

ВІДГУК
офіційного опонента на дисертаційну роботу
Лисенка Михайла Григоровича
«Ефективність модифікованого методу лікування кератоконусу»,
що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата
медичних наук за спеціальністю
14.01.18 - офтальмологія
до спеціалізованої вченої ради Д 26.613.05
Національної медичної академії післядипломної освіти
імені П. Л. Шупика МОЗ України

1. Актуальність обраної теми дисертації.

Робота присвячена розв'язанню важливого науково-прикладного завдання сучасної офтальмології - підвищенню ефективності лікування хворих на кератоконус шляхом підвищення якості рогівкового алотрансплантату.

На жаль, проблеми боротьби зі сліпотою та слабкозорістю актуальні для України, де захворювання рогівки посідають третє місце і з кожним роком ситуація з поширеністю кератектазій незмінно погіршується. Значне зростання рівнів розповсюдженості кератоконуса як на Україні, так і в світі зумовлюють постійну увагу науковців і практичних офтальмологів до цієї категорії хворих. В зв'язку з несприятливим прогнозом перебігу кератоконусу та високим ризиком перфорації рогівки при неадекватному лікуванні, саме розробка та удосконалення методів лікування кератоконусу досі мають вирішальне науково-прикладне значення.

Сьогодні, завдяки впровадженню в клінічну практику методу collagen-cross-linking, зменшилася кількість випадків, що потребують наскрізної кератопластики, однак їх кількість все ще залишається високою через несвоєчасне діагностування субклінічного кератоконусу. Крім того, на очах з критичною товщиною рогівки, де неможливе виконання ультрафіолетового зшивання колагенових фібрил рогівки, наскрізна кератопластика залишається єдиним методом лікування та соціальної реабілітації.

Відомо, що на одну доступну донорську рогівку є 70 потенційних реципієнтів, що зумовлює певний дефіцит донорської матеріалу. Зважаючи на те, що частина кадаверних рогівок на момент їх трансплантації стає нежиттєздатною, а значить не може забезпечувати добру приживляємість та прозорість, актуальним є розробка методів своєчасного (до наскрізної кератопластики) виявлення змін трансплантату, що зменшують його життєздатність залишається вкрай актуальною.

Не менш актуальним є також і пошук методів, направлених на підвищення виживаємості кератотрансплантату, як під час операції, так і в післяопераційному періоді. Особливе значення ці проблеми набувають, коли наскрізна кератопластика застосовується у пацієнтів з кератоконусом, так як вони найчастіше належать до соціально-активного, працездатного віку.

Все вищезазначене обумовило актуальність та необхідність виконання даної дисертаційної роботи.

2. Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами.

Дисертаційна робота виконана на кафедрі офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика і є фрагментом комплексних науково-дослідних робіт: «Удосконалення методів діагностики та лікування порушень оптичної системи ока» (№ державної реєстрації 0104U002966), термін виконання 2005-2009 роки; «Діагностика та лікування порушень оптичної системи ока» (№ державної реєстрації 0110U002363), термін виконання 2010-2014 роки; «Діагностика та лікування порушень оптичної системи, судинних та дистрофічних змін органа зору» (№ державної реєстрації 0115U002167), термін виконання 2015-2016 роки і «Клінічне та експериментальне обґрунтування діагностики, лікування і профілактики рефракційних, дистрофічних, травматичних і

запальних захворювань органу зору» (№ державної реєстрації 0116U002821), термін виконання 2016-2020 роки, в яких автор був співвиконавцем.

3. Новизна дослідження та одержаних результатів.

Шляхом проведення клінічних офтальмологічних обстежень очей у хворих на кератоконус в динаміці після наскрізної аллокератоластики (термін спостереження - 1 рік), обстеження *ex vivo* донорських очних яблук для трансплантації рогівки та статистичних досліджень, доповнені наукові дані про можливість вивчення ендотелію кадаверних рогівок за допомогою метода *ex vivo* конфокальної мікроскопії, встановлена залежність швидкої втрати ендотеліальних клітин на рогівковому трансплантаті від визначених в дослідженні морфометричних критеріїв ендотеліоцитів, розширена наукова інформація про модифікований спосіб віскопротекції на етапі «back table», доповнена наукова інформація про структуру браку серед донорських рогівок, що надходять для кератоластики.

4. Теоретичне значення результатів дослідження.

Доповнено наукові знання про можливість вивчення за допомогою метода прижиттєвої конфокальної мікроскопії ендотеліального шару рогіткових оболонок кадаверних очних яблук. На основі дослідження на клітинному рівні особливостей ендотелію рогівки кадаверних очних яблук вперше визначено, що наявність органел в цитоплазмі ендотеліоцитів, «об'ємність» ендотеліоцитів та зниження запропонованого коефіцієнта рефлексивності (КРЕКР) (<50) є свідченням негативного прогнозу виживання ендотеліоцитів та трансплантаті при наскрізній аллокератоластичі ($p < 0,05$).

На підставі проведених клінічних досліджень хворих на кератоконус доповнено наукові дані про динаміку морфометричних характеристик ендотеліальних клітин (щільності ЕК) на наскрізному рогівковому трансплантаті через шість місяців після наскрізної

алокератоластики (НАКП). Встановлена достовірна залежність щільності ендотеліальних клітин на рогівковому наскрізному алотрансплантаті через шість місяців після НАКП у хворих на кератоконус від коефіцієнта рефлексивності ендотеліальних клітин (КРЕКР), що був визначений до трансплантації. Встановлена порогова величина КРЕКР (50), яка достовірно корелює з інтенсивною втратою ендотеліальних клітин рогівки ($r=0,83$; $p<0,05$).

Розширено наукову інформацію про модифікований спосіб віскопротекції ендотелію при НАКП у хворих на кератоконус на етапі «back table», який позитивно впливає на виживання ендотеліоцитів на рогівковому трансплантаті. При порівнянні досліджуваних груп відмічено, що застосування розробленого модифікованого способу віскопротекції ендотелію із застосуванням віскопротекторів в поєднанні з відбором донорської трупної рогівки за запропонованими морфометричними критеріями допомагає більшому збереженню ендотеліоцитів на трансплантаті вже на 3 місяці спостереження ($p<0,05$) проти 6 місяця при порівнянні з групами без модифікованої віскопротекції ендотелію.

Розширено наукові дані про характеристику рогівкових трансплантатів кадаверних очних яблук та визначення їх придатності для проведення операції оптичної НАКП. Встановлено, що лише 13-14% донорських трупних рогівок - придатні для проведення оптичної НАКП на очах хворих на кератоконус для збереження життєздатності рогівкового трансплантату. Виявляються непридатними через серологічні тести зразків крові донорів 25,6% всіх кадаверних очних яблук, які надходять для проведення трансплантації; 45,1% донорських трупних рогівок непридатні через виражений посмертний набряк рогівки, 10% - через патологічні зміни структур переднього сегменту ока та недостатню щільність ендотеліальних клітин, 5% - через підвищення вимог до донорських трупних рогівок шляхом

застосування розроблених морфометричних критеріїв ендотеліальних клітин та запропонованого коефіцієнта рефлексивності.

5. Практичне значення результатів дослідження.

На підставі отриманих результатів вперше обґрунтовано, розроблено та впроваджено в практику методику проведення конфокальної мікроскопії рогівки *ex vivo* за допомогою розробленого штативу, який можна розташувати на Гейдельберзькому лазерному скануючому конфокальному ретинотомографі (Heidelberg Retina Tomograph) з рогівковим модулем Rostock Cornea Module (Heidelberg Engineering GmbH, Німеччина), що сприяє підвищенню ефективності діагностики змін рогівкових оболонок кадаверних очних яблук.

Запропонований та впроваджений алгоритм визначення коефіцієнту рефлексивності ендотеліальних клітин рогівки, який включає послідовність етапів дослідження кадаверного очного яблука: 1) конфокальну мікроскопію кадаверного очного яблука *ex vivo*; 2) отримання тонової діаграми монохромного зображення ендотеліального шару рогівки за допомогою вільного програмного забезпечення «ImageJ»; 3) визначення значення моди тонової гістограми рогівки кадаверного очного яблука. Завдяки запропонованому способу досягається підвищення вимог до якості донорського трансплантата і, таким чином, за рахунок доопераційного відбракування - зменшення втрати ендотеліоцитів на трансплантатах у реципієнта через 6-12 місяців після наскрізної аллокератопластики в порівнянні з групою без урахування цих факторів ($p < 0,05$).

Запропонований та впроваджений модифікований спосіб віскопротекції ендотелію кадаверного очного яблука при наскрізній аллокератопластикі у хворих на кератоконус на етапі «back table» подовжує життєздатність рогівкового трансплантату і є суттєвим додатковим фактором, який дозволяє знизити втрату ендотеліоцитів на трансплантаті.

Розроблені пропозиції, що спрямовані на підвищення якості рогівкового трансплантату у реципієнтів, яким була виконана оптична наскрізна аллокератопластика з приводу кератоконусу, дозволили підвищити ефективність лікування, а саме: максимальна некоригована гострота зору $0,42 \pm 0,11$ проти $0,28 \pm 0,08$ в групі контролю ($p < 0,05$), максимально коригована гостроту зору $0,74 \pm 0,13$ проти $0,56 \pm 0,16$ в групі контролю ($p < 0,05$), середній показник зниження щільності ендотеліальних клітин на трансплантаті в $16,2\%$ проти $41,3\%$ в групі контролю ($p < 0,05$), щільність ендотеліальних клітин на трансплантаті 2258 ± 453 кл/м² проти 1600 ± 475 кл/м² в групі контролю ($p < 0,05$).

Розроблені алгоритм визначення КРЕКР та модифікований спосіб віскопротекції ендотелію при НАКП у хворих на кератоконус включені в методичні рекомендації 14.16/270.16, науково-практичне та медико-біологічне нововведення №267/4/17, впроваджені у відділеннях КМКОЛ «ЦМХО» (м. Київ), в Дніпропетровській обласній клінічній офтальмологічній лікарні.

Основні положення роботи включені в програму лекцій, семінарських і практичних занять кафедри офтальмології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, кафедри очних хвороб Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова та кафедри офтальмології Одеського національного медичного університету.

6. Ступінь обґрунтування та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Дисертація виконана на сучасному науково-методичному рівні із застосуванням принципів доказової медицини та базується на результатах офтальмологічних, клінічних, гістологічних, електронно-мікроскопічних і статистичних досліджень. Висновки та наукові положення автора ґрунтуються на результатах клінічних обстежень 129 очей (116 реципієнтів) з кератоконусом та на результатах *ex vivo*

досліджень 3154 кадаверних очних яблук, що надходили до КМКОЛ «ЦМХО» згідно чинного законодавства для подальшої трансплантації рогівки.

Значимість і достовірність отриманих результатів підтверджується статистичною обробкою даних за допомогою ліцензійного програмного пакету Statistica 6.0 (StatSoft, Incorporates, США), Statplus v5, і Microsoft Excel 2010. Автором були використані параметричні та непараметричні методи. Первинна документація перевірена комісією та достовірна.

Отримані наукові положення, висновки та практичні рекомендації, викладені в дисертаційній роботі, добре обґрунтовані, відповідають поставленим задачам і логічно зі сформульованими висновками, які здійснені в процесі написання дисертаційної роботи. Обсяг і характер досліджень, досконала обробка матеріалу дозволяють вважати отримані дисертантом результати та висновки достовірними.

7. Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті.

За матеріалами роботи опубліковано 19 наукових праць, з них 6 статей у фахових виданнях, затверджених відповідно «Переліку наукових видань України», 2 патенти України на корисну модель, 10 публікацій (2 іноземні) - у матеріалах та тезах науково-практичних конференцій та з'їздів.

Отримані основні положення дисертаційної роботи доповідались та були обговорені на: XXXVI Європейському конгресі офтальмологів ESCRS (Відень, Австрія, 2018); II Міжнародному науковому з'їзді вчених Європи у рамках II Міжнародного наукового форуму вчених «Схід-Захід» (Відень, Австрія, 2018); V симпозіумі з офтальмохірургії в Україні (Донецьк, Україна, 2007); міжнародній конференції, присвяченій 100-річчю з дня народження академіка Н. О. Пучківської «Сучасні аспекти клініки, діагностики та лікування очних хвороб» (Одеса, Україна, 2008); науково-практичній конференції за участю молодих

спеціалістів «Новітні проблеми в офтальмології» - 6-й Українсько-польський симпозиум (Київ, Україна, 2008); XII з'їзді офтальмологів України (Одеса, Україна, 2010); 64-й міжнародній науково-практичній конференції студентів і молодих вчених «Актуальні проблеми сучасної медицини» (Київ, Україна, 2010); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення офтальмохірургії» (Київ, Україна, 2010); науково-практична конференція з міжнародною участю «Рефракційний пленер'17» (Київ, Україна, 2017); XV Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання вищої медичної освіти України» (з дистанційним поєднанням ВМ(Ф)НЗ України за допомогою відеоконференц-зв'язку) (Тернопіль, Україна, 2018).

Зміст автореферату і основних положень дисертації ідентичні.

8. Недоліки та зауваження до дисертації та автореферату щодо їх змісту і оформлення.

Робота викладена українською мовою на 138 сторінках друкованого тексту, проілюстрована 40 таблицями та 68 рисунками. Робота складається з вступу, огляду літератури, розділу матеріалів і методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу і обговорення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел і 2 додатків. Список літератури складається із 179 джерел, із них - 98 латиницею.

Всі розділи дисертації написано із дотриманням наукового стилю написання та оформлення текстів.

Анотація складена згідно існуючи вимогам щодо оформлення кандидатських дисертацій. У вступі показана необхідність та актуальність роботи, сформульована мета, поставлені задачі, доведена доцільність клінічних та експериментальних досліджень.

В необхідному обсязі сформульовані наукова новизна і практична значимість результатів дисертаційного дослідження.

В повному обсязі надані відомості про впровадження наукових розробок і про особистий внесок дисертанта в ці дослідження.

Розділ 1. Огляд літератури. В огляді літератури відзначена актуальність проблеми, дисертант відмітив, що в даний час не існує ідеального методу оцінки якості донорської рогівки. Також в розділі зроблено аналіз існуючих в літературі відомостей з питання якості рогівкової донорської тканини, відображено ряд актуальних невирішених проблем даної проблеми, при цьому добре аргументована доцільність проведеного дослідження. В резюме наголошено на питаннях, які невирішені і, які треба розв'язати. Зауважень по даному розділу немає.

Розділ 2. Матеріали і методи дослідження. В роботі проведено обстеження 129 очей (116 реципієнтів) віком від 14 до 59 років з кератоконусом. Також обстежено 3154 очних яблук від 1580 донорів-трупів.

Виконаний дуже великий обсяг конфокальних мікроскопій *ex vivo*. Експеримент проведено з виконанням етичних норм, передбачених міжнародними принципами Європейської конвенції.

В кінці розділу представлені методи статистичної обробки матеріалу. Зауважень по розділу 2 немає.

У розділі 3 наукової точки зору представлений гарний матеріал: відображено результати конфокальних мікроскопій *ex vivo* рогівок, що надходили в клініку для проведення наскрізних кератопластик. Для вивчення динаміки втрати ендотеліальних клітин на трансплантаті був проведений річний моніторинг ендотелію на трансплантатах. В залежності від інтенсивності втрати ендотеліоцитів були визначені певні морфометричні критерії якості донорської рогівки, що використовується для проведення наскрізної аллокератопластики у пацієнтів з кератоконусом. Була доведена ефективність запропонованих критеріїв якості в підвищенні виживання ендотелію на

трансплантаті, що є профілактикою пізнього відторгнення трансплантату. Одержані наукові відомості є високо інформативними і достовірними, вони заслуговують особливої та великої уваги і є практично значимими та важливими. Розділ достатньо ілюстрований цікавими конфокальними мікрофотографіями, завершується резюме та списком публікацій автора. Зауважень по даному розділу немає.

Розділ 4 присвячений дослідженню впливу запропонованого удосконаленого інтраопераційного захисту ендотелію на донорській рогівці під час підготовки її до трансплантації. Наведені результати впливу запропонованого способу на динаміку втрати ендотелію на трансплантаті. Одержані наукові відомості є практично значимими та важливими. Розділ добре ілюстрований рисунками та таблицями, завершується резюме та списком публікацій автора. Зауважень по розділу 4 немає.

У розділі 5 наведені результати клінічної ефективності запропонованої методики відбору донорського рогівкового матеріалу за розробленими морфометричними критеріями та запропонованого модифікованого інтраопераційного захисту клітин ендотелію. Клінічна ефективність визначалась за динамікою найважливіших клінічних параметрів - максимальної гостроти зору (коригованої та некоригованої), щільності ендотеліальних клітин на трансплантаті та центральної товщини рогівкового трансплантату. Одержані наукові відомості є практично значимими та важливими. Розділ добре ілюстрований рисунками та таблицями, завершується резюме та списком публікацій автора. Зауважень по даному розділу немає.

В розділі «Аналіз і узагальнення результатів» показані основні результати дисертації та проведено їх порівняльний аналіз з даними літератури.

Висновки відповідають задачам дослідження та інформативно відображають зміст роботи.

Зміст автореферату і основних положень дисертації ідентичний.

Принципових зауважень до роботи немає.

При ознайомленні з дисертацією виникли декілька запитань:

1. Чи може запропонована методика оцінки якості трансплантату бути застосована при кератопластиці у пацієнтів з іншими захворюваннями рогівки чи тільки при кератоконусі?
2. Чи маєте Ви досвід застосування даної методики у пацієнтів з епітеліально-ендотеліальною дистрофією рогівки?

9. Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці.

Отримані результати дисертаційної роботи можуть бути впроваджені у роботу стаціонарних офтальмологічних відділень для підвищення ефективності лікування пацієнтів з кератоконусом, для профілактики розвитку пізнього відторгнення рогівкового трансплантату, а також можуть бути використані при розробці навчальних програм та посібників з підготовки фахівців в відповідних навчальних закладах.

10. Відповідність дисертації спеціальності та профілю спецради.

Дисертація Лисенка Михайла Григоровича «Ефективність модифікованого методу лікування кератоконусу» повністю відповідає паспорту спеціальності 14.01.18 - офтальмологія та профілю спеціалізованої вченої ради Д 26.613.05.

11. Відсутність академічного плагіату.

В дисертаційній роботі ознак академічного плагіату не було відмічено.

12. Відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Лисенка Михайла Григоровича «Ефективність модифікованого методу лікування кератоконусу»,

подана на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.18 - офтальмологія, є завершеною кваліфікаційною науковою роботою, яка виконана на сучасному рівні, є актуальною, вносить суттєвий вклад в науку і практику в офтальмології та вирішує конкретне наукове і практичне завдання: підвищення ефективності лікування хворих на кератоконус шляхом більш якісного відбору рогівкового алотрансплантату для наскрізної аллокератоластики за рахунок визначення додаткових діагностичних та прогностичних критеріїв якості рогівкового алотрансплантату на дотрансплантаційному етапі та застосуванням інтраопераційної ендотеліопротекції.

Враховуючи вищезазначене, дисертаційна робота Лисенка Михайла Григоровича «Ефективність модифікованого методу лікування кератоконусу», за об'ємом та рівнем проведених досліджень, наукової новизни результатів, теоретичної та практичної цінності отриманих даних, об'єктивності та обґрунтованості висновків, беручи до уваги особистий внесок здобувача, повністю відповідає вимогам, які пред'являються до дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук, згідно п. 9, 11, 12 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 року, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.18 - офтальмологія.

Офіційний опонент:

Завідувач кафедри офтальмології
Запорізького державного
медичного університету
МОЗ України,
д.мед.н., професор



Н. Г. Завгородня

*Відгук надійшов до мене
ліжованої вченої ради 026619
10.05.2019 р.
Вчений секретар наукової
к.мед.н., доцент Нілавіч (Н.С. Лаврин)*

*Людмила
Людмила Калова Т.М.*