

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

доктора медицинских наук Волкова Алексея Вадимовича  
на диссертационную работу Германовой Виктории Николаевны  
«Экспериментальное обоснование применения селективных  
иммунодепрессантов для коррекции избыточного рубцевания в хирургии  
глаукомы», представленную на соискание ученой степени кандидата  
медицинских наук по специальностям  
3.1.5 – офтальмология и 3.3.2 – патологическая анатомия

### **Актуальность избранной темы**

Диссертационная работа Германовой В.Н. посвящена решению одной из наиболее актуальных проблем в хирургии глаукомы – коррекции послеоперационного рубцевания, которое является причиной снижения эффективности большинства гипотензивных вмешательств с течением времени. При этом интенсивность рубцевания и, соответственно, итог операции зависят от множества факторов, влияющих на исход уже начиная с момента повреждения тканей в ходе операции, а в ряде случаев и задолго до нее, когда пациенты подвергаются длительному местному лечению с помощью глазных капель с гипотензивными свойствами, содержащих в своем составе консерванты. В результате уже до операции в зоне вмешательства формируется хроническое воспаление в тканях конъюнктивы и теноновой капсулы, увеличивающее интенсивность воспалительной реакции и репараций в послеоперационном периоде, которые обусловлены сложной последовательностью реакций, происходящих на различных уровнях – от молекулярного до тканевого.

Предложенный в работе Германовой В.Н. способ коррекции избыточного рубцевания в хирургии глаукомы путем пролонгированного применения циклоспорина А и эверолимуса и его экспериментальное обоснование соответствуют современным тенденциям фундаментального подхода к решению сложных клинических задач, что в сочетании с

достаточным количеством публикаций и выступлений по теме исследования, подтверждает актуальность диссертации.

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

Диссертационная работа представляет собой продуманную доклиническую апробацию способа пролонгированного применения селективных иммунодепрессантов в хирургии глаукомы с использованием как культур клеток, так и лабораторных животных в качестве объектов исследования. Степень обоснованности положений, выводов и рекомендаций, представленных в диссертации, не вызывает сомнений, что подтверждено логически выстроенным дизайном исследования и достаточным количеством экспериментального материала. Цель исследования сформулирована корректно и четко и соответствует выбранной теме. Задачи логически вытекают одна из другой и полностью раскрывают цель работы. Достоверность результатов исследования подтверждена грамотно выполненным статистическим анализом с использованием современных методов и соответствующего программного обеспечения.

Опубликованные по материалам диссертации научные работы (21 публикация, включая 3 статьи в журналах, индексируемых в международной базе данных Scopus, и 7 – в журналах, рецензируемых Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации), патент РФ на изобретение, а также текст автореферата полностью отражают содержание диссертационной работы.

Материалы диссертации неоднократно обсуждены на конференциях различного уровня – от регионального до международного.

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



Научная новизна диссертации Германовой В.Н. наблюдается на каждом этапе разработки и экспериментальной апробации предлагаемого способа коррекции избыточного рубцевания в хирургии глаукомы с помощью селективных иммунодепрессантов.

Впервые разработан и обоснован в эксперименте *in vitro* способ насыщения антиглаукоматозных дренажей на основе полимолочной кислоты циклоспорином А и эверолимусом, позволяющий достигнуть пролонгированное высвобождение исследуемых иммунодепрессантов в условиях их «вымывания» жидкостью.

В эксперименте на культурах фибробластов теновой капсулы человека впервые доказано наличие прямого антипролиферативного эффекта как циклоспорино А, так и эверолимуса на данный вид клеток в пределах концентраций 0,05-2,0 мкг/мл и 0,5-20,0 мкг/мл соответственно при сохранении их жизнеспособности.

Впервые предложен и апробирован в эксперименте *in vivo* способ профилактики послеоперационного рубцевания при хирургическом лечении глаукомы, включающий применение дренажей на основе полимолочной кислоты, насыщенных селективными иммунодепрессантами, что подтверждено получением патента РФ на изобретение № 2724854.

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

Диссертация Германовой В.Н. представляет собой фундаментальное исследование, решающее ряд научных и практических задач как в области офтальмологии, так и патологической анатомии.

Практическая значимость заключается в том, что насыщение антиглаукоматозных дренажей на основе полимолочной кислоты иммунодепрессантами позволяет усовершенствовать имеющиеся на данный момент технологии в дренажной хирургии глаукомы и придать имплантируемым дренажам антипролиферативные свойства.

В ходе эксперимента на лабораторных животных доказано как с помощью морфологических, так и с помощью клинических методов, что



имплантация во время гипотензивной хирургии дренажей, обеспечивающих пролонгированное высвобождение иммунодепрессантов в течение 7-13 дней, способствует снижению интенсивности послеоперационного рубцевания и повышению эффективности операций при минимальной вероятности развития серьезных осложнений.

Данная работа является основой для проведения дополнительных доклинических исследований по безопасности предложенного способа пролонгированного применения иммунодепрессантов в дренажной хирургии глаукомы, после чего возможна клиническая апробация и дальнейшее его применение в клинической практике.

Кроме того, результаты экспериментального этапа, выполненного на культурах фибробластов теноновой капсулы человека, открывают перспективы для дальнейших научных исследований в области создания систем доставки лекарств с циклоспорином А и эверолимусом для коррекции других состояний, сопровождающихся фиброзом теноновой капсулы.

### **Внедрение результатов исследования**

Научно-практическая значимость работы также подтверждена внедрением результатов исследования в практическую работу лаборатории культур клеток человека биотехнологического центра «БиоТех» и лаборатории экспериментальной морфологии Института экспериментальной медицины и биотехнологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава РФ, а также в учебную работу при преподавании курса офтальмологии для студентов, ординаторов и аспирантов на кафедре офтальмологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава РФ,

### **Оформление диссертации и оценка ее содержания**

Диссертация изложена в классическом стиле и содержит 162 страницы машинописного текста. В структуре работы выделены следующие разделы: введение, 5 глав (обзор литературы, материалы и методы, 3 главы с



результатами собственных исследований), заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы, список сокращений, список литературы, а также приложения. Текст сопровождается соответствующим иллюстративным материалом, представленным 92 рисунками и 29 таблицами. Список литературы содержит 223 источника (96 отечественных и 127 зарубежных).

Во **введении** автором дано развернутое обоснование актуальности темы диссертации, лаконично сформулированы цель, задачи, научная новизна и научно-практическая значимость исследования. Представлены сведения о степени достоверности, структуре и объеме работы, внедрении результатов исследования, личном вкладе автора, а также о публикациях и апробации основных результатов диссертации, выдвинуты положения, выносимые на защиту.

**Обзор литературы** представляет собой структурированный и логически выстроенный анализ опубликованных на настоящий момент данных о патогенезе заживления ран, а также о перспективах его коррекции в офтальмологии и не только. В частности, автором грамотно изложены патофизиологические и морфологические основы воспаления и репарации в послеоперационном периоде. Особое внимание уделено особенностям заживления хирургических ран у пациентов с глаукомой с точки зрения патофизиологии и морфологии. Перечислены и охарактеризованы применяемые на данный момент в офтальмологии способы коррекции рубцевания с указанием механизма их действия, а также преимуществ и недостатков каждого метода. На различных уровнях обоснованы перспективы применения селективных иммунодепрессантов в коррекции послеоперационного рубцевания. Таким образом, в данной главе автором продемонстрировано достаточное понимание фундаментальных процессов, ведущих к снижению эффективности гипотензивной хирургии глаукомы, а также возможных путей решения данной проблемы. Хорошим дополнением к текстовой части литературного обзора служат схемы и рисунки, выполненные автором самостоятельно.



В начале **второй главы** предложена таблица, кратко отражающая дизайн исследования, представляющий собой серию логически вытекающих друг из друга экспериментов *in vitro* и *in vivo*. Далее автором подробно изложены материалы и методы, применявшиеся на всех этапах работы, полноценно обосновано деление экспериментального материала на группы. Описанные методы статистической обработки данных не вызывают вопросов.

В **третьей главе** подробно отражены результаты всех этапов экспериментальной разработки способа насыщения антиглаукоматозных дренажей на основе полимолочной кислоты циклоспорином А и эверолимусом. На основании полученных в ходе эксперимента данных разработаны математические модели, с высокой степенью точности прогнозирующие способность дренажей к сорбции исследуемых препаратов в зависимости от структуры дренажа, времени насыщения и концентрации растворов. Результаты эксперимента *in vitro* по оценке скорости десорбции циклоспорино А и эверолимуса из материала дренажей позволили автору определить оптимальные условия для насыщения дренажей с целью обеспечения наиболее пролонгированного и равномерного высвобождения препаратов. При этом разработанная методика позволяет насыщать дренажи *ex tempore* непосредственно в операционной, что является преимуществом при дальнейшем применении предложенного способа в офтальмологических стационарах.

В **четвертой главе** представлены результаты определения антипролиферативной активности и цитотоксичности циклоспорино А и эверолимуса в эксперименте на культурах фибробластов теноновой капсулы человека. Предварительно подробно описаны результаты получения первичной культуры клеток, а также обоснована ее пригодность для дальнейшего исследования. Антипролиферативная активность препаратов проанализирована с использованием современных методик и показателей. В частности, доказано значительное увеличение времени удвоения культур в присутствии как циклоспорино А (в 1,5-5,1 раз), так и эверолимуса (в 1,7-7,4 раза), выявлено статистически значимое снижение значений индекса пролиферации и количества удвоений культур в группах, культивируемых в



присутствии иммунодепрессантов. При этом в случае добавления в питательную среду циклоспорина А выявлена сильная корреляция между концентрацией препарата и выраженностью антипролиферативного эффекта. Определение цитотоксичности препаратов также проведено с учетом всех современных требований. По итогам данного этапа исследования отсутствие влияния циклоспорина А и эверолимуса на жизнеспособность фибробластов теноновой капсулы человека в пределах концентраций, обеспечиваемых дренажами, не вызывает сомнений.

В пятой главе автор приводит результаты экспериментального исследования предлагаемого способа коррекции избыточного рубцевания в хирургии глаукомы *in vivo*. Предварительно автором с помощью офтальмологических и морфологических методов доказано отрицательное влияние консервант-содержащих гипотензивных препаратов, используемых для медикаментозного лечения глаукомы, на состояние тканей переднего отрезка глаза, выражающееся в формировании хронического воспаления. Далее приведены результаты вмешательств с применением антиглаукоматозных дренажей, насыщенных циклоспорином А либо эверолимусом по разработанному автором способу, на глазах лабораторных животных. В послеоперационном периоде произведена морфологическая оценка результатов операции. По ее результатам выявлено снижение интенсивности послеоперационного рубцевания и длительное сохранение путей оттока внутриглазной жидкости в группах, прооперированных с использованием иммунодепрессантов, что сопровождалось снижением выраженности клеточной инфильтрации и реакции тканей на инородное тело, формированием более тонких и проницаемых капсул вокруг дренажей, уменьшением коллагенообразования и неоангиогенеза. Данные полученные с помощью офтальмологических методов обследования, также подтверждали увеличение эффективности гипотензивной хирургии с применением дренажей, насыщенных селективными иммунодепрессантами.

**Заключение** содержит подробный анализ полученных результатов в сопоставлении с отечественными и зарубежными литературными данными.

**Выводы** диссертации полностью соответствуют поставленным цели и задачам и логически вытекают из результатов исследования. Их достоверность не вызывает сомнений.

**Практические рекомендации** следуют из результатов диссертационного исследования и конкретизируют наиболее значимые результаты выполненной работы.

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

Автореферат полностью отражает основное содержание диссертации, ее положения и выводы.

### **Вопросы и замечания**

Принципиальных замечаний и вопросов по содержанию и изложению работы не имею. Вопросы, изложенные ниже, сформулированы для дискуссии во время публичной защиты.

Вопрос: какова предполагаемая продолжительность лечебного эффекта у данного композита?

### **Заключение**

Диссертационная работа Германовой Виктории Николаевны на тему «Экспериментальное обоснование применения селективных иммунодепрессантов для коррекции избыточного рубцевания в хирургии глаукомы» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, выполненную на высоком научном и методологическом уровне. В диссертации предложено решение проблемы коррекции послеоперационного рубцевания в хирургии глаукомы, являющейся крайне актуальной в настоящее время.



По актуальности темы, научной новизне, объему проведенных исследований и значимости полученных результатов диссертационная работа Германовой Виктории Николаевны полностью соответствует требованиям п. п. 9-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в ред. постановления Правительства РФ от 01.10.2018 N 1168), предъявляемым ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальностям 3.1.5 – офтальмология и 3.3.2 – патологическая анатомия, а ее автор заслуживает присвоения искомой степени.

**Официальный оппонент:**

заведующий патологоанатомическим отделением  
ГБУЗ «Городская клиническая больница им.  
Е. О. Мухина» Департамента здравоохранения  
г. Москвы,  
доцент кафедры патологической анатомии  
медицинского института ФГАОУ ВО  
«Российский университет дружбы народов»,  
доктор медицинских наук  
(специальность 3.3.2 – патологическая анатомия)

Волков А.В.

«28» 02 \_\_\_\_\_ 2022 г.

Подпись д.м.н. Волкова А.В. заверяю:

Заведующая отделом кадров

ГБУЗ «ГКБ им. Е.О. Мухина ДЗМ»



Жданова Т.А.

Юридический и почтовый адрес:

111399, г. Москва, Федеративный проспект, д. 17

Телефон: +7 (495) 303-97-54

Сайт в интернете: [www.gkb-muhina.ru/](http://www.gkb-muhina.ru/)

E-mail: [gkb-mukhina@zdrav.mos.ru](mailto:gkb-mukhina@zdrav.mos.ru)