

Отзыв

официального оппонента на диссертационную работу Кавелиной Анны Станиславовны. «Патогенетическое обоснование создания биоэквивалента поверхностных слоев роговицы глаза человека» представленную к защите на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология

Актуальность темы диссертационной работы

По данным Всемирной организации здравоохранения заболевания роговицы составляют 1/4 от всех болезней глаз и являются причиной от 3 до 5 % слепоты во всем мире, что является достаточной важной и актуальной проблемой офтальмохирургии.

За последнее время в Российской Федерации выявлено более 450 тысяч слабовидящих и слепых, из них пациенты с патологией роговицы составляют 18%.

Культивированные лимбальные стволовые клетки (ЛСК) широко применяются во всех офтальмологических клиниках по всему миру. Трансплантация амниотической мембраны (АМ) внесла существенный вклад в лечение состояний, вызванных дефицитом стволовых клеток (СК) лимба, приводящим к потере зрения. Амнион обладает свойствами, способствующими росту эпителизации, контролируют процесс воспаления и рубцевания и одновременно является своеобразной нишей для культивированных клеток, сохраняя их морфологические и фенотипические свойства.

В последнее десятилетие усилия офтальмологии направлено на поиск новых субстратов, адгезивных для клеточных элементов при длительном культивировании в монослое неменяющих свой фенотип, неспособных терять функциональные характеристики.

Всё вышеизложенное побудило автора приступить к изучению патогенетических особенностей создания биоэквивалента поверхностных слоев роговицы глаза человека и обоснованию проведенного сравнительного исследования с целью последующего применения в лечении тяжёлой патологии роговицы глаза.

Общие сведения о работе.

Диссертационная работа изложена на 151 странице текста компьютерной верстки (123 страницы основного текста, 28 страниц списка литературы) и включает: введение, обзор литературы, материалы и методы, 4 главы, анализ и обобщение результатов исследования, заключение, выводы и практические рекомендации. Диссертация иллюстрирована 74 рисунками, 5 таблицами, 2 схемами. Список литературы включает 224 источника, в том числе 60 отечественных и 164 иностранных авторов.

Теоретическая и практическая значимость работы.

В процессе работы разработана и внедрена патогенетически-обоснованная методика создания биоэквивалента поверхностных слоев роговицы глаза. С помощью разработанных методов проведена идентификация культивированных ЛСК и КПЭ роговицы человека в монокультуре и в составе многослойного культивирования. Изучены морфологические особенности пролиферативной активности, эффективности колонеобразования в условиях культивирования. Патогенетически обоснована целесообразность криоконсервации ЛСК и КПЭ роговицы глаза человека на поверхности амниотической мембраны с позитивным действие ДМСО при 10% содержании в качестве криопротектора с добавлением 20 % ЭТС в питательной среде DMEM/F12. Даны рекомендации о целесообразном применении биоэквивалента поверхностных слоев роговицы глаза человека с учетом патогенетического обоснования в регенерации эпителия роговицы.

Степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации.

Положения и выводы диссертации аргументированы и подтверждены конкретным фактическим материалом.

Степень достоверности результатов проведенных исследований определяется

количеством наблюдений, с использованием адекватных методов исследования и подтверждается в процессе анализа материала. Все исследования выполнены на качественном и метрологически поверенном оборудовании лаборатории клеточного и тканевого культивирования ИНВХ им. В. К. Гусака. Составлен акт проверки первичной документации. Научные положения, выводы, сформулированные в диссертации, строго аргументированы и логически вытекают из результатов исследования. Тема диссертации и научный руководитель утверждены на заседании Координационного совета ИНВХ им. В. К. Гусака, протокол №3 от 14 декабря 2017 г.

Исследование было проведено в 5 этапов, согласно поставленным задачам.

Первый этап посвящен разработке методики выделения ЛСК и КПЭ роговицы глаза человека. Второй этап состоял из разработки метода получения биоэквивалента поверхностных слоев роговицы глаза человека и изучению его морфологических свойств. Идентификация культур ЛСК и КПЭ в монокультуре и в многослойном культивировании оценивали на третьем этапе. Четвертый этап состоял из проведения криоконсервации биоэквивалента поверхностных слоев роговицы глаза человека и оценки морфологических свойств (пятый этап).

Все исследования проводились в 2012-2013 гг. в лаборатории клеточного и тканевого культивирования Института неотложной и восстановительной хирургии им. В.К. Гусака под руководством д. мед. н., профессора Попандопуло А.Г.

Иммуногистохимические исследования проводились в лаборатории «Новая диагностика плюс» патоморфологом Шатохиной Т.В.

Использованные образцы сертифицированной АМ (ПА-платекс амниотический офтальмологический, серия №ПАО/1035) были предоставлены Институтом проблем криобиологии и криомедицины (ИпКиК НАН Украины, г. Харьков) заместителем директора по научной работе Прокопюк О.С.

Проведенные исследования отвечают принципам Хельсинкской декларации, принятой Генеральной ассамблеей Всемирной медицинской ассоциацией (1997-2000 гг.), конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине (1997 г.), соответствующим положениям ВОЗ и полностью исключает ограничение интересов пациента и нанесения вреда его здоровью и всем этическим требованиям, что подтверждено заключением комиссии по биоэтике ИНВХ им. В.К. Гусака МЗ ДНР протокол №1/5 от 14 марта 2022 г.

Для экспериментальных исследований были выделены клеточные линии роговицы глаза человека, полученные от пациента с диагнозом глаукома. Пациент не имел диабетического анамнеза (для исключения влияния метаболических аспектов), не принимал антибиотиков, глюкокортикостероидов или химиотерапевтических препаратов, по крайней мере, за две недели до операции. Исследование проводилось добровольно, соответственно с положениями о биоэтике. В экспериментах использовали активно пролиферирующие клетки.

Личный вклад соискателя.

Диссертация является самостоятельным научным трудом соискателя. Автором самостоятельно разработан дизайн и программа исследования. Проявлено непосредственное участие в сборе данных в проведении эксперимента, включенных в исследование. Совместно с руководителем лаборатории доктором медицинских наук, профессором Попандопуло А.Г. выбрана тема диссертационной работы, методологическая структура работы. Автором освоены методики, применяемые для получения и оценки результатов, выполнен анализ и описание результатов исследования, сформулированы основные положения и выводы, выносимые для защиты.

Апробация результатов диссертации.

Результаты исследования доложены на следующих конференциях с международным участием специалистов: XII съезде офтальмологов Украины (г. Одесса, 2010г.), научно-практической конференции «Филатовские чтения» (г. Одесса, 2012г.), конференции «Биотехнологии в клинической медицине» (г. Донецк, 2012г.), мировом офтальмологическом

конгрессе WOC (Aby Dhabi, 2012г.), VI Ежегодном симпозиуме «Актуальные вопросы генных и клеточных технологий» (г. Москва, 2013г.), офтальмологическом конгрессе с международным участием, приуроченном к 80-летию Казанского НИИ глазных болезней «Инновационные технологии в повседневной офтальмологической практике» (г. Алматы, 2013г.), XIII съезде офтальмологов Украины (г. Одесса, 2014г.), II национальном конгрессе по регенеративной медицине (г. Москва, 2015г.), мировом офтальмологическом конгрессе WOC 2014 (Токуо, Япония, 2014г.), 39-й конференции молодых ученых ИПКиК НАН Украины «Холод в биологии и медицине» (г. Харьков, 2015г.), II Международном форуме Донбасса «Наука побеждает... болезнь» (г. Донецк, 2018г.).

Результаты исследования внедрены в клиническую практику отделения патологии роговицы Института глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова НАМНУ (г. Одесса), глазного отделения и лаборатории клеточного и тканевого культивирования ИНВХ им. В. К. Гусака МЗ ДНР (г. Донецк).

Полнота изложения материалов диссертации в опубликованных трудах и автореферате.

По теме диссертации опубликовано 8 статей в рецензируемых изданиях ВАК (из них 2 - без соавторов), оформлено 4 патента на полезную модель, 11 тезисов в материалах научных конференций.

Недостатки диссертации и автореферата по их содержанию и оформлению, материалы для научной дискуссии.

Существенных замечаний по содержанию диссертации нет. Работа написана литературным русским языком, количество ошибок минимально. В качестве замечаний можно отметить не полную информативность рисунков (диаграмм), некоторые сложно воспринимаются. Также работа имеет важное клиническое (прикладное) значение, поэтому, было бы желательнее, референсировать более свежую литературу (за последние пять лет).

Хотелось услышать ответы автора по следующим вопросам:

1. Каковы основные патофизиологические компоненты обоснования мероприятий по профилактике рубцовых дефектов, обусловленных ожогами?
2. В порядке уточнения возникает вопрос о возможности использования предлагаемой автором методики для проведения лечения рубцовых деформаций роговицы, а также возникает вопрос о необходимости проведения дополнительных исследований по определению жизнеспособности клеток из сохраненных после процедуры размораживания биоэквивалента.

Замечания не меняют общую положительную характеристику работы. Основные научные положения и выводы автора не подлежат сомнению.

Заключение.

Диссертационная работа Кавелиной А.С. построена и оформлена стандартным образом и полностью по объему и содержанию соответствует требованиям ВАК МинОбрНауки Донецкой Народной Республики, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Текст диссертации, как по содержанию, так и редакционно, изложен и оформлен соискателем качественно. Стиль диссертационной работы и использованная терминология не вызывают сомнения. Название работы полностью соответствует целям и основному содержанию диссертационного исследования. Изложение основных положений по стилю и терминологии заслуживает положительной оценки. Фактический материал таблиц и графиков вмещает достаточное количество информации для обоснования основных положений диссертации. Принципиальных замечаний к оформлению работы не возникло.

Во введении достаточно обоснована актуальность проблемы и целесообразность запланированных исследований. Формулировка цели диссертационного исследования и его основных задач принципиальных замечаний не вызывает. Научная новизна и практическое значение полученных результатов изложено достаточно полно и обоснованно. Во введении

отмечен личный вклад соискателя, который является достаточно весомым.

Выводы диссертационной работы вполне обоснованы результатами собственных исследований, они являются конкретными, сформулированы четко и логично в соответствии с решенных автором основных задач исследования, по своему содержанию они вполне взвешенными и значимыми.

Список использованных источников в полной мере отражает информацию из выбранного для диссертационных исследований научного направления и свидетельствует о высокой профессиональной эрудиции диссертанта.

Диссертационная работа Кавелиной Анны Станиславовны. «Патогенетическое обоснование создания биоэквивалента поверхностных слоев роговицы глаза человека» является законченным исследованием, которое отличается актуальностью выбранной проблемы, научной новизной, личным вкладом, наличием соответствующих публикаций, уровнем апробации материалов исследования, практической значимости, высоким методическим и методологическим уровнями. В работе получены новые научно-обоснованные результаты, которые в совокупности решают конкретную научную задачу, имеющую существенное значение в области теоретической медицины,

Учитывая научную зрелость соискателя и его характеристику, соответствие диссертационной работы Кавелиной А.С. требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», ее автор, Кавелина А.С. показавший большую научную добросовестность, заслуживает присуждения ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология.

Согласна на автоматизированную обработку персональных данных

Официальный оппонент:

кандидат медицинских наук (14.03.03),

доцент кафедры патологической физиологии

Государственной образовательной организации

высшего профессионального образования

«Донецкий национальный медицинский

университет имени М. Горького» Министерства

здравоохранения Донецкой Народной Республики,

г. Донецк



Анна Ивановна Фабер

ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО по адресу: 283003, г. Донецк, пр-т Ильича, 16.
Тел. / факс: (062) 344 41 51, 344 41 51, e-mail: spec-sovet-01-022-05@dnmu.ru