

О Т З Ы В

официального оппонента

доктора медицинских наук профессора Куликова Алексея Николаевича на диссертацию Кодунова Алексея Михайловича на тему: «Профилактика и лечение постожоговой неоваскуляризации роговицы в эксперименте», представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.5. – Офтальмология и 3.3.3. – Патологическая физиология в диссертационный совет Д.21.1.021.01 при ФГАУ «НМИЦ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова» Минздрава России

Актуальность выбранной темы исследования

Ожоги глаз представляют серьезную медицинскую и социальную проблему. Несмотря на совершенствование методов консервативного и хирургического лечения, 40% пострадавших становятся инвалидами. Среди них преимущественно люди молодого, трудоспособного возраста. В связи с учащением локальных военных конфликтов, катастроф, ухудшением криминогенной обстановки растет и абсолютное количество ожоговых повреждений глаз.

Современные методы консервативного лечения ожоговой болезни глаз позволили снизить процент осложнений и увеличить частоту благоприятного исхода ожоговой травмы глаз. Однако общепринятое консервативное лечение ожогов глаз не всегда оказывается эффективным. Безуспешность столь тщательно разработанных и патогенетически ориентированных методов лечения часто связана с нарушением репаративно-регенерационных процессов, которые чреваты такими осложнениями, как рецидивирующая эрозия, перфорация и неоваскуляризация роговицы. Неоваскуляризация относится к одному из самых распространенных осложнений и часто приводит к инвалидизации.

В этой связи для повышения эффективности лечения и профилактики постожоговой неоваскуляризации роговицы необходимо создание патогенетически направленного метода терапии ожогов глаз, который будет воздействовать на все стадии воспалительного и регенераторного процесса, протекающего в поврежденных тканях глаза, что и определило цель диссертационного исследования А.М. Кодунова – обосновать применение паракринных факторов мезенхимальных стволовых клеток в составе белково-пептидного комплекса в профилактике и лечении постожоговой неоваскуляризации роговицы и оценить их эффективность в эксперименте.

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

Научные положения, выводы и рекомендации, представленные в диссертационной работе А.М. Кодунова основываются на экспериментальном воспроизведении всех звеньев патологического процесса и изучении влияния на них паракринных факторов мезенхимальных стволовых клеток в составе белково-пептидного комплекса. Все исследования, представленные в данной диссертационной работе, выполнены

на большом экспериментальном материале 132 животных (132 глаза) с использованием современных методов инструментальной и лабораторной диагностики на оборудовании экспертного класса.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, определяется достаточным объемом исследований, использованием современных инструментальных методов исследования и их анализом с применением адекватной статистической обработки.

Эффективность применения белково-пептидного комплекса в профилактике и лечении постожоговой неоваскуляризации роговицы, продемонстрированная клинически и подтвержденная инструментально, имеет также статистическое обоснование.

Гистологические данные, полученные на каждом этапе эксперимента, подтверждают данные клинической картины.

Автором проведена оценка патофизиологических процессов в тканях роговицы поврежденной ожоговым воздействием посредством хемилюминисцентного анализа, полученные данные раскрывают возможные пути патофизиологической направленности предложенного метода лечения.

Выводы диссертации четко сформулированы в соответствии с поставленными задачами и полностью отражают основные положения работы.

Научная новизна полученных результатов исследования

Впервые установлено, что применение паракринных факторов мезенхимальных стволовых клеток в составе белково-пептидного комплекса улучшают репаративные свойства и оказывают антиангиогенный эффект при центральном ожоге роговицы и периферическом ожоге с захватом лимбальной области с восстановлением прозрачности роговицы к 14-м суткам и толщины роговицы к 30-м суткам после термического воздействия за счет подавления воспалительной реакции.

Выполненные автором клинические и гистологические методы исследования с их последующей статистической систематизацией позволили говорить о эффективности применения БПК в случае центральной ожоговой травмы роговицы.

Впервые показано, что паракринные факторы мезенхимальных стволовых клеток в составе белково-пептидного комплекса приводят к обратному развитию патологических сосудов, восстановлению прозрачности и толщины роговицы в модели хронической постожоговой неоваскуляризации к 30-м суткам после химического воздействия.

Путем выполнения клинических и гистологических методов исследования научно доказана эффективность применения БПК в случаях уже сформированного в результате ожогового воздействия неоваскулярного бельма роговицы.

Впервые посредством хемилюминисцентного анализа обосновано, что общая фракция белково-пептидного комплекса и фракция от 0 до 30 кДа в соизмеримой степени подавляют активность никотинамидадениндинуклеотидфосфат оксидазы в очаге воспаления.

С помощью проведенного метода хемилюминисцентного анализа *in vitro* была продемонстрирована сопоставимая эффективность как общей фракции БПК, так и фракции до 30кДа.

Все результаты исследования и выводы статистически достоверно обоснованы.

Значение выводов и рекомендаций, сформулированных на основе полученных результатов, для науки и практики

Диссертационная работа А.М. Кодунова имеет высокую научную и практическую значимость для офтальмологии. Она позволила рассмотреть возможность создания единого патогенетически направленного метода лечения ожогов глаз и постожоговой неоваскуляризации роговицы.

Практическая ценность заключается в обосновании способа терапии, позволяющего проводить не только профилактику постожоговых осложнений, но и лечение уже сформировавшегося сосудистого помутнения роговицы.

Данная диссертационная работа демонстрирует новый метод профилактики и лечения васкуляризованных бельм роговицы с применением кондиционированных сред и последующим внедрением его в практику.

Внутреннее единство структуры работы:

Диссертационная работа А.М. Кодунова охватывает основные вопросы поставленной научной цели и задач, соответствует критерию внутреннего единства, изложена в строгой логической последовательности и на высоком методологическом уровне, подтверждается достаточным объемом экспериментального материала, обоснованностью и взаимосвязью научных выводов.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Применяемый автором метод с использованием паракринных факторов мезенхимальных стволовых клеток в составе белково-пептидного комплекса может быть рекомендован для профилактики и лечения постожоговой неоваскуляризации роговицы, а также имеет перспективы в лечении других патологий роговицы, сопряженных с ростом в роговицу новообразованных сосудов.

Данная экспериментальная работа открывает возможности для проведения новых исследований по лечению кератитов, наследственных дегенераций роговицы и кератоконуса с последующим внедрением в клиническую практику.

Содержание диссертационной работы и ее завершенность

Диссертационная работа А.М. Кодунова посвящена профилактике и лечению постожоговой неоваскуляризации роговицы в эксперименте.

Диссертация написана в классическом стиле, изложена на 159 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, 2 глав собственных исследований, а также заключения, выводов и списка литературы, который включает 159 авторов (32 отечественных и 127 зарубежных источников).

Во введении автор убедительно обосновывает актуальность и своевременность проведения данного исследования, четко формулирует его цель и задачи, раскрывает научную новизну и практическую значимость выполняемой работы.

В первой главе (обзор литературы), автор проводит всесторонний анализ современного состояния проблемы ожогов глаз, включая вопросы этиологии и патогенеза заболевания, отдельно рассматривает проблематичность такого осложнения, как неоваскуляризация роговицы. Особое внимание уделено процессам патологического ангиогенеза сосудов роговицы. В обзоре автор указывает на отсутствие в офтальмологической практике единого патогенетически направленного метода лечения постожоговой неоваскуляризации роговицы и рассматривает пути решения этого вопроса.

Во второй главе «Материалы и методы» дается исчерпывающая характеристика экспериментального материала. Работа была выполнена поэтапно на 132 животных (132 глаза), каждый следующий этап включал в себя новые звенья патологических процессов.

Следует обратить внимание на тщательно спланированный и продуманный автором дизайн исследования. Автор приводит распределение экспериментальных животных по группам для оценки эффективности применяемого способа терапии с использованием БПК и традиционных консервативных методик лечения.

Подробно изложены методы исследования роговицы подопытных животных, дается детальное описание методики выполнения хемилюминисцентного анализа для определения активности НАДФН – оксидазы. Также автором подробно описана методика получения белково-пептидного комплекса.

Анализ результатов собственных экспериментальных исследований представлен в последующих 2 главах диссертационной работы.

Глава 3 посвящена оценке влияния паракринных факторов МСК в составе белково-пептидного комплекса на репаративные свойства роговицы кроликов в лечении модели центральной ожоговой травмы роговицы и оценке эффективности паракринных факторов МСК в составе БПК на профилактику развития постожогового ангиогенеза роговицы при лечении модели периферической ожоговой травмы с повреждением лимбальной области.

В главе 4 диссертации проведена оценка эффективности применения паракринных факторов МСК в составе БПК общей фракции и фракции до 30кДа на модель хронической постожоговой неоваскуляризации роговицы крыс и обосновано применение БПК для лечения данной модели с помощью

определения оценки активности НАДФ – оксидазы посредством хемилюминисцентного анализа.

К несомненным достоинствам данной работы следует отнести предложенную автором последовательность поступательного увеличения степени ожогового повреждения глаз опытных животных и определение воздействия белково-пептидного комплекса на различные патофизиологические процессы в поврежденных ожоговым воздействием тканях глаза.

Использование кроликов и крыс в качестве экспериментальных животных позволило исключить видоспецифичность применяемого метода лечения.

Посредством хемилюминисцентного анализа активности НАДФ оксидазы автор убедительно обосновывает патогенетическую направленность лечения с применением белково-пептидного комплекса и обосновывает одинаковую антиангиогенную активность как общей фракции БПК, так и фракции до 30 кДа.

Статистический анализ, проведенный на каждом этапе экспериментального исследования, подтверждает эффективность применяемого способа лечения с использованием БПК в сравнении с классическими консервативными методиками лечения ожогов глаз.

В заключении автор проводит всесторонний анализ и обобщение полученных результатов исследований.

Выводы диссертации четко аргументированы, полностью соответствуют поставленным задачам и цели исследования.

Содержание автореферата полностью соответствует содержанию диссертации.

Замечания и вопросы

Принципиальных замечаний по содержанию и изложению работы не имею.

В порядке дискуссии на защите целесообразно более подробно обсудить следующие вопросы:

1. «На 1-е сутки после нанесения термического ожога всем животным проводили скарификацию струпа роговицы» – что входило в этот «струп»? (это был только эпителий или еще разрушалась Боуменова мембрана со стромой? Ведь по данным гистологического исследования к 30 суткам в обеих группах Боуменова мембрана (которую автор называет «задней мембраной эпителия») была сохранена на всем протяжении.

2. В материалах и методах не описана методика оценки площади эпителизации роговицы, она не учитывалась?

3. Помутнение в контрольной группе 1 серии сопровождалось статистически достоверной компактизацией роговицы, регистрируемой к 30 суткам, что видно из средних показателей пахиметрии (контроль 503 мкм, против основной группы 556 мкм), при этом средние показатели прозрачности отличались всего на 3,4 усл. ед (контроль – $24,00 \pm 0,390$, против

20,60±0,220 в основной группе). Чем, по Вашему мнению, обусловлена такая компактизация роговицы?

4. Как выполнялась дифференциальная диагностика постожоговой неоваскуляризации от фиброваскулярного паннуса при тотальной лимбальной недостаточности?

Заключение

Диссертация Кодунова А.М. «Профилактика и лечение постожоговой неоваскуляризации роговицы в эксперименте» на соискание учёной степени кандидата медицинских наук является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований содержится решение актуальной задачи – повышение эффективности профилактики и лечения постожоговой неоваскуляризации, которая имеет существенное значение для современной офтальмологии.

По актуальности темы, научной новизне, объёму проведенных исследований и значимости полученных результатов диссертационная работа Кодунова А.М. полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (ред. от 01.10.2018 с изм. от 26.05.2020), предъявляемым ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.5. – Офтальмология и 3.3.3. – Патологическая физиология, а ее автор заслуживает присвоения искомой степени.

Официальный оппонент:

Начальник кафедры (клиники) офтальмологии
Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова
главный офтальмолог министерства обороны РФ
доктор медицинских наук, профессор



А.Н. Куликов

«11» августа 2022 г.

Подпись д.м.н. профессора Куликова А.Н. заверяю
Начальник отдела кадров
Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова



П.В. Миличенко

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ
Юридический и почтовый адрес: 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика
Лебедева, дом 6, литера Ж
Телефон: +7 (812) 292-32-55
Сайт в интернете: <https://www.vmeda.org/>
E-mail: vmeda-na@mail.ru