестник экспериментальной и клинической хирургии №4, 2012 С. 557-561	6	Калинин Р.Е., Сучков И.А. Мнихович М.В. Герасимов А.А.
40.	Биохимическая и морфологическая оценка функционального состояния эндотелия при реконструктивных операциях на брюшной аорте в эксперименте на животных	Печатный	Ангиология и сосудистая хирургия Том19 №3, 2013, с. 30-33	4	Калинин Р.Е., Сучков И.А. Мнихович М.В. Герасимов А.А.

41.	Фотоколориметрический метод определения метаболитов оксида азота в сыворотке крови	Печатный	Тезисы докладов Второй итоговой конференции молодых инноваторов по программе «УМНИК» в Рязанской области, Рязань, 2012, с.53-55	3	-----
42.	Лекарственная профилактика рестеноза после реконструктивных операций на артериях нижних конечностей	Печатный	Медицинский вестник Северного Кавказа 2013. Том 8. №1. С.33-35	3	Калинин Р.Е., Сучков И.А. Слепнев А.А.
43.	Генодиагностика как инновационный метод в прогнозировании течения облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей	Печатный	Здравоохранение: образование, наука, инновации: материалы Всерос. науч.- практ. конф. с междунар. участием, посвящ 70-летию Ряз. гос. мед. ун-та им. акад И.П.Павлова / под ред. проф. Р.Е.Калинина; Ряз. гос. мед. ун-та им. акад И.П.Павлова. - Рязань: РязГМУ, 2013. – с.245-248	4	Калинин Р.Е., Сучков И.А.
44.	Новые подходы в лечении облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей путем коррекции эндотелиальной дисфункции	Печатный	Здравоохранение: образование, наука, инновации: материалы Всерос. науч.- практ. конф. с междунар. участием, посвящ 70-летию Ряз. гос. мед. ун-та им. акад И.П.Павлова / под ред. проф. Р.Е.Калинина; Ряз. гос. мед. ун-та им. акад И.П.Павлова. - Рязань: РязГМУ, 2013. – с.301-305	4	Калинин Р.Е., Сучков И.А.
45.	Correction of endothelial dysfunction with perindopril in patients with atherosclerotic peripheral arterial disease	Печатный	Vascular Biology, Materials et Engineering Goethe-University Clinic, Frankfurt am Main, germany. ESVS. May 2013.	1	Kalinin R.E., Suchkov I.A., Mzhavanadze N.D.
46.	Медикаментозная коррекция функционального	Печатный	Казанский медицинский журнал, том XCIV(94), №2, 2013,-с.181-185	5	Калинин Р.Е., Сучков И.А. Никифоров А.А.

	состояния эндотелия у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей				
47.	Эффективность L-аргинина в лечении атеросклероза артерий нижних конечностей и профилактики рестеноза зоны реконструкции	Печатный	Вестник ивановской медицинской академии, том 18, №2, 2013, с.18-21	4	Калинин Р.Е., Сучков И.А. Слепнев А.А.
48.	Частота рестеноза после реконструктивных операций на артериях нижних конечностей при эндотелиотропной терапии	Печатный доклад	Материалы ежегодной научной конференции, посвященной 70-летию основания Рязанского Государственного медицинского университета имени акад. И.П.Павлова, Рязань 2013, с.140-141	2	Калинин Р.Е., Сучков И.А.
49.	Оценка эффективности фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции при реконструктивных операциях на магистральных артериях в эксперименте	Печатный	Экспериментальная и клиническая фармакология: научные чтения. Сборник тезисов Всероссийской научной конференции, посвященной 90-летию со дня рождения профессора А.А.Никулина, Рязань, 25 октября 2013, с.68-72	5	Калинин Р.Е., Сучков И.А. Герасимов А.А.
50.	Течение послеоперационного периода артериальных реконструкций на фоне различных видов эндотелиотропной терапии	Печатный	Экспериментальная и клиническая фармакология: научные чтения. Сборник тезисов Всероссийской научной конференции, посвященной 90-летию со дня рождения профессора А.А.Никулина, Рязань, 25 октября 2013, с.190-194	5	Калинин Р.Е., Сучков И.А.

51.	Коррекция эндотелиальной дисфункции как компонент в лечении облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей	Печатный	Ангиология и сосудистая хирургия Том20 №3, 2014, с. 17-22	6	Калинин Р.Е., Сучков И.А.
52.	Профилактика рестенозов в реконструктивной хирургии магистральных артерий	Печатный	Наука молодых (Eruditio Juvenium) №2, 2013, с.12-19	8	И.А. СУЧКОВ, А.А. ГЕРАСИМОВ, А.Б. АГАПОВ, А.А. КАМАЕВ
53.	Dynamics of heat-shock proteins (HSP 70) levels at different time points after arterial reconstructive surgery of the lower extremity	Печатный	Spring Meeting in London 16-17 May 2014 Page 21	1	Kalinin R.E., Suchkov I.A., Mzhavanadze N.D.
54.	Experimental modelling of venous endothelial dysfunction and its correction with micronized purified fraction of flavonoids	Печатный	Spring Meeting in London 16-17 May 2014 Page 34	1	Kalinin R.E., Suchkov I.A., Novikov A.N., Mzhavanadze N.D.
55.	Использование очищенной микронизированной флавоноидной фракции диосмина для коррекции эндотелиальной дисфункции при моделировании экспериментального	Печатный	Актуальные проблемы клинической и экспериментальной патологии: межрегиональный тематический сборник научных трудов, посвященных 70-летию основания РязГМУ им. Акад. И.П.Павлова и 100-летию создания инфильтрационной теории атеросклероза акад. Н.Н.Аничкова / под ред. д.м.н., проф. Ю.Ю.Бяловского, д.м.н., проф.	5	Калинин Р.Е., Сучков И.А. Новиков А.Н.

	венозного тромбоза		В.В.Давыдова,- Рязань:РИО РязГМУ, 2013, - с. 108-112		
56.	Моделирование и коррекция венозной эндотелиальной дисфункции в эксперименте	Печатный	Новости хирургии, Республика Беларусь, Vol 22(2), 2014; 150-154	5	Калинин Р.Е., Сучков И.А. Новиков А.Н.
57.	Современные подходы к коррекции энотелиальной дисфункции при лечении облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей	Печатный	Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования. Материалы VIII Международной научно-практической конференции, посвященной памяти профессора А.П.Солодкова. Витебск, 23 мая 2014, с.77-80	4	Калинин Р.Е., Сучков И.А. Герасимов А.А.
58.	Экспериментальное моделирование и коррекция эндотелиальной дисфункции при различных заболеваниях вен нижних конечностей	Печатный	Ангиология и сосудистая хирургия. Новые направления и отдаленные результаты открытых и эндоваскулярных вмешательств в лечении сосудистых больных. Материалы 29 Международной конференции российского общества ангиологов и сосудистых хирургов. Т.20.-2/2014.-г.Рязань, с.157-158	2	Калинин Р.Е., Сучков И.А. Новиков А.Н.
59.	Варианты коррекции эндотелиальной дисфункции в комплексном лечении облитерирующего атеросклероза артерий нижних конечностей	Печатный	Ангиология и сосудистая хирургия. Новые направления и отдаленные результаты открытых и эндоваскулярных вмешательств в лечении сосудистых больных. Материалы 29 Международной конференции российского общества ангиологов и сосудистых хирургов. Т.20.-2/2014.-г.Рязань, с.159-160	2	Калинин Р.Е., Сучков И.А. Герасимов А.А.
60.	Использование очищенной	Печатный	Материалы X Юбилейной научно-практической конференции Ассоциации	1	Калинин Р.Е., Сучков И.А.

	микронизированной флавоноидной фракции диосмина для коррекции эндотелиальной дисфункции при моделировании экспериментального венозного тромбоза		флебологов России, №2, 2014, том 8, выпуск 2, т86		Новиков А.Н.
61.	Морфо-функциональная оценка эндотелия при различных моделях венозной эндотелиальной дисфункции	Печатный	Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания», Том 15, №3, 2014. Тезисы докладов XVIII Ежегодной сессии научного центра сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева РАМН с Всероссийской конференцией молодых учёных, Москва, 2014. с. 144.	1	Калинин Р.Е., Сучков И.А., Новиков А.Н.
62.	Application of micronized purified fraction of flavonoids in different experimental models of venous endothelial dysfunction	Печатный	Scientific programme and book of abstracts 15 th meeting of the European Venous forum 26-28 June, 2014, Paris, France	1	Novikov A.N, Kalinin R.E., Suchkov I.A., Mzhavanadze N.D
63.	Защита тканей в хирургии артерий нижних конечностей	Печатный	Материалы межрегиональной научной конференции с международным участием Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П.Павлова с международным участием / под общ. Ред. Заслуженного работника высшей школы РФ, проф. В.А.Кирюшина. - Рязань: РИО РязГМУ. 2014.-с.65-69	5	Калинин Р.Е., Сучков И.А., Никифоров А.А.

64.	Значение коррекции нарушения функции эндотелия в прогнозе реконструктивных операций	Печатный	Материалы межрегиональной научной конференции с международным участием Рязанского государственного медицинского университета имени академика И.П.Павлова с международным участием / под общ. Ред. Заслуженного работника высшей школы РФ, проф. В.А.Кирюшина. - Рязань: РИО РязГМУ. 2014.-с.69-72	4	Калинин Р.Е., Сучков И.А., Герасимов А.А.
65.	Молекулярные механизмы клеточной защиты в реконструктивно-восстановительной хирургии магистральных артерий	В печати	Тихоокеанский медицинский журнал		Калинин Р.Е., Сучков И.А.
66.	Гуморальные пути адаптации к ишемическому синдрому в реконструктивной хирургии магистральных артерий.	В печати	Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». Тезисы докладов и сообщений Двадцатого Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов. Москва, 2014.		Калинин Р.Е., Сучков И.А.
67.	РЕАЛИЗАЦИЯ ИШЕМИИ И РЕПЕРФУЗИИ В ХИРУРГИИ МАГИСТРАЛЬНЫХ АРТЕРИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОС	В печати	Новости хирургии, Республика Беларусь, 2015		Калинин Р.Е., Сучков И.А.

Рационализаторское предложение

1	Фотоколориметрический метод определения метаболитов оксида азота в сыворотке крови	Удостоверение на рационализаторское предложение № 1317	Рязань 2011	Калинин Р.Е., Звягина В.И.
---	--	--	-------------	-------------------------------

Монографии

1	Коррекция эндотелиальной дисфункции при атеросклерозе артерий нижних конечностей	LAP LAMBERT Academic Publishing 2012	119 стр.	Калинин Р.Е., Сучков И.А.
2	Эндотелиальная дисфункция и способы ее коррекции при облитерирующем атеросклерозе	Москва, издат.дом «ГЕОТАР-МЕД», 2014	199 стр.	Калинин Р.Е., Сучков И.А.

Методические рекомендации

1	Лечение эндотелиальной дисфункции у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей	ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России. - Рязань: РИО РязГМУ, 2013.- 36с.	36 стр.	Сучков И.А. Калинин Р.Е., Швальб П.Г.
---	--	--	---------	---



Животные содержатся по 3-4 особи одного пола в металлических клетках площадью 24 дм² при естественном освещении, получают воду и полноценный сухой комбикорм для лабораторных животных «Чара» (производство ЗАО «Ассортимент – Агро», Московская область, Сергиев-Посадский район, д. Тураково). Приготовление кормов для животных, расчет рациона осуществляется сотрудниками вивария в соответствии с установленными нормами. Содержание животных в виварии соответствует «Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник» от 06.04.1993. Содержание и выведение животных из эксперимента выполняют в соответствии с правилами, изложенными Международным Советом Медицинских Научных Обществ (CIOMS) в «Международных рекомендациях по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985 г.) и приказе МЗРФ №267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики».

Материальное обеспечение вивария ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России:

Виварий университета располагает всем необходимым оборудованием для содержания лабораторных животных, выполнения экспериментальных работ.

1. Конвенционное отделение, назначением которого является содержание экспериментальных животных для научно-исследовательских работ;
2. Племенное отделение, назначением которого является ежедневный прирост численности животных и движения поголовья; оценка и отбор племенного поголовья по плодовитости, сохранности молодняка, подбору родительских пар, контроль качества племенных животных;
3. Ветеринарное отделение, назначением которого является организация и проведение ветеринарно-санитарных, профилактических и лечебных мероприятий, контроль микроклимата в помещениях вивария, хранение и утилизация биологических отходов, организация карантина животных при необходимости;
4. Операционное отделение, назначением которого является содержание животных перед операцией, проведение оперативного вмешательства, содержание в послеоперационном периоде, которое содержит необходимый набор хирургических инструментов, в том числе микрососудистый набор и оптическое оснащение;
5. Отделение кормокухни – хранение, учет приготовление кормов для животных, расчет рациона в соответствии с утвержденными нормами;
6. Дезинфекционно-моечное отделение – механическая чистка и мойка клеток лабораторных животных, рабочего инвентаря, автоклавирование, дезинфекционная обработка помещений, оборудования и инвентаря;
7. Административно-хозяйственное и санитарно-бытовое отделения, назначением которых является обеспечение комфортной работы для сотрудников вивария;
8. Архив – хранение, комплектование, учет документов, связанных с деятельностью вивария.

Наркозное обеспечение животных

Этапы анестезии	Препараты и дозы
I этап - подготовительный	
А) премедикация	Р-р атропина 0,1% – 0,05 мг/кг п/к; через 5 мин. р-р димедрола 1% – 0,4 мг/кг в/м
Через 15-20 мин.	
Б) седация	Р-р ксилазина («Ксило») 1 мг/кг в/м
Через 5 мин.	
II этап – введение в анестезию	Золетил 50 - 15 мг/кг в/м
III этап – поддержание анестезии	Повторное введение Золетила 50 в дозе, не превышающей 1/3-1/2 исходной
IV этап – пробуждение и ближайший послеоперационный период	Преднизолон 0,4 мг/кг в/м однократно
	Сульфокамфокаин 0,1 мл/кг п/к однократно
	Анальгин 50% – 30 мг/кг 3 р/д в/м в течение 5 дней
	Папаверин 2% – 1,5 мг/кг 3 р/д в/м 5 дней
	Амоксициллин 0,2 мл/кг в/м в течение 4 дней
	Р-р глюкозы 5% – 20 мл/кг в/в однократно
	Р-р NaCl 0.9% – 20 мл/кг в/в однократно
Гамавит 0,1 мл/кг в/м 3х-кратно в течение 7 дней	