

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук Труфанова Сергея 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

Последние достижения в технологии сквозной кератопластики, включающие современные способы оценки качества донорского материала, методики его консервации, новые хирургические техники, позволили значительно улучшить функциональные, в том числе оптические, результаты оперативного лечения. Несмотря на это при тяжелых ожоговых бельмах IV-V категорий добиться прозрачного приживления трансплантата крайне сложно, повторные кератопластики обладают еще более низким шансом на успех и в конечном итоге единственным способом восстановления оптических свойств глаза становится кератопротезирование.

Для повышения эффективности данного метода, а также борьбы с возможными осложнениями идёт поиск новых методов укрепляющих кератопластик, направленных на усиление исходно слабых тканей. В настоящее время общепризнанным является метод укрепления бельма с применением аутологичной хрящевой ткани, однако такой подход сопряжен с рядом проблем, а именно: нехватка самого материала, необходимость в дополнительной операции по забору и подготовке трансплантата и его лизис на разных сроках после операции. В связи с этим автор предлагает в качестве альтернативы воздействовать на исходные, собственные ткани бельма соответствующим фактором роста костной и хрящевой ткани - rhBMP-2 и тем самым придать бельму необходимые свойства.

Необходимость в усовершенствовании, а также разработке альтернативных методик, направленных на повышение эффективности кератопротезирования стали основой формирования цели научного

исследования: обосновать в эксперименте применение коллагенового имплантата, содержащего фактор роста rhBMP-2, с целью улучшения биомеханических и трофических характеристик ткани роговицы и её бельма.

В связи с этим работа Андреева Андрея Юрьевича, посвященная изучению эффективности применения rhBMP-2 в хирургии ожоговых бельм, представляется актуальной и направленной на повышение эффективности их лечения.

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, включающего результаты экспериментальных исследований на 40 крысах, а также двух серий экспериментов на кроликах по 44 особи в каждой, грамотно спланированным протоколом исследования, включающим большой объем современных методов исследования (ультразвуковая пахиметрия, гистология, биометрия глаза, фотографирование глаза, исследование биомеханики), поэтапному плану работы и детальному описанию всего хода исследования, обеспечивающего повторяемость эксперимента.

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.

Автореферат содержит все основные разделы работы и соответствует содержанию диссертации.

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.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Работа имеет несомненную научную новизну. Впервые установлена возможность применения фактора роста rhBMP-2 в составе коллагенового носителя для улучшения биомеханической характеристики 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

Значимость работы заключается в том, что 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, т.к направлен на изменение исходных свойств собственных тканей.

Разработанный материал 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.

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

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

Диссертационная работа Андреева А.Ю. изложена в традиционном классическом стиле на 140 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов, содержит заключение, выводы и практические рекомендации. Список литературы состоит из 213 источников, из них 45 отечественных и 168 иностранных публикаций. Работа иллюстрирована 33 таблицами и 38 рисунками.

Во введении в диссертационной работе обоснованы актуальность выбранной темы исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования, а также сформулированы цель и задачи работы, положения, выносимые на защиту, приведена структура работы.

Обзор литературы представлен в достаточном объеме и написан, как и вся диссертация, хорошим литературным языком. Стиль изложения позволяет получить образное впечатление о современном состоянии темы

настоящего исследования. Диссертант подробно анализирует имеющиеся сведения в отечественной и зарубежной литературе, посвященные кератопротезированию, описывает возможные осложнения и приводит существующие способы их лечения и профилактики. Анализирует существующие материалы, применяемы для укрепления тканей роговицы и выделяет ключевые ограничения в их использовании. Отдельное внимание удалено фактору роста rhBMP-2 и используемым носителям для его доставки, истории его применения в других разделах медицины, возможных осложнениях. После прочтения обзора литературы не остается сомнений в необходимости разработки нового способа укрепления тканей бельма с использованием фактора роста rhBMP-2.

Во второй главе представлены материалы и методы диссертационного исследования. Глава содержит детальную информацию о серии исследований на различных этапах эксперимента *in vitro* и *in vivo*. Дано характеристика всех экспериментальных групп, поэтапно описана методика проведения исследований с указанием сроков и алгоритмом анализа полученных результатов. Так же приведено оборудование и расходные материалы, применяемые в работе, подробно раскрыта техника операции. В работе применяются современные инструментальные, морфологические методы исследования и статистической обработки данных. Автором составлен подробный и последовательный план работы в соответствии порядку поставленных задач.

В третьей главе автор подробно описывает и наглядно иллюстрирует полученные результаты. Полученные данные в экспериментах *in vitro* на культуре клеток роговицы кролика позволили выбрать оптимальную концентрацию фактора роста и убедиться в отсутствии цитотоксичности rhBMP-2. Затем автор испытывает в условиях *in vivo* на крысах коллагеновый носитель для доставки фактора роста, в ходе эксперимента было установлено, что коллагеновый носитель содержащий 30мкг rhBMP-2 не вызывает системного иммунного ответа и способен поддерживать минимально-значимую концентрацию до 28 дней. Следующим этапом диссертант переходит к экспериментам на роговице кроликов, что выглядит

логичным и последовательным. Хорошо иллюстрирует клиническую картину в динамике и подкрепляет её результатами гистологического исследования. В результате проведенного эксперимента удалось установить, что имплантация rhBMP-2 в слои роговицы и ожогового бельма вызывает неоангиогенез и формирование соединительной ткани, а также подтверждает локальность действия фактора роста результатами гистологических срезов угла передней камеры.

Четвёртую главу автор посвятил результатам биомеханических измерений. В начале исследовались общие размеры слоев роговицы и бельма, было установлено положительное влияние предлагаемого способа на толщину тканей. Для оценки биомеханических свойств изучалось два показателя характеризующих упругость и прочность. В результате проведенного исследования было показано, что использование предлагаемого способа укрепления тканей с rhBMP-2 в составе коллагенового носителя приводит к значительному увеличению биомеханических характеристик, что говорит о его высокой эффективности.

Заключение включает основные положения исследования, по итогам которого автором сделаны выводы об эффективности применения методов исследования, приведен подробный анализ полученных результатов. Автором произведено сопоставление собственных результатов исследования с данными мировой литературы.

Выводы и практические рекомендации вполне логично вытекают из результатов диссертационной работы и в достаточной мере соответствуют цели и поставленным задачам проведенного научного исследования, подчеркивают и конкретизируют наиболее существенные положения работы.

Диссертация написана без грамматических и стилистических неточностей, изложена хорошим, образным научным языком.

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ (из них 2 в журналах, рекомендованных ВАК РФ), получен патент РФ на изобретение.

Материалы диссертации неоднократно обсуждены на российских научно-практических конференциях.

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний по содержанию и изложению работы не имею. В качестве дискуссионных следует выделить:

1. Предложенный способ подразумевает имплантацию носителя содержащего фактор роста в слои роговицы, однако в силу особенностей некоторых белъм, такая процедура технически невозможна и необходимо поверхностное укрепление роговицы. Возможно ли использование данного способа в таком случае? Какое действие будет оказывать фактор роста?

2. В ходе эксперимента, были ли случаи когда во время операции происходила перфорация верхних или нижних слоёв роговицы во время её расслаивания? Возможна ли имплантация носителя с фактором роста при этом?

Изложенные положения носят дискуссионный характер и не меняют общую оценку работы.

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

Диссертационная работа Андреева Андрея Юрьевича «Укрепление ожоговых белъм 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, а именно, повышение результативности хирургического лечения ожоговых белъм.

По актуальности темы, научной новизне, объему проведенных исследований и значимости полученных результатов диссертационная работа Андреева Андрея Юрьевича полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного

Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.07 – глазные болезни и 14.03.02 – патологическая анатомия, а ее автор заслуживает присвоения искомой степени.

Заведующий отделом
реконструктивной хирургии
переднего отрезка глаза
ФГБНУ "НИИ Глазных болезней"
доктор медицинских наук

Труфанов Сергей Владимирович

«9» ноябрь 2020 г.



Ученый секретарь ФГБНУ «НИИ ГБ», д.м.н. Иванов М.Н.
«ЗАВЕРЯЮ»

Юридический и почтовый адрес: 19021, Москва, ул. Россолимо, 11 корпус А
Телефон: +7 (499) 110-45-45
Сайт в интернете: www.niigb.ru
E-mail: info@eyeacademy.ru