ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

член-корреспондента РАН, доктора медицинских наук, профессора, **Кактурского Льва Владимировича** на диссертационную работу **Андреева Андрея Юрьевича** «Укрепление ожоговых бельм роговицы с использованием фактора роста rhBMP-2 (экспериментальное исследование)», представленную на соискание учёной степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.07 – глазные болезни и 14.03.02 – патологическая анатомия

Актуальность темы диссертации

Диссертация Андреева А.Ю. посвящена решению актуальной проблемы – разработке способа укрепления тканей глаза после тяжелой ожоговой травмы. Актуальность темы исследования обусловлена тем, что в результате поражения роговицы, особенно в следствии химических ожогов, восстановить её прозрачность крайне сложно. Для этого используются кератопротезы, изготовленные из искусственных материалов, однако длительная их фиксация невозможна в силу изначально «слабых» свойств исходных тканей. В результате чего возможно развитие асептического некроза и протрузии элементов кератопротеза.

Во введении диссертации достаточно обоснованно представлены данные, касающиеся аспектов лечения и профилактики подобных осложнений, а именно применение аутологичных тканей для укрепления ожоговых бельм и их недостатки. Андрей Юрьевич провёл всесторонний последовательный анализ изучаемой проблемы, рассмотрел и проанализировал широкий спектр существующих подходов лечения. Обосновал необходимость в усовершенствовании, а также разработке альтернативных методик. Что позволило диссертанту убедительно доказать актуальность цели и задач исследования.

В связи с изложенным работа Андреева Андрея Юрьевича, посвященная укреплению ожоговых бельм с использованием фактора роста rhBMP-2, представляется актуальной.

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

Обоснованность основных научных положений, выводов и рекомендаций работы не вызывает сомнений и подтверждается достаточным объемом экспериментального материала. Автор не только изучил работоспособность своей методики на здоровой роговице кролика, но и провёл зеркальный эксперимент на модели ожогового бельма. Самостоятельно выполнены экспериментальные исследования, ряд клинико-функциональных обследований, проведена их интерпретация, выполнены хирургические вмешательства, проанализированы полученные результаты, проведена статистическая обработка материала.

Работа проводилась с использованием статистического анализа при сравнении биомеханических характеристик глаз кроликов. По всем исследуемым показателям в каждой группе были подсчитаны параметры распределения (среднее значение, стандартное отклонение, частотный анализ). Оценка достоверности различий между исследуемыми группами проводилась с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Для оценки динамики применялся критерий Фридмана.

Текст диссертации написан грамотно, хорошим литературным языком. Используемые таблицы и рисунки детально иллюстрируют ход исследований и убедительно подтверждают логику формирования выводов и заключений автора.

Опубликованные по материалам диссертации 5 печатных работ (из них 2 в журналах, рекомендованных ВАК РФ), а также полученный по теме диссертации патент РФ на изобретение полностью отражают содержание диссертационной работы.

Материалы диссертации неоднократно обсуждены на российских научно-практических конференциях.

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

Научная новизна диссертации А.Ю. Андреева основана на комплексном морфологическом исследовании глаз экспериментальных животных в норме

и патологии. Впервые получены данные о воздействии rhBMP-2 на ткани роговицы глаза и ожогового бельма. Установлена возможность применения фактора роста rhBMP-2 в составе коллагенового носителя для улучшения биомеханических и трофических свойств ткани ожогового бельма роговицы. Впервые разработан специализированный носитель для доставки факторов роста в ткани роговицы и бельма, состоящий из нативного, химически немодифицированного коллагена высокой концентрации, который является биосовместимым, биорезорбируемым и не цитотоксичным, способным к длительному удержанию в своём составе экстремально низких концентраций фактора роста и обеспечивающим локальность воздействия на таргетные ткани.

Впервые обоснованы и предложены новые подходы к изучению биомеханических характеристик тканей роговицы, подвергавшихся оперативным вмешательствам, позволяющие получать более точные показатели упругости тканей и силы механической нагрузки. Впервые показано, что улучшение трофических характеристик тканей роговицы и бельма под влиянием rhBMP-2 в составе коллагенового носителя обусловлено, главным образом, выраженной неоваскуляризацией. Впервые установлен характер связи между контракцией внеклеточного матрикса роговичной ткани и повышением конечной жесткости роговицы под действием rhBMP-2 в составе носителя из коллагена. Впервые предложен новый подход лечения тяжелых ожоговых бельм, подлежащих кератопротезированию, позволяющий повышать биомеханические и трофические характеристики тканей, заключающийся в использовании фактора роста rhBMP-2 в составе коллагенового носителя.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Диссертация А.Ю. Андреева является фундаментальным исследованием, которое вносит значимый вклад в решения ряда актуальных задач офтальмологии и патологической анатомии. В диссертации на новом качественном уровне представлены разделы, которые относятся к изучению патологически измененных тканей тканей роговицы, способов

моделирования химической травмы в эксперименте, достоверной оценке биомеханических свойств.

Предложенный автором метод укрепления ожоговых бельм с использованием rhBMP-2, позволяет уйти от ряда проблем, связанных с использованием аутологичных тканей в укрепляющих кератопластиках направленных на дальнейшее кератопротезирование. А именно пропадает необходимость в дополнительной операции по забору материала, хирург не ограничен в его количестве и может моделировать нужную ему форму. К тому же предложенный автором подход позволяет решить проблему лизиса трансплантируемого материала.

Разработанный носитель позволяет длительно удерживать минимальные концентрации биологически активных соединений (способен поддерживать рабочую концентрацию в 1,5 мкг rhBMP-2 в течение 28 дней) и является биосовместимым по отношению к тканям глаза, что открывает двери для дальнейших экспериментальных исследований с использованием других факторов роста в целях лечения соответствующих патологий и развития такого подхода.

Помимо практической значимости, результаты исследования имеют теоретическое значение, расширяя представление о механизмах влияния факторов роста, в частности rhBMP-2 на не таргетные для них ткани.

Высокая результативность использования rhBMP-2 в составе коллагенового носителя в эксперименте предопределяет возможность и необходимость дальнейшего изучения в клинических условиях.

Внедрение результатов исследования

Практическая и научная значимость работы также определена внедрением основных положений в практическую деятельность. Данные полученные в результате проведенной работы нашли широкое применение в работе лаборатории фирмы «ИМТЕК». Внедрена методика производства коллагенового имплантата, инициирована процедура государственной регистрации.

Результаты предложенного метода измерения биомеханических свойств роговицы нашли отражение в смежных дисциплинах и активно используются

в построении экспериментов по изучению биомеханических свойств биологических тканей в НИЦ «Курчатовский институт».

Предложенная альтернативная методика создания экспериментальной модели ожогового бельма, позволяет получать стандартизированные бельма необходимой степени тяжести и используется в построении экспериментов схожей тематике.

Оценка содержания диссертации и ее завершенность

Диссертация построена традиционно и состоит из введения, обзора литературы, главы, описывающей объект и методы исследования, трех глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Список литературы содержит 268 публикаций. Работа изложена на 140 страницах машинописного текста, содержит 33 таблицы и 38 иллюстраций.

Во введении диссертант обосновывает актуальность выбранной темы, формулирует цель, задачи, научную и практическую значимость работы. Здесь же диссертант сообщает об апробации основных положений диссертации, ее структуре и объеме, публикациях, а также положениях, выносимых на защиту.

В обзоре литературы, который представляет собой первую главу, автор дает современную характеристику ожоговой травмы глаза, приводит актуальные классификации отечественных и зарубежных офтальмологов. Достаточно подробно раскрывает информацию о процессах, протекающих при ожоговом поражении тканей. Излагает и анализирует имеющиеся литературные сведения о проблеме кератопротезирования, описывает развитие данного метода с исторической точки зрения, говорит о ключевых недостатках метода и существующих способах их решения, в полной мере перечисляет возможные осложнения как во время непосредственной хирургии, так и на разных сроках после операции. В обзоре подробно изложено описание существующих материалов для укрепления тканей бельма, которые автор разделил на синтетические и природные полимеры. Отдельное внимание уделено фактору роста rhBMP-2 и носителям для его доставки в ткани, истории его применения в других разделах медицины,

возможных осложнениях. Также автор анализирует существующие материалы для доставки rhBMP-2, акцентирует внимание на коллагене, как наиболее удачном носителе в условиях офтальмологических операций на роговице.

Во второй главе диссертант в полном объеме отражает материалы и методы исследования, используемые в работе, подробно описывает технику хирургического вмешательства. Автором составлен подробный план работы, заключающийся в последовательном проведением серии экспериментов in vitro и in vivo в соответствии порядку поставленных задач. Последовательное решение каждой задачи позволяло перейти на следующий этап работы, аккумулировав полученные ранее результаты для решения новой. Таким образом, обеспечивался многоступенчатый и последовательный ход работы.

В третьей главе диссертации приведены результаты экспериментальных исследований. В первую очередь автор приводит результаты цитологических экспериментов, а именно особенности влияния фактора роста rhBMP-2 в различных концентрациях на культуру клеток роговицы кролика. Наибольшую эффективность показала концентрация 30 мкг. Затем изучает возможности коллагенового носителя к удержанию rhBMP-2 и исследует влияние готовой композиции (носитель плюс фактор роста) на системный иммунитет. Удалось установить, что носитель способен поддерживать минимально-значимую концентрацию 1,5 мкг rhBMP-2 в течении 28 дней. А подкожная имплантация носителя с фактором роста не вызывает системного иммунного ответа.

Затем диссертант переходит к описанию результатов непосредственно самого метода в эксперименте на роговице кроликов. Автор дает подробное и динамическое описание клинической картины, описывает морфофункциональные особенности подкрепляя их результатами гистологических исследований. Обращает на себя внимание выраженный неоангиогенез и рост соединительной ткани, что положительно влияет на трофику тканей и является большим преимуществом в кератопротезировании. Исследование анатомических структур угла передней камеры не выявило новообразованных сосудов, что говорит о строго локальном действии на роговицу.

Отдельного внимания заслуживает то, что автор изучил влияние, оказываемое фактором роста rhBMP-2 в составе коллагенового носителя не только на нативную роговицу кроликов, но и продублировал исследование на модели ожогового бельма экспериментальных животных, где подтвердил полученные ранее результаты, что подчеркивает эффективность предлагаемого метода в реальных условиях.

В четвёртой главе автор приводит результаты биомеханических исследований тканей роговицы и ожоговых бельм. Автор смог решить проблему в статистической погрешности классического теста на разрыв тканей, который не учитывал кривизну роговицы и наличие в ней имплантируемого материала, что несомненно оказало влияние на качество и достоверность полученных результатов. Сроки наблюдения за экспериментальными животными составили 9 месяцев, что в полной мере позволяет оценить результаты и проследить динамику изменений, выявить корреляцию таковых с положительными биомеханическими результатами. В ходе эксперимента было выявлено, что биомеханические характеристики тканей могут значительно возрастать в результате применения предлагаемого автором способа.

В заключении обобщены данные выполненных исследований, приведен подробный анализ полученных результатов, произведено сопоставление собственных результатов исследования с данными мировой литературы.

Выводы диссертации полностью соответствуют поставленным задачам исследования, являются достоверными.

Практические рекомендации построены логично на основании проведенного исследования и конкретизируют наиболее значимые научные и практические результаты работы.

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний по содержанию и изложению работы не имею. В качестве дискуссионных моментов хотелось бы уточнить два вопроса.

1. Как автор оценивает роль сосудистого фактора, а именно неоваскуляризации, в процессе репарации роговицы? Ведь, с одной

стороны, это фактор, необходимый для обеспечения кровоснабжения и нормальной трофики ткани роговицы. А с другой стороны, роговица в норме, как известно, – это бессосудистое образование. Не будет ли избыточная неоваскуляризация нарушать прозрачность роговичной ткани и в итоге нарушать светопроводящую функцию роговицы? В этом случае в использовании коллагенового имплантата с фактором роста rhBMP-2 должна быть определенная осторожность?

2. Хотелось бы услышать мнение автора о судьбе коллагенового носителя. Подвергается ли он полной резорбции или же сохраняется и модифицируется, встраиваясь в коллагеновую матрицу роговицы? Понимаю, что этот вопрос не входил непосредственно в задачу исследования, но желательно услышать на этот счёт суждение в свете современных литературных данных.

Изложенные вопросы носят чисто дискуссионный характер, не затрагивают существа работы и не меняют общую положительную оценку её результатов.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным положением о порядке присуждения ученых степеней

Диссертационная работа Андреева Андрея Юрьевича «Укрепление ожоговых бельм роговицы с использованием фактора роста rhBMP-2 (экспериментальное исследование)» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком научном и методологическом уровне. В работе содержится решение актуальной задачи офтальмологии и патологической анатомии, а именно, повышение результативности хирургического лечения ожоговых бельм с учетом морфологического контроля.

По актуальности темы, научной новизне, объему проведенных исследований и значимости полученных результатов диссертационная работа Андреева Андрея Юрьевича полностью соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 в редакции от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 № 1168, предъявляемым ВАК РФ к

диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, а ее автор заслуживает присвоения искомой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.07 – глазные болезни и 14.03.02 – патологическая анатомия.

Научный руководитель
Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Научно-исследовательский институт
морфологии человека» Минобрнауки России
член-корреспондент РАН,
доктор медицинских наук, профессор Кактурский Л.В.

02 ноября 2020 г.

Юридический и почтовый адрес: 117418, г. Москва, ул. Цюрупы, д. 3
Телефон: +7 (499) 120-80-65
Сайт в интернете: www.morfolhum.ru
E-mail: morfolhum@mail.ru

Подпись Кактурского Л.В. заверяю

Ученый секретарь
Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Научно-исследовательский институт
морфологии человека» Минобрнауки России Р.А. Вандышева