



«УТВЕРЖДАЮ»  
Зам. Директора по научной работе  
ФГБНУ «НИИ глазных болезней»  
М.В. Будзинская

2021 г.

### **ОТЗЫВ ВЕДУЩЕГО УЧРЕЖДЕНИЯ**

о научно-практической ценности диссертации Керимова Тимура Захировича «Разработка и обоснование технологии вирусной деконтаминации донорских роговиц на этапе консервации», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.5. – офтальмология, 3.1.14. – трансплантология и искусственные органы.

#### **Актуальность темы диссертации**

Диссертационная работа Керимова Т.З. направлена на решение одной из важнейших проблем в офтальмологии – создании новых технологий консервации трупного донорского материала, а именно – разработке технологии, обеспечивающей эффективную вирусную деконтаминацию донорских роговиц на этапе консервации в глазном тканевом банке.

Хорошо известно, что основным инфекционным агентом, поражающим роговицу, является вирус герпеса человека. В настоящее время выделяют 8 типов вирусов герпеса, однако именно вирус простого герпеса 1 типа (ВПГ-1) представляет наибольшую инфекционную опасность, поскольку чаще других типов герпесвирусов человека обнаруживается в ткани роговицы.

Исследования, проведенные в 90-х годах XX века и в первом десятилетии XXI века, показали способность ВПГ-1 передаваться через донорский трансплантат от инфицированных доноров к неинфицированным реципиентам, вызывать отторжение пересаженного трансплантата, и приводить к первичному инфицированию реципиента.

При этом вирус простого герпеса 1 типа широко распространен в популяции. Отмечены значительные отличия в распространенности ВПГ-1 по

регионам. Отмечена корреляция частоты встречаемости данного вируса и социально-экономического уровня населения. Описанная герпетическая инфекция остается активной в кадаверных глазах.

Современные среды для консервации донорской роговицы содержат в своем составе антибиотики и антимикотики для подавления роста патогенной микрофлоры. Однако, данные препараты не обладают противовирусной эффективностью в отношении вирусов, в том числе герпесвирусов. Современными препаратами для борьбы с ВПГ-1 являются представители двух фармакологических групп: аномальных нуклеозидов и интерферонов с их индукторами.

Единственным радикальным методом лечения кератитов герпетической этиологии остается сквозная кератопластика трупным донорским материалом, а также различные варианты послойной кератопластики. В последние годы с популярностью послойных кератопластических операций увеличилось число сообщений о несостоятельности трансплантатов по причине их контаминации ВПГ-1. Наличие данного вируса в эндотелии донорских роговиц приводит к более быстрому снижению плотности эндотелиальных клеток после кератопластики по сравнению с роговицами, не содержащими данный вирус.

В работах отечественных исследователей установлено, что ВПГ-1 является основной этиологической причиной инфекционных поражений роговицы у граждан России. Также вирусам герпеса отводится роль ведущей инфекционной причины роговичной слепоты.

Инфицирование донорской роговицы ВПГ-1 усугубляется обязательно проводимой медикаментозной иммуносупрессией в послеоперационном периоде. Установлено, что назначение глюкокортикостероидной терапии после пересадки, контаминированной ВПГ-1 роговицы может приводить к реактивации данного вируса с последующими негативными последствиями вплоть до развития реакции тканевого отторжения.

В связи с этим разработка технологии вирусной деконтаминации донорских роговиц является актуальным и своевременным исследованием.

### **Связь с планом научных исследований**

Диссертация Керимова Т.З. на тему: «Разработка и обоснование технологии вирусной деконтаминации донорских роговиц на этапе консервации» выполнена в соответствии с планами научно-исследовательских работ ФГАУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России. Работа соответствует специальностям 3.1.5. – Офтальмология и 3.1.14. – Трансплантология и искусственные органы.

### **Научная новизна исследования**

Проведенный в диссертационной работе сравнительный анализ технологии вирусной деконтаминации донорских роговиц в разработанном консервационном растворе и базисной технологии консервации в растворе для хранения роговицы показал, что данные технологии не имеют статистически значимых отличий до 6-х суток консервации включительно ( $p > 0,05$ ) в аспекте воздействия на плотность, площадь, коэффициент гексагональности эндотелиальных клеток. Также не было обнаружено статистически значимых отличий ( $p > 0,05$ ) между данными технологиями в жизнеспособности, функциональной активности, фенотипической характеристике клеток заднего эпителия роговицы, после консервации до 6 суток включительно. Сканирующая электронная микроскопия консервированных роговиц также показала полную идентичность в микростроении заднего эпителия и складчатости десцеметовой мембраны.

Впервые продемонстрированная возможность активировать звенья врожденного иммунитета в клетках и ткани трупной донорской роговицы при помощи краткосрочной стимуляции индукторами интерферона. Автором впервые проведено последовательное исследование *in vitro* воздействия индукторов интерферонов на кератоциты и фибробласты, выделенные из донорских роговиц с последующей количественной оценкой уровней синтезированных эндогенных

интерферонов 1 типа (интерферона-альфа и интерферона-бета), которые являются ключевыми звеньями противовирусного врожденного иммунитета. Также впервые показана способность консервированных донорских роговиц при консервации по предлагаемой технологии в разработанном растворе экспрессировать собственный интерферон 1 типа в ходе суточного нормотермического органотипического культивирования.

Впервые разработана технология вирусной деконтаминации донорских роговиц на этапе консервации, позволяющая проводить эффективную элиминацию вируса простого герпеса 1 типа из донорских роговиц, в том числе за счет стимуляции синтеза собственных интерферонов 1 типа.

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

В работе сообщаются фундаментальные и экспериментальные данные, подтверждающие способность клеток роговицы синтезировать собственные эндогенные интерфероны 1 типа в эксперименте *in vitro*. Разработанная технология вирусной деконтаминации донорских роговиц на этапе консервации позволяет активировать внутриклеточные биологические противовирусные механизмы врожденного иммунитета, что способствует эффективной деконтаминации вируса простого герпеса 1 типа в процессе консервации роговицы.

Фундаментальный механизм активации звеньев врожденного иммунитета в клетках донорских роговиц представляет особую значимость для офтальмологии и фундаментальной медицины в целом, поскольку подобные исследования не представлены в литературе.

Важным для практического использования является разработанный раствор и предложенная технология вирусной деконтаминации, поскольку их применение в условиях глазных тканевых банков будет препятствовать распространению ВПГ-1, и снизит вероятность реактивации вируса простого герпеса 1 типа в раннем послеоперационном периоде.

Полученные результаты работы используются в Глазном тканевом банке ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России.

Авторами впервые показано, что при стимуляции фармакологическими средствами клеточных культур кератоцитов и фибробластов стромы донорской роговицы, происходит выработка эндогенного интерферона-альфа и интерферона-бета.

#### **Достоверность выводов и положений, выносимых на защиту, личный вклад автора**

Диссертационная работа Керимова Т.З. выполнена с использованием современных объективных методов исследования, включающих полимеразную цепную реакцию, вирусологические и культуральные методы, иммуногистохимический, иммуноцитохимический и иммуноферментный анализы, проточную цитофлуориметрию, сканирующую электронную микроскопию, лазерную сканирующую конфокальную микроскопию.

Выводы основываются на достаточном объеме фактического материала, корректных методиках статистической обработки. Таким образом, достоверность выводов не вызывает сомнений. Практические рекомендации сформулированы четко и подкреплены результатами проведенных этапов исследования. Автореферат и опубликованные работы полностью отражают основные положения диссертации.

#### **Рекомендации по использованию результатов диссертационной работы в практике**

Проведенная Керимовым Т.З. экспериментальная работа показала способность предложенной технологии и разработанного консервационного раствора проводить эффективную вирусную деконтаминацию трупных донорских роговиц на этапе консервации в условиях глазного тканевого банка. Дальнейшее развитие данного направления позволит внедрить данную

технологии в ежедневную практику, что будет способствовать снижению риска послеоперационных осложнений, связанных с герпесвирусной реактивацией.

Для создания раствора для вирусной деконтаминации с противогерпетическими свойствами наиболее оптимальным является сочетание аномального нуклеозида и индуктора интерферона в концентрации 0,5 мг и 1 мг на 100 мл раствора. Разработанная технология позволяет проводить эффективную вирусную деконтаминацию трупных донорских роговиц на этапе консервации для предупреждения передачи герпетической инфекции от инфицированного донора к неинфицированному реципиенту, а также снижает вероятность реактивации латентного ВПГ-1, находящегося в донорском трансплантате роговицы.

Результаты исследований внедрены в работу Глазного тканевого банка ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России. Считаю, что для подтверждения эффективности и безопасности разработанной диссертантом технологии необходимо проведение дальнейших дополнительных исследований в клинической практике.

#### **Личный вклад автора**

Фундаментальная часть исследования выполнялась на базе Центра фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, г. Москва.

Экспериментальная работа с вирусом простого герпеса 1 типа проводилась на базе Лаборатории сравнительной вирусологии с Российским центром по герпесу Института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФГБУ «Федерального научно-исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, г. Москва.

Работа с донорским материалом проводилась на базе Глазного тканевого банка ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, г. Москва.

Автор принимал непосредственное участие в постановке задач исследования и разработке концепции, осуществлял сбор материала для исследования, лично выполнял стендовые и экспериментальные исследования. Автором сформирована база данных, проведена статистическая обработка, анализ и интерпретация полученных результатов.

Диссертация написана по традиционному плану, хорошим литературным языком, изложена на 161 странице машинописного текста. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы, посвященной материалам и методам исследования, главы результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и указателя используемой литературы, включающего 291 ссылку, из них 37 отечественных и 254 зарубежных источника, иллюстрирована 21 таблицами и 33 рисунками.

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертационной работы. Результаты исследования достаточно полно опубликованы в 8 работах, среди которых 1 патент РФ на изобретение, 3 статьи журналах, входящих в Перечень РФ рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации на соискание ученой степени кандидата наук и ученой степени доктора наук и представлены в 7 докладах на российских и международных научных конференциях.

Предложенные подходы могут стать основой для последующего применения данной медицинской технологии в клинике.

### **Заключение**

Таким образом, диссертационная работа Керимова Тимура Захировича «Разработка и обоснование технологии вирусной деконтаминации донорских роговиц на этапе консервации» является завершенным научно-квалификационным трудом, выполненным на высоком научном и методологическом уровне. В работе содержится новое решение актуальной задачи в офтальмологии, а именно: предлагается технология вирусной деконтаминации донорских роговиц за счет комбинации условий консервации

и разработанного раствора с противовирусными свойствами, безопасного для клеток заднего эпителия, что открывает перспективу эффективной деконтаминации консервированных донорских роговиц от вируса простого герпеса 1 типа.

По своей актуальности и научно-практической значимости работа Керимова Т.З. соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года №842, в редакции постановления Правительства РФ №335 от 21 апреля 2016 года, а сам автор – Керимов Тимур Захирович достоин присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.5. – офтальмология и 3.1.14. – трансплантология и искусственные органы.

Отзыв о научно-практической значимости диссертации заслушан, обсужден и утвержден на заседании проблемной комиссии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт глазных болезней», протокол №38 от 20 сентября 2021 г.

Доктор медицинских наук, профессор,  
зав. отделом офтальморезабилитации  
ФГБНУ «НИИ глазных болезней»

05.10.21г.

«ЗАВЕРЯЮ»  
Ученый секретарь «ФГБНУ «НИИГБ»  
доктор медицинских наук



В.М. Шелудченко

М.Н. Иванов

Адрес: 119021 Российская Федерация, г. Москва, ул. Россолимо 11А, Б  
Телефон: +7 (499) 110-45-45  
Электронный адрес: info@eyeacademy.ru  
Адрес в сети Интернет: <https://niigb.ru/>