

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента, доктора биологических наук Сабуриной Ирины Николаевны на диссертацию Миридоновой Анны Владимировны «Экспериментально-клиническое обоснование ранних сроков хирургического лечения пациентов с идиопатическими эпиретинальными мембранами», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.07 – глазные болезни, 14.03.03 – патологическая физиология

### **Актуальность темы исследования**

Диссертационная работа Миридоновой Анны Владимировны посвящена актуальной проблеме оптимизации лечения пациентов с идиопатическими эпиретинальными мембранами (иЭРМ). Миллионы людей в мире, в том числе и в России, страдают от данной патологии, которая при отсутствии должного своевременного лечения вызывает прогрессирующее необратимое снижение остроты зрения. Широкая распространенность иЭРМ связана с отсутствием каких-либо клинических признаков на ранних скрытых стадиях заболевания, хотя патологический процесс, как правило, уже запущен. Проблема, вероятно, обусловлена нашим недостаточным знанием механизмов патогенеза данного заболевания и вследствие этого, использованием малоэффективных методов как диагностики, так и лечения.

Известно, что формирование идиопатических эпиретинальных мембран представляет собой итог сложного взаимодействия на тканевом, клеточном и молекулярном уровнях, на который как напрямую, так и косвенно воздействует множество факторов: многообразие клеточных элементов соединительной ткани, их функциональные различия на разных стадиях дифференцировки, изменение экспрессии генов важнейших регуляторных и рецепторных белков. Исследование морфологической взаимосвязи и взаимодействия кортикальных слоев стекловидного тела и внутренней пограничной мембранны сетчатки, их возрастных изменений, пусковых механизмов клеточной миграции, пролиферации и трансформации представляет значительный интерес для патофизиологии и офтальмологии с целью углубления понимания возникновения данной патологии.

Новое понимание основных патогенетических звеньев идиопатического фибротического процесса в макулярной области позволит также систематизировать многочисленные противоречивые имеющиеся данные по этому вопросу и определить алгоритм диагностических и лечебных процедур

В связи с вышеизложенным диссертационная работа А.В. Миридоновой, основным содержанием которой является изучение патофизиологических механизмов формирования и прогрессирования идиопатического эпиретинального фиброза и обоснование сроков хирургического лечения пациентов в зависимости от стадии пролиферативного процесса, несомненно, является актуальной и имеет важное значение как для медицинской практики, так и для фундаментальной науки.

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

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, представленных в диссертационной работе Миридоновой А.В., не вызывает сомнений и подтверждается достаточным объемом набранного материала, включающего эксперименты на культуре клеток ретинального пигментного эпителия, морфологическое исследование и динамическое наблюдение пациентов с идиопатическими эпиретинальными мембранами.

Диссидентом методологически верно определены цель и задачи исследования. Глубокий анализ полученных данных, применение статистический обработки в полной мере подтверждают достоверность полученных автором результатов, которые согласуются с данными, имеющимися в мировой литературе. Положения, выводы и практические рекомендации, выносимые на защиту, логично вытекают из полученных результатов, являются корректными и научно обоснованными.

По теме диссертации автором опубликованы 11 печатных работ, 5 из которых - в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ. Имеющийся патент на изобретение еще раз подтверждает достоверность и приоритетность

данной работы. Материалы диссертации были неоднократно представлены и обсуждены на научно-практических конференциях.

#### **Научная новизна полученных результатов исследования**

Результаты данного диссертационного исследования являются оригинальными и приоритетными. Впервые в эксперименте *in vitro* на ретинальном пигментном эпителии изучена эпителиально-мезенхимальная пластичность, проявляющаяся в изменение экспрессии маркеров и индукторов феномена, а именно виментина, a-SM актина, Snail + Slug. А также изучены патофизиологические механизмы формирования и прогрессирования идиопатического эпиретинального фиброза и идентифицирован морфологический состав ЭРМ на различных этапах формирования и степени их зрелости, выражющейся в трансформации клеточного состава в мезенхимальный фенотип, проявляющий свойства миофибробластоподобных клеток, способных к производству компонентов экстрацеллюлярного матрикса (коллаген IV, VI типов). Изучена морфология и динамика клинико-функциональных изменений у пациентов с идиопатическим эпиретинальным фиброзом на разных этапах его формирования, выражаясь в нарастающей трансдифференцировке исходных клеток в миофибробластоподобные и в прогрессирующем необратимом снижении остроты зрения. Впервые обоснованы сроки раннего хирургического удаления иЭРМ ввиду начальной трансформации клеток в мезенхимальный фенотип, приводящей к слабой адгезии эпиретинальной и внутренней пограничной мембран, коррелиирующими с МКОЗ и СЧ, как прогностически значимыми критериями восстановления зрения оперированных пациентов ( $r=0,731$ ,  $p<0,000$ ).

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

Выполненная Миридоновой А.В. диссертационная работа, несомненно, имеет высокую научную и практическую ценность. Результаты исследования позволяют обеспечивать наиболее точное прогнозирование исходов оперативного лечения и способствуют корректному отбору пациентов для хирургического вмешательства. Данные, полученные при изучении морфологического состава и зрелости эпиретинальных мембран на различных

этапах формирования эпиретинального фиброза, позволяют определять оптимальные сроки проведения хирургического вмешательства, не ожидая перехода заболевания в тяжелый пролиферативный процесс, улучшить функциональные результаты лечения данной патологии, ускорить медицинскую и социальную реабилитацию пациентов за счет повышения остроты и качества зрения. Кроме того, уточненные прогностически значимые критерии восстановления зрительных функций позволяют определять необходимость, перспективность и сроки хирургического лечения преретинального фиброза, корректно ориентировать пациентов на своевременное проведение оперативного вмешательства с целью достижения максимально возможного функционального результата.

**Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации**

Для проведения научного исследования эпителиально-мезенхимальной трансформации разработаны методологические подходы и методы, которые могут применяться в экспериментальных исследованиях в области витреоретинальной хирургии. С помощью имmunогистохимического анализа могут быть изучены следующие ростовые факторы: виметин,  $\alpha$ -SM актин, Snail + Slug, коллагены 4 и 6 типов, которые оказывают влияние на раннее и позднее коллагенообразование, фиброзирование и ремоделирование ткани сетчатки в различные сроки наблюдения в зависимости от конституциональных особенностей глаза человека. Проведение раннего хирургического лечения пациентов с идиопатическими эпиретинальными мембранами позволяет удалять патологическую ткань с поверхности сетчатки без излишнего травматического воздействия ввиду менее выраженной трансформации клеточного состава и низкого уровня содержания компонентов экстрацеллюлярного матрикса, которые приводят к ремоделированию ткани сетчатки и прогрессирующему снижению остроты зрения. Это позволяет улучшить функциональные результаты лечения данной патологии, ускорить медицинскую и социальную реабилитацию пациентов за счет патологии, ускорить медицинскую и социальную реабилитацию пациентов за счет

повышения остроты и качества зрения, повысить удовлетворенность результатами операции.

### **Содержание диссертационной работы и ее завершенность**

Диссертационная работа Мирионовой А.В. включает результаты глубоких многоэтапных экспериментальных, морфологических и клинических исследований.

Диссертация изложена на 159 страницах машинописного текста, проиллюстрирована 50 рисунками и 14 таблицами. Работа написана в классическом стиле и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3-х глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций. Библиографический список включает 191 источник, из них 44 отечественных и 147 зарубежных авторов.

Во введении автор обосновывает целесообразность проведения исследования, новизну и практическую значимость, определяет цель и задачи, формулирует основные положения, выносимые на защиту.

**Обзор литературы** хорошо структурирован и отражает ключевые вопросы исследуемой проблемы. Диссидентом рассмотрены современные данные о эпителиально-мезенхимальной трансформации, ключевых механизмах фиброзного процесса, о факторах риска, этиологии и патогенезе и современных способах лечения иЭРМ. Содержание обзора свидетельствует об уверенной ориентации автора в классической и современной литературе по изучаемой проблеме.

Вторая глава посвящена описанию **материалов и методов исследования** и отражает весь спектр использованных в работе методов, включая выделение и культивирование клеток ретинального пигментного эпителия, различные методы анализа результатов – подготовку и обработку лабораторного и клинического материала, иммуноцитохимическое и иммуногистохимическое окрашивание. Детально описаны методы обследования пациентов и статистической обработки полученных результатов. Арсенал примененных автором лабораторных и клинических приемов весьма широк, тщательность и корректность их описания заслуживают высокой оценки.

**Результаты исследований** автор подробно излагает в третьей, четвертой и пятой главах диссертации.

Третья глава посвящена методу выделения и культивирования клеток ретинального пигментного эпителия (РПЭ). Диссертант показывает возможность эпителиально-мезенхимальной трансформации выделенных РПЭ при культивировании в течение 5 пассажей. Динамика трансформации клеток в мезенхимальный фенотип подтверждена экспрессией виментина,  $\alpha$ -SM актина, Snail + Slug, что убедительно проиллюстрировано на микрофотографиях. Полученные результаты показывают, что культура клеток может быть использована, как удобная модель для изучения клеточной пролиферации, миграции, дифференцировки и изменения клеточного фенотипа. Представлены результаты морфологического исследования удаленных образцов мембран. На примере прогрессирования идиопатического эпиретинального фиброза прослежена эпителиально-мезенхимальная трансформация клеточного состава в мезенхимальный фенотип. Наблюдаемое при этом увеличение экспрессии виментина,  $\alpha$ -SM актина, Snail + Slug и компонентов внеклеточного матрикса (коллагены VI и IV типов), снижение экспрессии GFAP, CRALBP, CD45 говорит о вовлечении в процесс все большего количества клеток, их активации и трансдифференцировки в миофибробластоподобные клетки. Полученные результаты автор анализирует и обсуждает с учетом современного состояния исследований по данной проблеме.

В четвертой главе автор оценивает характер удаления эпиретинальной мембраны с поверхности сетчатки во время хирургического вмешательства и проводит корреляцию с их морфологическим составом. Диссертантом показано, что с течением времени пролиферативный процесс прогрессирует и захватывает все большее количество клеток, приводя к грубым и необратимым анатомо-функциональным повреждениям, выражющимся в значительном снижении качества зрения. Автор считает, что ключевым моментом в процессе формирования и прогрессирования ЭРМ является их трансдифференцировка в миофибробластоподобные клетки, которые проявляют сократительные свойства,

способствуя сморщиванию мембранны и натяжению сетчатки. Кроме того, активная пролиферация данных клеток приводит к увеличению синтеза коллагена, в то время как распад продуктов ЭЦМ замедляется. Это вызывает дальнейшее усиление симптомов у пациента, проявляющееся в прогрессированном снижении остроты зрения и увеличении метаморфопсий, а также увеличении адгезии мембран к поверхности сетчатки.

В пятой главе автор сравнивает клинико-функциональные результаты лечения 75 пациентов. А также проводит корреляционный и регрессионный анализ зависимости послеоперационной МКОЗ от дооперационных параметров. На основании результатов исследования автор делает вывод, что скорость восстановления остроты зрения и степень регресса толщины сетчатки в центральной зоне коррелирует с тяжестью дооперационных пролиферативных изменений в макулярной области. Кроме этого, морфо-функциональные нарушения, вызванные иЭРМ, являются необратимыми и, зачастую, зависят не столько от техники хирургического сопровождения, сколько от сроков его проведения.

Завершается диссертация общим **заключением**, которое содержит краткое изложение результатов исследования и в котором на основании сопоставления собственных результатов с литературными данными автор приходит к логическому заключению, что раннее выполнение хирургического вмешательства является более рациональным и может предотвратить развитие необратимых повреждений сетчатки в макулярной области, а также способствовать более быстрому восстановлению зрительных функций после удаления нежной патологической ткани без излишнего травматического воздействия на сетчатку за счет минимальной адгезии мембранны к поверхности сетчатки. Завершением работы являются выводы, полностью соответствующие поставленным задачам и положениям, выносимым на защиту, а также практические рекомендации.

#### **Соответствие автореферата основным положениям диссертации.**

Представленный автореферат полностью отражает основное содержание диссертационной работы, положения и выводы.

### **Вопросы и замечания**

Признавая несомненные достоинства данной работы, тем не менее, имеются незначительные замечания по ее оформлению.

В списке сокращений нет расшифровки некоторых использованных в тексте сокращений.

Часто иллюстрационный материал отделен от места его описания, что усложняет восприятие результатов.

В качестве дискуссии хотелось бы, чтобы автор ответил на следующие вопросы. В эксперименте на культуре клеток ретинального пигментного эпителия установлено, что в процессе культивирования клетки претерпевают эпителио-мезенхимальную трансформацию (ЭМТ). Известно, что существуют блокаторы и индукторы ЭМТ. Применял ли автор в своей работе блокаторы или индукторы, что дает возможность контролировать эти переходы и что известно диссертанту по этому вопросу по литературным данным. Представляется интересным обсудить, является ли иЭРМ возраст-ассоциированным заболеванием, т.к. в литературном обзоре есть ссылки на то, что иЭРМ с большей частотой наблюдаются после 60 лет. И есть ли корреляция иЭРМ с сердечно-сосудистыми заболеваниями, т.к. хорошо известно, что в формировании фиброзной ткани активно участвуют эндотелиоциты, в том числе и при повреждении сосудов.

Изложенные выше замечания носят рекомендательный характер и не подвергают сомнению адекватность использованных методов и достоверность полученных результатов. Работа представляется новой, интересной, проведенной на высоком теоретическом и методическом уровне.

### **Заключение**

Диссертационная работа Мирионовой Анны Владимировны на тему «Экспериментально-клиническое обоснование ранних сроков хирургического лечения пациентов с идиопатическими эпиретинальными мембранами», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на высоком научном и методологическом уровне. В работе содержится результаты

изученных патофизиологических механизмов формирования и прогрессирования идиопатического эпиретинального фиброза, на основе которых обоснованы сроки хирургического лечения пациентов. Работа полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013, предъявляемым к докторским диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присвоения искомой степени кандидата медицинских наук по специальностям 14.01.07 – глазные болезни, 14.03.03 – патологическая физиология

Заведующая лабораторией клеточной биологии  
и патологии развития ФГБНУ  
«Научно-исследовательский институт  
общей патологии и патофизиологии»  
доктор биологических наук  
«11 февраля 2020 г.

 Сабурина И.Н.

«ЗАВЕРЯЮ»

Ученый секретарь ФГБНУ  
«Научно-исследовательский институт  
общей патологии и патофизиологии»  
кандидат медицинских наук



Скуратовская Л.Н.

Юридический и почтовый адрес:  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»  
125315, Москва, ул Балтийская, д.8  
Телефон: +7-499-151-1756  
Сайт в интернете: <http://www.niopp.ru>  
E-mail: [niopp@mail.ru](mailto:niopp@mail.ru)