

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора Шелудченко Вячеслава Михайловича на диссертационную работу Бурцева Александра Александровича «Фоторефракционная кератоабляция с фотопротекцией и эффектом кросслинкинга» (экспериментальное обоснование), представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.07 – глазные болезни.

### Актуальность избранной темы

Фотохирургия роговицы получила достаточно широкое распространение по всему миру. И можно с определенной долей уверенности заявить, что ее можно отнести к эффективному и безопасному методу. Но тем не менее, исходное строение роговицы может быть переменным и порой скрывать некоторые латентные формы заболеваний, что дает ряд осложнений, связанных с биомеханической прочностью роговицы.

Известно, что основную биомеханическую нагрузку несут на себе верхние слои стромы роговицы. Это, в первую очередь, обусловлено ее строением. Именно верхние слои стромы обладают наиболее плотной компоновкой коллагеновых волокон, а также клеточного компонента, и их плотность прямо пропорционально снижается по мере приближения к задним отделам стромы. Таким образом, ослабление упруго-прочностных свойств, вызванное в ходе фоторефракционной абляции, может быть вызвано, прежде всего, снижением плотности коллагена, а также нарушением коллагеновых связей между волокнами именно в верхних слоях стромы, что обусловлено спецификой методик проведения большинства фоторефракционных операций. Например, в случае операции лазерного кератомилеза, еще на стадии формирования роговичного лоскута, возникает ослабление прочностных характеристик роговицы на 15-20%, и это ослабление только усиливается с последующей фоторефракционной абляцией. В случае фоторефракционной кератэктомии снижение биомеханических свойств достигает 20% и на прямую зависит лишь от объема абляции. Таким образом, большинство



фоторефракционных операций сопровождаются снижением упруго-прочностных свойств роговицы. Изменения подобного рода могут привести к возникновению ятрогенной кератэктазии как в раннем, так и в отдаленном послеоперационном периоде. Наиболее оптимальным на сегодняшний день способом лечения и предупреждения подобного рода осложнений до сих пор являлся кросслинкинг роговичного коллагена и различные методы его комбинирования с фоторефракционными операциями. Однако, противоречивые мнения, освещенные в мировой литературе, по поводу эффективности, а также целого ряда противопоказаний для той или иной технологии проведения роговичного кросслинкинга ограничивают его широкое клиническое применение.

Стоит также отметить, что в ходе эксимерлазерной фоторефракционной абляции роговицы имеет место трансформация первичного монохроматического УФ-лазерного излучения во вторичное излучение с длиной волны от 200 до 400 нм, которое проникает глубже аблируемого слоя ткани. Данное излучение составляет до 50% от общей интенсивности первичного излучения и оказывает негативное влияние на кератоциты и слои стромы, прилежащие к зоне абляции. При этом повреждающий эффект вторичного излучения лишь усиливается с увеличением объема аблируемой ткани. Кроме того, часто из внимания упускают тот факт, что при истончении роговицы нарушается её фотопротекторная функция, играющая важную роль в защите внутриглазных структур от внешнего УФ-излучения. Последнее значительно сужает показания к проведению кросслинкинга.

Таким образом, процесс фоторефракционной абляции сопровождается не только снижением биомеханических и упруго-прочностных свойств (с вытекающими отсюда рисками развития такого осложнения как ятрогенная кератэктазия), но и различной степенью оксидативного стресса в строме роговицы. В этих условиях применение процедуры кросслинкинга



роговичного коллагена значительно повышает риск развития субэпителиальной или интрастромальной фиброплазии, не говоря уже об асептических стерильных инфильтратах и других осложнениях кросслинкинга.

Изложенные положения определяют актуальность представленной диссертационной работы, направленной на разработку и экспериментальное обоснование щадящей технологии фоторефракционной кератоабляции с фотопротекцией и эффектом кросслинкинга.

### **Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Достоверность научных положений, выводов и рекомендаций работы обусловлены достаточным объемом экспериментального материала (90 глаз 85 кроликов породы Шиншилла), применением комплекса современных методов исследования, корректной статистической обработкой полученных результатов. Работа изложена последовательно и емко.

Положение диссертационной работы полностью отражают автореферат, опубликованные 12 работ, из них 2 в журналах зарубежной печати, 6 – в журналах, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации изданиях, 3 - с международной индексацией в системе Pubmed, а также 1 патент РФ на изобретение.

### **Новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Впервые автором предложена технология фоторефракционной кератоабляции с фотопротекцией и эффектом кросслинкинга,



предусматривающая предварительное насыщение стромы 0,25% изотоническим раствором рибофлавина. Эффекты фотопротекции и кросслинкинга обусловлены использованием вторичного ультрафиолетового излучения, возникающего в результате пассивного рассеивания монохроматического 193 нм лазерного излучения в глубжележащих слоях стромы в процессе фоторефракционной абляции.

В экспериментах *ex vivo* и *in vivo* на основании данных комплексных клинических, тензиометрических и морфофункциональных исследований выявлен фотопротекторный эффект насыщенных рибофлавином слоев стромы роговицы, основанный на блокировании индуцированного абляцией вторичного УФ-излучения, и доказано наличие эффекта кросслинкинга индуцированного вторичным абляционным излучением.

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

Предложенная возможность применения вторичного эксимерлазерного излучения для проведения лазериндуцированного кросслинкинга в ходе фоторефракционной абляции стромы роговицы, насыщенной 0,25% изотоническим раствором рибофлавина, обеспечивает не только профилактику развития индуцированной кератэктазии, но и ослабляет оксидативный стресс роговицы.

По результатам приведенных в диссертационной работе экспериментальных исследований подготовлены методические рекомендации и получено разрешение этического комитета ФГБУ «НМХЦ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России для проведения клинических испытаний с последующей оценкой эффективности предложенного способа. Материалы работы по фотопротекции и кросслинкингу в лазерной рефракционной хирургии роговицы включены в лекционный материал при обучении интернов и ординаторов, а также на курсах повышения



квалификации в Институте усовершенствования врачей ФГБУ «НМХЦ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России.

### **Оформление диссертации и оценка её содержания**

Диссертация изложена на 122 страницах машинописного текста, иллюстрирована 8 таблицами, 26 рисунками. Работа состоит из введения, 4 глав, включающих обзор литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований, а также заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического указателя. Список литературы включает 271 источник, из них 96 – русскоязычных и 175 – иностранных.

Во **введении** отражена актуальность темы диссертации, сформулированы цель и основные задачи работы, её научная новизна, теоретическая и практическая значимость результатов исследования.

В **первой главе**, обзоре литературы, диссертант описывает и даёт определение основным понятиям биомеханических свойств роговицы. Далее излагается процесс становления современных технологий кросслинкинга роговицы от первых экспериментов до современной клинической практики в фоторефракционной хирургии. Отдельно рассмотрено применение ультрафиолетового лазерного излучения без и с фотосенсибилизаторами для полимеризации различных материалов. Обоснована возможность перехода к лазериндуцированному кросслинкингу при кератоабляции с рибофлавином в фоторефракционной хирургии.

Во **второй главе** описываются предложенная методика фоторефракционной кератоабляции с фотопротекцией и эффектом кросслинкинга, а также общая характеристика экспериментального материала с последующим описанием методик тензиометрических испытаний и комплексных морфофункциональных исследований и статистической обработки полученных результатов.

**Третья глава** основана на экспериментальной оценке предложенной технологии фоторефракционной кератоабляции с фотопротекцией и эффектом



кросслинкинга, подробно изложены особенности клинического течения в послеоперационном периоде, а также дана оценка биомеханических свойств роговицы после лазериндуцированного кросслинкинга при эксимерлазерной абляции роговицы без и с предварительным насыщением стромы роговицы раствором рибофлавина.

Клиническая оценка офтальмологического статуса животных проводилась по балльной системе. Оценивались следующие критерии: слезотечение, светобоязнь, эпителизация, состояние эпителия и отечность стромы. На протяжении всего периода наблюдений, в контрольной и экспериментальной группах автором выявлена клиническая разница в выраженности воспалительных и регенераторных процессов. Так, на глазах после абляции с рибофлавином все вышеперечисленные негативные реакции проходили заметно менее выражено, о чем свидетельствуют среднебалльные оценки экспериментальных животных из обеих групп.

Для оценки упруго-прочностных свойств образцов роговиц кроликов при эксимерлазерной абляции без и с предварительным насыщением стромы раствором рибофлавина в экспериментах *ex vivo* и *in vivo*. Оценивались такие свойства, как прочность при растяжении, сила на разрыв и модуль упругости (модуль Юнга). При оценке биомеханических свойств аблированных образцов роговиц кроликов, предварительно насыщенных рибофлавином, автором было отмечено повышение их упруго-прочностных свойств на 40-48%, по сравнению с аналогичными образцами, на которых абляция проводилась без насыщения рибофлавином.

В четвертой главе представлены результаты исследования образцов роговиц кроликов посредством световой и трансмиссионной электронной микроскопии, освещающие комплексную морфофункциональную оценку рефракционной кератоабляции с фотопротекцией и эффектом кросслинкинга в экспериментах *in vivo*. По результатам данных исследований автором установлено, что строма роговицы, в ходе фоторефракционной кератоабляции



с предварительным насыщением раствором рибофлавина, подвержена изменениям, соответствующим крослинкингу.

**Заключение** обобщает основные положения выполненных экспериментальных исследований, содержит анализ собственных результатов и литературных данных.

**Выводы и практические рекомендации** основаны на подробном описании и обсуждении полученных результатов, соответствуют поставленным задачам, полностью обоснованы фактическим материалом исследований и логически вытекают из содержания диссертации.

### **Вопросы и замечания**

Принципиальных замечаний и вопросов по содержанию и изложению работы не имею. В порядке дискуссии возникли следующие вопросы:

1. Какое влияние по вашему мнению может оказать циклический обмен коллагена на результаты фотокератопротекции по вашему методу?

2. Могут ли изменения структуры коллагеновых фибрилл роговицы по методу фотокератопротекции оказать влияние на прозрачность роговицы?

Заданные вопросы не имеют принципиального значения и не снижают общей положительной оценки данной работы.

### **Заключение**

Диссертационная работа Бурцева Александра Александровича на тему «Фоторефракционная кератоабляция с фотопротекцией и эффектом крослинкинга» (экспериментальное обоснование), представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является самостоятельной законченной научно-исследовательской работой, содержащей решение актуальной задачи офтальмологии: экспериментальной разработке метода дополнительной протекции роговицы глаза при ее фотоабляции.

По актуальности темы, научной новизне, объему проведенных



