

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора медицинских наук Калининкова Юрия Юрьевича на
на диссертационную работу Ли Валерия Герасимовича «Разработка и
экспериментальное обоснование технологии децеллюляризации и
криоконсервации роговичных лентикул для кераторефракционной хирургии»
представленную на соискание ученой степени кандидата медицинских наук
по специальностям 3.1.5. – Офтальмология, 3.1.14. – Трансплантология и
искусственные органы

Актуальность избранной темы

Диссертационная работа Ли В.Г. посвящена решению актуальной проблемы – разработке принципиально новой технологии криоконсервации децеллюляризированной лентикулы для рефракционной хирургии роговицы.

В последние годы увеличивается рост недостатка донорского материала в глазных тканевых банках. При этом с развитием кераторефракционных технологий зарубежные и отечественные ученые использовали роговичные лентикулы, извлеченные в результате рефракционных операций с целью коррекции миопии и миопического астигматизма. Данный вид лентикул применяли для лечения таких патологических состояний роговицы как пресбиопия, кератоконус, гиперметропия и в других терапевтических целях.

На сегодня в мире не разработаны методы криоконсервации для децеллюляризированных лентикул, не описана способность изменять рефракцию глаза после имплантации данной лентикулы в кадаверный глаз человека с учетом математически обоснованной формулы и диаграммы.

В связи с этим разработка принципиально новых подходов в хранении децеллюляризированных стромальных лентикул, полученных в ходе операции

СМАЙЛ и возможность их применения в кераторефракционной хирургии представляет несомненную актуальность для клинической офтальмологии. 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 задача исследования. Работа выполнена с использованием достаточного количества экспериментального материала и с применением современных лабораторно – диагностических методов исследования. Проведенный анализ полученных результатов с использованием методов математической статистики подтверждает достоверность, обоснованность и аргументированность выносимых на защиту положений, выводов и практических рекомендаций и имеет несомненное научно-практическое значение.

Автореферат, опубликованные 6 научных работ, включая 3 в журналах, рекомендуемых Высшей Аттестационной Комиссией (ВАК) Министерства образования и науки Российской Федерации (РФ) полностью отражают содержание диссертационной работы.

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

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

Научная новизна исследования не вызывает сомнений.

Впервые разработан оригинальный способ транспортировки ленткулярного материала в дисперсном вискоэластике, позволяющий получать высокие показатели прозрачности материала для спектрофотометрического исследования. Проведенный сравнительный анализ протоколов децеллюляризации ленткулярного материала, полученного в ходе операции СМАЙЛ показал, что протоколы децеллюляризации с использованием 1.5M NaCl с нуклеазами и 0,1% SDS характеризуются воспроизводимостью, низкой иммуногенностью, сохранностью структуры внеклеточного матрикса и высокой прозрачностью ленткулярного материала.

Впервые проведен сравнительный анализ протоколов криоконсервации децеллюляризованного ленткулярного материала с использованием 0,1% SDS и 1.5M NaCl с нуклеазами в таких криопротекторах, как ДМСО, Криодерм и глицерин, который показал, что наилучшим протоколом, обеспечивающим высокие показатели прозрачности материала, без грубого нарушения ультраструктуры фибрилл коллагеновых волокон является протокол хранения в ДМСО с предварительной децеллюляризацией в 1.5M NaCl с нуклеазами.

Впервые показано, что использование дисперсного вискоэластика в качестве дегидратирующей среды для ленткулярного материала после его децеллюляризации и криоконсервации приводит к возвращению его исходных параметров толщины ($p < 0.05$), в интервале от 30 минут до 60 минут.

Впервые показано, что при совместном культивировании кератоцитов с децеллюляризованным ленткулярным материалом после криоконсервации в течение максимального срока наблюдения 9 суток получена высокая биосовместимость и сохранение пролиферативной активности культуры кератоцитов.

Впервые при помощи методов математического моделирования разработана формула, показывающая связь толщины ленткулярного материала и его диаметра для ожидаемой коррекции гиперметропии после

имплантаций лентикулярного материала в строму роговицы, позволяет достигать целевой рефракции глаза.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

Научная и практическая значимость работы заключается в том, что разработанный в данном исследовании протокол криоконсервации децеллюляризованного лентикулярного материала с использованием 1.5M NaCl с нуклеазами в ДМСО обеспечивает высокую прозрачность образцов ($89,44 \pm 2,68\%$ ($89,52$ ($87,99-91,18$))), сохранение ультраструктуры коллагенового внеклеточного матрикса ($2,45 \pm 0,36$ мкм) без грубого повреждения и токсического воздействия на окружающие ткани, что позволяет создать криобанк лентикулярной ткани.

На основании математического моделирования разработана формула, функционально связывающая толщину лентикулярного материала и его диаметра с рефракционным эффектом на роговице. Также проведены параметрические расчеты, показывающие влияние толщины образца на изменение величины рефракционного эффекта в диапазоне изменений кератометрии интактной роговицы от 40 дптр до 45 дптр, и диаметра образца от 6 мм до 7 мм. Разработана диаграмма для оценки возможной погрешности рефракционного эффекта при выборе образцов из банка хранения лентикулярного материала.

Для потенциального клинического использования образцов с целью коррекции гиперметропии целесообразно применять лентикулярный материал с меньшей диоптрийной силой, чем предполагаемая коррекция. Так, для коррекции гиперметропии +4 дптр, согласно разработанной диаграмме, потребуется образец толщиной от 56 мкм до 62 мкм, в зависимости от диаметра от 6,3 мм до 6,8 мм, что соответствует диоптрийной силе

лентикулярного материала около 2,5 дптр, полученной при коррекции миопии методом СМАЙЛ.

Оформление диссертации и оценка ее содержания

Диссертация построена в традиционном стиле, изложена на 186 страницах машинописного текста и состоит из введения и 4 глав, включающих обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты разработки протокола криоконсервации децеллюляризованного лентикулярного материала, математическое обоснование основных параметров лентикулярного материала и оценка эффективности коррекции гиперметропии при интрастромальной кератофакии в эксперименте *ex vivo*, содержит общее заключение и выводы, включающего 205 источников, из них 30 отечественных и 175 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.

Следует отметить, что автором анализируются наиболее значимые, современные литературные источники. Следует согласиться с логикой построения **обзора литературы**, который отражает поэтапное развитие стромальной кератофакии с использованием роговичной лентикулы, полученной после операции СМАЙЛ. Кроме того, автором проанализированы современные возможности различных технологий тканевой инженерии роговицы и роговичной лентикулы.

Обзор литературы завершает общее заключение, в котором обосновывается необходимость проведения данного исследования. Следует

отметить, что обзор литературы свидетельствует о профессиональной эрудиции автора, о детальном знании исследуемой проблемы, также отражает его умение провести глубокий анализ научных данных, зрелость критических оценок.

Вторая глава диссертации посвящена подробной характеристике методов экспериментальных исследований. А также общая характеристика групп для роговичных лентикул, включенных в экспериментальное исследование *in vitro* и *ex vivo*, методология самого исследования, оценки результатов выполненных методов исследований и их статистической обработки. Автором четко изложены основания для разделения роговичных лентикул по группам сравнения.

В третьей главе автор подробно описывает результаты создания протокола криоконсервации децеллюляризированной роговичной лентикулы, устанавливает степень предполагаемой цитотоксичности данной лентикулы.

В четвертой главе автор с помощью метода математического обоснования описывает механизм формирования рефракционного эффекта роговицы после имплантации в ее строму лентикулы. Также были изучены необходимые параметры лентикулы для достижения коррекции гиперметропии при интрастромальной кератофакии. В соответствии с этим были разработаны математическая формула и диаграмма, позволяющие автору перейти к практической реализации данных результатов на модель эксперимента *ex vivo*. Для этого, автором сначала была доказана, правомерность использования дисперсного вискоэластика в качестве дегидратирующей среды, позволяющая возвращать исходную толщину отечной криоконсервированной лентикулы. Далее автор приводит результаты этапов имплантации 10-ти лентикулы в строму роговиц 10-ти кадаверных глаз человека. Дана оценка анатомо-топографических характеристик роговицы после этапов имплантации лентикулы в строму роговицы, где глубина расположения лентикулы составляла 130 мкм.

В заключении автор лаконично описывает основные позиции диссертации в сопоставлении собственных результатов с литературными данными и формирует **выводы**, соответствующие поставленным задачам.

Практические рекомендации четко изложены, согласуются с выводами и материалами диссертационного исследования. Они могут быть использованы в дальнейших экспериментальных исследованиях на модели животных и далее в клинической практике.

Вопросы и замечания

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

1. С чем был связан выбор способа имплантации лентикулы под роговичный клапан в строму роговицы кадаверного глаза?
2. Возможно ли проводить роговичный кросслинкинг данной лентикулы для лечения кератоконуса?

Заключение

Диссертационная работа Ли Валерия Герасимовича «Разработка и экспериментальное обоснование технологии децеллюляризации и криоконсервации роговичных лентикул для кераторефракционной хирургии» является самостоятельной завершенной научно-квалифицированной работой, содержащей качественно новое решение актуальной задачи офтальмологии, а именно создание принципиально новых криоконсервированных децеллюляризованных роговичных лентикул для рефракционной хирургии роговицы.

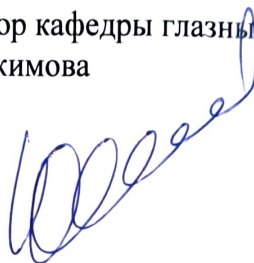
По актуальности темы, научной новизне, объему проведенных исследований и значимости полученных результатов диссертационная работа Ли Валерия Герасимовича полностью соответствует требованиям п. 9

«Положение 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 3.1.5. – Офтальмология и 3.1.14. – Трансплантология и искусственные органы, а ее автор заслуживает присвоения искомой ученой степени.

Доктор медицинских наук, профессор кафедры глазных болезней
ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова
Минздрава России

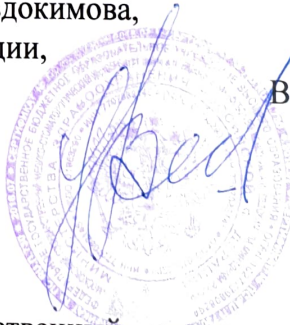
Калинников Ю.Ю.

«25» марта 2022 г.



Подпись профессора Ю.Ю. Калинникова заверяю
Ученый секретарь МГМСУ им. А.И. Евдокимова,
Заслуженный врач Российской Федерации,
доктор медицинских наук, профессор

Васюк Ю.А.



Калинников Юрий Юрьевич
Специальность 3.1.5 – Офтальмология
ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России 127473, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1, тел. +7 (495) 609-67-00