

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук, профессора Ченцовой Екатерины Валериановны
на диссертационную работу 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 и

3.1.14. – трансплантология и искусственные органы

Актуальность избранной темы

Диссертационная работа Керимова Т.З. посвящена решению актуальной проблемы офтальмологии и фундаментальной медицины – разработке принципиально новой технологии противовирусной защиты трансплантата роговицы на этапе консервации в глазном тканевом банке.

Современным радикальным способом лечения поражений роговицы остается кератопластика с использованием донорских роговиц, получаемых от доноров-трупов. Учеными из разных стран показана способность вируса простого герпеса 1 типа передаваться через донорский трансплантат в ходе кератопластики, что может приводить к отторжению трансплантата.

На сегодня в мире не разработаны способы диагностики вируса простого герпеса 1 типа на этапе предоперационной подготовки и консервации трупного донорского материала в глазном тканевом банке, не описаны способы противовирусной защиты трансплантата роговицы на предоперационном этапе.

В связи с этим разработка принципиально новых подходов к диагностике контаминации трупных донорских роговиц вирусом простого герпеса 1 типа и способов его деконтаминации представляет несомненную актуальность для клинической офтальмологии и фундаментальной медицины. Актуальность и значимость проведенных исследований подтверждается достаточным количеством работ, опубликованных по теме диссертационного исследования.

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

Работа построена логично. Методологически верно определены цель и задачи исследования. Работа выполнена с использованием достаточного количества экспериментального материала и с применением современных лабораторно-диагностических методов исследования. Проведенный анализ полученных данных с использованием методов математической статистики подтверждает достоверность, обоснованность и аргументированность выносимых на защиту положений, выводов и практических рекомендаций и имеет несомненное научное и практическое значение.

Автореферат, опубликованные 8 научных работ, включая 4 в журналах, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией (ВАК) Министерства образования и науки Российской Федерации (РФ) и 2 патента РФ на изобретение, полностью отражают содержание диссертационной работы.

Материалы диссертации достаточно полно и неоднократно представлялись на ряде российских научных конференциях.

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

Научная новизна исследования не вызывает сомнений.

Впервые проведен анализ контаминированности трупных донорских роговиц вирусом простого герпеса 1 типа на донорском материале Глазного тканевого банка.

Впервые предложен и разработан раствор для вирусной деконтаминации трупных донорских роговиц на этапе консервации.

Впервые предложена и разработана технология вирусной деконтаминации донорских роговиц, позволяющая проводить эффективную предоперационную профилактику передачи герпесвирусной инфекции от донора к реципиенту.

Впервые определена противовирусная эффективность раствора для вирусной деконтаминации в эксперименте *in vitro* с использованием клеток Vero.

Впервые дана количественная оценка уровням секреции эндогенных интерферонов клеточными культурами кератоцитов и фибробластов роговицы, а также тканью роговицы после стимуляции индуктором интерферона.

Впервые с помощью полимеразной цепной реакции на трупных донорских роговицах и патологически измененных роговичных дисках реципиентов определена противовирусная эффективность предложенной технологии.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Научная и практическая значимость работы заключается в том, что разработанная в данном исследовании технология вирусной деконтаминации трупных донорских роговиц на этапе консервации обеспечит эффективную профилактику передачи герпесвирусной инфекции от донора к реципиенту в ходе кератопластических операций.

Разработанный способ консервации роговиц позволит в раннем послеоперационном периоде защитить трансплантат от воздействия факторов инфекционной природы.

Систематизация абсолютных и относительных показаний к применению предложенной технологии в дальнейшем позволит улучшить качество ведения пациентов после трансплантации роговиц и осуществлять эффективную профилактику послеоперационных реакций отторжения трансплантата роговицы.

Научная значимость диссертации также определена внедрением результатов работы в лекционные курсы для клинических ординаторов, аспирантов и курсантов Института непрерывного профессионального образования ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России, а также ординаторов и аспирантов кафедры

Глазных болезней ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова
Минздрава России.

Оформление диссертации и оценка ее содержания

Диссертация построена в традиционном стиле, изложена на 151 странице машинописного текста и состоит из введения, 3 глав, включающих обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты разработки технологии, а также из заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и терминов, списка литературы. Список литературы включает 204 источника, из которых 25 отечественных и 179 иностранных.

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

Обзор литературы написан в аналитическом стиле. Детальный анализ зарубежной и отечественной литературы, проведенный автором, показал, что контаминация трупных донорских роговиц вирусом простого герпеса 1 типа способна приводить не только к патологическим реакциям трансплантата роговицы в послеоперационном периоде, но и вызывать активацию реакции отторжения. Известно, что в основе таких случаев отторжения трансплантата роговицы лежит развивающийся эндотелиит, неизбежно приводящий к снижению плотности и функций эндотелиального слоя роговицы. При этом автором работы сделан корректный акцент на фундаментальной значимости эндотелиальных клеток и их состояния в вопросе регулирования гидратации и, следовательно, прозрачности ткани роговицы.

Вторая глава диссертации посвящена описанию материалов и методов проведенных исследований. Автор сообщает, что исследование подразделяется на 6 последовательных этапов. На первом этапе работы автор проводит изучение распространенности вируса простого герпеса в трупных донорских роговицах глазного тканевого банка. На втором этапе

исследования автор предлагает инновационный консервационный раствор с противовирусными свойствами, который в рамках технологии вирусной деконтаминации способствует элиминации вируса простого герпеса 1 из ткани роговицы. На третьем этапе работы автор исследования проводит оценку консервационных качеств разработанного раствора в рамках предлагаемой технологии. На четвертом этапе работы в условиях вирусологической лаборатории на клеточной линии Vero автор проводит оценку цитотоксического действия и противовирусной эффективности предложенного консервационного раствора. На пятом этапе исследования автором исследуются иммуномодулирующие качества разработанного раствора в рамках предлагаемой технологии. На шестом этапе работы автором оценивается противовирусная эффективность предлагаемой технологии.

В третьей главе описываются полученные результаты проведенного диссертационного исследования. В данной главе автор исследования сообщает, что в трупных донорских роговицах обнаруживается вирус простого герпеса 1 типа. Также описываются результаты создания раствора для вирусной деконтаминации. В результате оценки консервационных качеств предложенного раствора автор сообщает, что плотность эндотелиальных клеток после 6 суточной консервации по предлагаемой технологии составила $2193,27 \pm 31,62$ клетки/мм², из которых 97,23% были жизнеспособными, при этом не было обнаружено достоверных отличий со стандартной технологией в плотности, площади, коэффициента гексагональности, функциональной активности и фенотипической характеристики эндотелиальных клеток. Установлено, что раствор для вирусной деконтаминации обладает противовирусной активностью в отношении вируса простого герпеса 1 типа, при этом не оказывает цитотоксического действия на клетки Vero в процессе культивирования. При оценке иммуномодулирующих качеств показано, что разработанный консервационный раствор стимулировал активацию звеньев врожденного иммунитета: количество синтезированного интерферона- α составило $14,16 \pm 4,15$ пг/мл, интерферона- β – $23,85 \pm 6,32$ пг/мл. На заключительном этапе

работы показана высокая противовирусная активность предложенной технологии в отношении вируса простого герпеса 1 типа.

В заключении обсуждаются наиболее значимые разделы исследования. Автор производит анализ полученных результатов, а также их сопоставление с данными литературы.

Выводы диссертации полностью обоснованы фактическим материалом исследований и логически вытекают из содержания диссертации.

Практические рекомендации четко изложены, согласуются с выводами и материалами диссертационного исследования. Они могут быть использованы в клинической практике при дальнейшей разработке технологии вирусной деконтаминации донорских роговиц на этапе консервации в глазном тканевом банке.

Вопросы и замечания

Принципиальных замечаний по содержанию и изложению работы не имею, однако возникли следующие вопросы:


1. Какие изменения в клетках заднего эпителия вы наблюдали после содержания донорских роговиц в предлагаемом растворе после суточной органотипической консервации?
2. С чем связан выбор полудана и циклоферона в составе консервационного раствора, предложенного вами?

Заключение

Диссертационная работа Керимова Тимура Захировича на тему «Разработка и обоснование технологии вирусной деконтаминации донорских роговиц на этапе консервации» является самостоятельной завершенной научно-квалификационной работой, содержащей качественно новое решение актуальной задачи офтальмологии, а именно создание принципиально новых консервационных растворов с противовирусными свойствами.

По актуальности темы, научной новизне, объему проведенных исследований и значимости полученных результатов диссертационная работа Керимова Тимура Захировича полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013, предъявляемым ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.5. – офтальмология и 3.1.14. – трансплантология и искусственные органы, а ее автор заслуживает присвоения искомой степени.


Начальник отдела
травматологии и реконструктивной
хирургии ФГБУ «НМИЦ ГБ
им. Гельмгольца» Минздрава России»
доктор медицинских наук, профессор

 Ченцова Е.В.

«14» октября 2021 г.

Подпись д.м.н., проф. Ченцовой Е.В. заверяю
Ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ ГБ
им. Гельмгольца» Минздрава России,
кандидат медицинских наук



 Орлова Е.Н.

Юридический и почтовый адрес: 105062, Москва, ул. Садовая -
Черногрязская 14/19. Телефон: +7 (495) 625-87-73.
Сайт в интернете: www.helmholtzeinstitute.ru
E-mail: kanc@igb.ru