

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе
ФГБОУ ВО «Московский государственный
медицинско-стоматологический университет
им. А. И. Евдокимова» Минздрава России
д.м.н., профессор Н.И. Крихели



« 23 » марта 2020 г.

**ОТЗЫВ ВЕДУЩЕГО УЧРЕЖДЕНИЯ
о научно-практической значимости диссертационной работы**

Белодедовой Александры Владимировны

«Диагностика и хирургическое лечение кератоконуса на основе углубленного
изучения генетических аспектов заболевания и фемто-ассистированной
кератопластики» по специальностям

14.01.07 – глазные болезни (медицинские науки)

и 03.02.07 – генетика (медицинские науки)

Актуальность темы диссертации

Кератоконус – это хроническое прогрессирующее дистрофическое заболевание роговицы, характеризующееся её истончением, растяжением, конусовидным выпячиванием, а при далекозашедшем процессе – помутнением и рубцеванием, приводящим к значительному снижению остроты зрения.

Одной из особенностей диагностики кератоконуса является тот факт, что на ранних стадиях заболевания его детекция с помощью стандартных методов исследований и рутинного осмотра практически не возможна. Специализированное диагностическое оборудование, позволяющее обнаружить кератоконус на ранних и латентных стадиях заболевания предусмотрено лишь в крупных диагностических центрах, куда пациент очень часто попадает лишь через время с выраженным признаками прогрессии. Повышение интереса к диагностике кератоконуса, обусловлено так же растущей частотой лазерных рефракционных вмешательств по поводу близорукости и астигматизма у молодых пациентов, что существенно повы-

шает риск реактивного развития кератоэктазии. В связи с этим, в мире ведется активная работа по поиску не только клинико-функциональных подтверждений кератоконуса, но и перспектив молекулярно-лабораторной диагностики.

К настоящему моменту доказана генетическая природа кератоконуса, однако, неоднородность полученных данных в различных популяциях говорит о его гетерогенности. Зарубежными исследователями были проведены многочисленные исследования семейных и спорадических случаев кератоконуса с целью выявления генетических причин развития данного вида патологии глаза. В отечественной литературе обнаружена единственная работа, в которой упоминается о возможной связи гетерозиготного носительства полиморфных аллелей $c.73-108T>A$ и $c.70+34A>C$ в инtronе гена SOD1 с развитием кератоконуса. Определение новых кандидатных генетических биомаркеров кератоконуса может стать ключевым звеном, как в диагностике кератоконуса, так и в дальнейшем – при планировании различных подходов к его лечению.

В настоящее время наиболее распространенными современными методиками лечения кератоконуса являются: кросслинкинг роговичного колагена, межслойная кератопластика с имплантацией интрастромальных роговичных сегментов, глубокая передняя послойная кератопластика (ГППК) и сквозная кератопластика (СКП).

При далекозашедших стадиях кератоконуса наиболее эффективным считается проведение передней глубокой послойной кератопластики (ГППК), однако, несмотря на очевидные преимущества, распространение ГППК не стало повсеместным. По данным мировой литературы частота разрыва ДМ варьирует в широких пределах, от 0 до 23% операций ГППК завершается как СКП.

Первая передняя послойная кератопластика была проведена еще в середине XX века, однако, несмотря на большое количество имеющихся модификаций, наибольший интерес на сегодняшний день представляет предложение M.Anwar и K.Teichman. Их идея заключалась в ведении воздуха в глубокие слои стромы, для последующего выделения ДМ. Данная методика получила название техники «большого пузыря» или «big-bubble». Ряд исследований показал, что при помощи фемтосекундного лазера можно частично стандартизировать процедуру послойной кератопластики, повысив её безопасность и предсказуемость.

Несмотря на то, что, по мнению многих авторов, проведение ГППК с фемтосопровождением делает данную процедуру более безопасной и снижает риск послеоперационных осложнений, продолжается поиск новых методик, направленных на снижение риска перфорации ДМ.

Вышеупомянутые проблемы обусловливают актуальность поиска путей совершенствования методов диагностики и хирургического лечения кератоконуса.

Связь с планом научным исследований

Диссертация Белодеевой А. В. на тему «Диагностика и хирургическое лечение кератоконуса на основе углубленного изучения генетических аспектов заболевания и фемто-ассистированной кератопластики» выполнена в соответствии с планами научно-исследовательских работ ФГАУ «ИМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России.

Исследование поддержано грантом Российского Фонда Фундаментальных исследований «офи_м»: Конкурс ориентированных фундаментальных исследований по актуальным междисциплинарным темам «Роль генетических и аутоиммунных факторов в патогенезе кератоконуса» №17-29-06077(2017-2019гг.)

Научная новизна исследования и полученных результатов

Впервые в российской популяции определена частота встречаемости полиморфных вариантов генов, ассоциированных с кератоконусом, в частности: rs1536482 рядом с геном *COL5A1* и rs7044529 в гене *COL5A1*, rs2286194 в гене *HGF*, rs4954218 в гене *MAP3K19*, rs4839200 в гене *KCND3*, rs2721051 вблизи гена *FOXO1*, rs1324183, расположенного между генами *MPDZ* и *NF1B*, и rs121908120 в гене *WNT10A*.

Установлена значимая ассоциация полиморфного варианта rs1536482 рядом с геном *COL5A1* и rs2721051 вблизи гена *FOXO1* с кератоконусом у пациентов российской популяции

По результатам мета-анализа выборок пациентов с кератоконусом европейского происхождения и данных настоящего исследования выявлены низкие значения индекса гетерогенности (I^2) для rs1536482 рядом с геном *COL5A1*, rs7044529 в гене *COL5A1*, rs2721051 вблизи гена *FOXO1* и rs1324183, расположенного между генами *MPDZ* и *NF1B*, (21%, 0%, 0% и 24%, соответственно), что открывает перспективы для дальнейших исследований.

Разработана модифицированная техника проведения передней глубокой послойной фемто-ассистированной кератопластики лазером с созданием интрастромальных тоннелей. Данная техника характеризуется высоким процентом формирования большого пузыря (64,3%) и небольшим процентом перфорации Десцеметовой мембранны (7,1%), относительной простотой выполнения, сокращением времени проведения хирургического вмешательства и высокими клинико-функциональными результатами.

Впервые проведена сравнительная характеристика клинико-функциональных результатов различных техник фемто-ассистированной передней глубокой послойной кератопластики.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Определены молекулярно-генетические варианты (rs1536482 рядом с геном *COL5A1* и rs2721051 вблизи гена *FOXO1*), которые пациентов позволяют увеличить в 2,58 раз вероятность обнаружения кератоконуса у пациентов, что создает базовые предпосылки для дальнейшего поиска генетических маркеров предрасположенности к этому заболеванию.

Разработана модифицированная техника проведения передней глубокой послойной фемто-ассистированной кератопластики, основанная на создании интрастромальных тоннелей, с последующим введением в них воздуха для отделения стромы от Десцеметовой мембранны. Данная методика сводит к минимуму характерные для метода послойной кератопластики интраоперационные осложнения, сокращает время проведения хирургического вмешательства и обеспечивает высокие клинико-функциональные результаты.

Использование модифицированной фемто-ассистированной техники с формированием интрастромальных тоннелей дает возможность достижения формирования «большого пузыря» у 64,3% пациентов, на фоне снижения числа интраоперационных перфораций Десцеметовой мембранны до 7,1%.

Разработанная модифицированная фемто-ассистированная техника может быть применена в хирургической практике для выполнения передней глубокой послойной кератопластики.

Достоверность выводов и положений, личный вклад автора

Работа выполнена на современном методическом уровне. Для генетических исследований использована относительно небольшая выборка представителей российской популяции, включившая 170 пациентов: 70 пациентов с клинически верифицированным диагнозом кератоконус (исследуемая группа) и 100 пациентов с отсутствием кератотонуса (контрольная группа), однако, учитывая широкую распространенность кератотонуса в популяции, ее можно считать репрезентативной для поиска генетических маркеров данного заболевания. Гены-кандидаты, предположительно вовлеченные в структуру предрасположенности к развитию кератоконуса, отобраны по данным литературных источников, что соответствует современным подходам к поиску генетических маркеров многофакторных заболеваний. Для генотипирования использовали современные методы полимеразной цепной реакции (ПЦР) и секвенирования по Сэнгеру ПЦР-продуктов. Исследования выполнялись в лаборатории молекулярной генетики человека ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России, что гарантирует подлинность результатов и правомерность их интерпретации. Анализ полученных результатов проводили с использованием программ Microsoft Excel 2017 и StatPlus:mac Pro 6.2.2.0 (Analyst Soft Inc., США). Расчеты и построение диаграмм для мета-анализа происходили с помощью применения пакета программ R – meta. Обоснованность выводов и рекомендаций не вызывает сомнений.

Автор принимал непосредственное участие на всех этапах исследования.

Рекомендации по использованию диссертационной работы в практике

1. При проведении фемто-ассистированной ГППК целесообразно отдать предпочтение модифицированной технике с формированием интрастромальных тоннелей в связи с меньшим количеством интраоперационных осложнений и сокращением времени нахождения пациента в наркозе.
2. При формировании интрастромальных тоннелей, следует выбирать локализацию входа в тоннель на 12 или 15 часах для удобства введения воздуха.
3. Между окончанием тоннеля и ДМ должно быть не менее 100 мкм для снижения риска перфорации и минимизации лазерного воздействия на эндотелий.

4. Длина интрастромального тоннеля для введения воздуха должна быть не менее 90 мкм и не более 150 мкм для наилучшего достижения воздухом ДМ и профилактики прорезывания стенок тоннеля.

Апробация работы и публикации

Результаты исследования внедрены в практику Головной организации и филиалов ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, а также включены в цикл лекций для клинических ординаторов, аспирантов и курсантов в Научно-педагогическом центре ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России и кафедры глазных болезней ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» МЗ РФ.

По материалам исследования опубликованы печатные работы в журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации результатов диссертационных исследований. По теме работы получен патент РФ на изобретение № 2695628, от 24 июля 2019 года.

Основные положения диссертационной работы представлены на всероссийских научно-практических конференциях с международным участием: «Федоровские чтения» (Москва 2018, 2019) и «Современные технологии катарактальной и рефракционной хирургии» (Москва 2019), LXX Конгрессе Делийского Офтальмологического общества (Дели 2019), XXXVII Конгрессе Европейского Общества Катарактальных и Рефракционных хирургов (Париж, 2019), IV Российском национальном конгрессе с международным участием «Трансплантация и донорство органов» (Москва, 2019), еженедельных научно-практических конференциях ФГАУ НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России (Москва, 2019).

Работа соответствует паспорту специальностей 14.01.07 – глазные болезни (медицинские науки) и 03.02.07 – генетика (медицинские науки).

Замечаний и вопросов к работе нет.

Заключение

Диссертационная работа Белодедовой Александры Владимировны на тему: «Диагностика и хирургическое лечение кератоконуса на основе углубленного изучения генетических аспектов заболевания и фемто-ассистированной кератопласти-

ки», является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, имеющее значение для развития офтальмологии и медицинской генетики.

Диссертационная работа Белодедовой А. В. 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 (медицинские науки) и 03.02.07 – генетика (медицинские науки), а ее автор заслуживает присвоения ученой степени.

Отзыв о научно-практической значимости диссертации обсужден итвержден на совместном заседании кафедр глазных болезней и медицинской генетики федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Протокол № 9 от « 2 » марта 2020 г.

Заведующая кафедрой глазных болезней
ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова»
Минздрава России
д.м.н., профессор

Н.А. Гаврилова

Заведующая кафедрой медицинской генетики
ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова»
Минздрава России
д. м. н., профессор



Л.В. Акуленко

Подписи д.м.н., профессора Н.А. Гавриловой
и д.м.н., профессора Л.В. Акуленко заверяю:
Ученый секретарь ФГБОУ ВО
«МГМСУ им. А.И. Евдокимова»
Минздрава России
д.м.н., профессор

Юридический и почтовый адрес:
127473, г. Москва, ул. Делегатская, д.20, стр.1
Тел.: +7 (495) 609-67-00
Сайт: www.msmsu.ru
E-mail: msmsu@msmsu.ru