

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора медицинских наук, доцента

Светловой Ольги Валентиновны

о диссертации Халимова Азат Рашидовича на тему: «Молекулярные и клеточные механизмы ультрафиолетового сшивания роговицы», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.02 - биофизика, 14.03.03 - патологическая физиология

Актуальность темы исследования

Диссертация Халимова Азат Рашидовича посвящена исследованию особенностей развития метаболических и ультраструктурных изменений в роговице глаза при ультрафиолетовом воздействии на нее, в том числе при выполнении ультрафиолетового (УФ) сшивания роговичного коллагена, широко используемого в офтальмологии для лечения как кератэктазий, так и кератоконуса. Существующие традиционные средства оптической коррекции рефракционных нарушений при кератоконусе, также как и способы его лечения, не позволяют эффективно восстановить зрительные функции и неуклонно прогрессирующий патологический процесс. При этом истончение и *протрузия* (выпячивание) роговицы на практике достаточно часто приводят к её перфорации и потере зрения. Сегодня сравнительно новая и достаточно эффективная технология лечения дегенеративных заболеваний роговой оболочки – ультрафиолетовый кросслинкинг – как правило, способствует стабилизации эктазии, преимущественно, за счет значительного повышения биомеханической жёсткости (резистентности) роговицы.

Сегодня отмечается значительный рост числа кератэктазий, поэтому актуальность работы не вызывает сомнения. При этом, существенный вклад в статистику заболеваемости вносят эктазии ятрогенного характера, обусловленные лазерными оптико-реконструктивными операциями.

Однако, имеющиеся сведения о лечении кератоконуса методом кросслинкинга в полной мере не отражают сути процесса, в особенности, с учетом разнообразных патофизиологических эффектов сочетанного

воздействия на роговицу ультрафиолетового облучения и фотосенсибилизатора. Важно также отметить, что сегодня эффективность и безопасность УФ кросслинкинга может быть во многом обеспечена за счёт анализа персонализированных данных пациента в динамике: кератометрии, пахиметрии, кератотопографии, а также биохимических и иммунологических тестов.

Все большее беспокойство врачей и специалистов при выполнении данной процедуры занимает минимизация кросслинкинг-индуцированных осложнений, таких как роговичный синдром, отеки и помутнения роговицы, являющиеся, в основном, следствием окислительного повреждения. Полученные в данном диссертационном исследовании новые достоверные данные о патогенетическом воздействии ультрафиолета на передний отрезок органа зрения, возможно позволят реально улучшить лечебный эффект за счёт углублённого патофизиологического обоснования требуемой корректировки ряда этапов кросслинкинга на практике. По-видимому, этот эффект может быть увеличен за счёт внедрения современных новых оригинальных средств и способов сшивания роговичного коллагена, разрабатываемых биофизиками и офтальмологами.

Научная новизна исследований

В данном диссертационном исследовании с помощью обобщённой оценки биомеханических, биометрических, морфологических, ультраструктурных, биохимических и иммунных параметров тканей и биологических жидкостей глаза после УФ кросслинкинга роговицы и при воздействии на нее УФ излучения исследованы механизмы формирования соответствующего физиологического или патогенетического ответа.

Автором изучены особенности пенетрации фотосенсибилизатора в строму роговицы при использовании различных способов деэпителизации роговицы и растворов рибофлавина, а также изучено их влияние на биомеханические свойства роговицы и ее толщину. Выявлена активация процессов свободно-радикального окисления при воздействии ультрафиолетового света на роговицу. С помощью методов электронной и

конфокальной микроскопии исследовано состояние коллагеновых волокон и клеток роговицы. Подтверждено локальное снижение антиоксидантного статуса пациентов с кератоконусом при проведении УФ сшивания роговицы.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций

Обоснованность научных положений, сформулированных в диссертации А.Р. Халимова, обусловлена адекватным дизайном и применением современных методов исследования, а также достаточным объемом проведенных экспериментальных и клинических наблюдений. Статистические методы обработки данных, применённые автором, адекватны поставленным задачам.

В экспериментальные исследования были включены 96 крыс линии Вистар, 164 кролика породы Шиншилла и 360 свиных глаз. Токсикологические испытания проведены на 45 морских свинках и 80 мышах. Проанализировано 92 образца слезы и сыворотки крови пациентов с кератоконусом, находившихся на стационарном лечении.

Научные положения и выводы, базирующиеся на полученных данных, глубоко аргументированы и высоко достоверны. Основные результаты исследования интерпретированы в аспекте их практического применения и в полном объеме отражены в научных публикациях и патентах соискателя.

Научная и практическая значимость диссертации

Полученные Халимовым А.Р. результаты имеют большую научно-практическую значимость.

Автором получены новые сведения, указывающие на развивающийся в процессе УФ облучения и сшивания роговицы местный транзиторный дисбаланс иммунной, про- и антиоксидантной систем. С помощью современных методов ультраструктурной микроскопической визуализации выявлены морфо-функциональные изменения и последствия такого воздействия. Полученные фундаментальные и практические результаты исследования, несомненно, актуальны и важны для ряда отраслей медицины,

биологии, патофизиологии, позволяют выявить перспективные направления будущих биофизических исследований по разработке более современных способов профилактики и лечения кератоконуса.

Практическая востребованность проведённых Халимовым А.Р. исследований подтверждена внедрением в российских офтальмологических клиниках устройства "УФалинк" и препарата "Декстралинк" для проведения кросслинкинга роговицы.

Общая характеристика работы

Работа А.Р. Халимова изложена на 280 страницах, состоит из введения, обзора литературы, главы материала и методов, 4-х глав результатов собственных исследований их обсуждения, заключения с выводами, практических рекомендаций и приложения. Список литературы содержит 451 источник научной литературы, в том числе 134 работы отечественных и 317 зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 33 таблицами и 71 рисунком. По объему, изложению и оформлению материала работа соискателя полностью соответствует требованиям ВАК.

Во введении освещена актуальность выбранной темы, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, приведены основные положения, выносимые на защиту, теоретическая и практическая значимость, представлена информация о внедрении и апробации результатов исследования, сведения о публикациях.

В обзор литературы включена современная информация об этиологии и патогенезе кератоконуса. В этом разделе диссертации подробно и обстоятельно представлены сведения о методике УФ кросслинкинга роговицы, этапах ее внедрения, существующих модификациях, показаниях и перспективах применения. Из аналитического обзора, проведённого автором, логично вытекают задачи и цель исследования.

Глава 2 содержит подробное описание материалов и методов экспериментальных исследований и клинических наблюдений, использованных в диссертационной работе.

Результаты собственных исследований соискателя выделены в три главы. В 3-ю главу автором включены экспериментальные исследования светоабсорбции, биомеханических свойств и линейных параметров роговицы животных при ее ультрафиолетовом облучении и сшивании с предложенными растворами рибофлавина. Дана оценка особенностей пенетрации указанных растворов в строму роговицы. Используемые в данном разделе методические подходы исследования полно и логично обеспечили получение запланированных научных результатов.

4-ая глава диссертации посвящена изучению процессов свободно-радикального окисления в тканях глаза, морфологии роговицы животных с привлечением традиционной световой микроскопии, и что весьма ценно, с использованием методик электронной и конфокальной микроскопии. Последняя, как известно, позволяет получать динамические результаты *in vivo* в режиме реального времени.

Глава 5 содержит результаты клинических наблюдений. В ней диссертантом проанализированы результаты собственных исследований у пациентов с кератоконусом после кросслинкинга роговицы с помощью методов фотометрии и иммуноферментного анализа слезы и сыворотки крови. Исследован их антиоксидантный и иммунный статусы, которые меняются в продолжении постоперационного периода. Полученные результаты исследования наглядно представлены в таблицах и рисунках.

В 6-ой главе автор проводит обсуждение полученных им результатов, сопоставляя их с данными современной отечественной и зарубежной литературы.

В заключении четко сформулированы итоги проведенных исследований с критической оценкой и детальным анализом данных. Положения, выносимые на защиту и практические рекомендации, представленные в диссертации, логически вытекают из ее содержания, согласуются с целью и задачами исследования.

Выводы диссертации соответствуют поставленным задачам и отображают основные результаты диссертационной работы.

По теме диссертации опубликовано 54 печатных работы, из них 19 – в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, в том числе 7 – базы Scopus. Издана 1 монография, получено 14 патентов РФ на изобретения и полезные модели. Публикации отражают содержание и основные положения диссертационной работы. Результаты диссертации обсуждались на многочисленных российских и зарубежных международных научных конгрессах, съездах и конференциях.

Автореферат Халимова А.Р. оформлен в соответствии с требованиями и полностью отражает основные результаты, полученные в диссертации.

В процессе рецензирования диссертации был выявлен ряд редакционных замечаний, не носящих принципиального характера и не затрагивающих сути представленной работы. В частности, было бы полезным представить практические рекомендации по выполнению УФ кросслинкинга роговицы в виде методического пособия для врачей.

Оппонент считает необходимым задать соискателю следующие вопросы:

1) Известно, что УФ кросслинкинг приводит к уплотнению стромы, возрастанию ригидности роговицы и снижению её толщины. В чем причина снижения плотности фибриллярной упаковки коллагена роговицы и почему на этом фоне снижения плотности упаковки коллагена, а не из-за её повышения, возрастает биомеханическая жёсткость роговицы в зоне воздействия?

2) Как рассчитывалась доза УФ излучения при воздействии на роговицу кроликов и крыс, имеющих разную толщину?

3) С чем связано повышение уровней трансформирующих факторов роста $-\beta 1$ и $-\beta 2$ в слезе пациентов с кератоконусом в дооперационном периоде?

Заключение

Диссертационная работа Халимова Азат Рашидовича «Молекулярные и клеточные механизмы ультрафиолетового сшивания роговицы» является

По актуальности, новизне, научной и практической значимости, методическому уровню, достоверности результатов диссертация Халимова А.Р. полностью соответствует требованиям п. 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016 г., №748 от 02.08.2016 г., № 1168 от 10.10.2018 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а её автор Халимов Азат Рашидович заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.02 - биофизика, 14.03.03 - патологическая физиология.

Тел. +7 921 972 49 00, e-mail: svetlova.ov@bk.ru

of -

ветловой О.В. заверяю. Ученый
М.И.И. Мечникова» Минздрав
Баку

Бакудина Наталья Валерьевна