

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 актуальній проблемі 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.

Сучасна офтальмологія дозволяє вчасно діагностувати кератоконус, але його лікування залишається проблемою через відсутність доказових знань про пускові механізми прогресування процесу. Незважаючи на значні можливості сучасних шарових методик кератоластики, в тому числі і з застосуванням фемтосекундного лазера, наскрізна аллокератоластика залишається «золотим стандартом» лікування даної хвороби, оскільки дозволяє досягти високої зорової та професійної реабілітації пацієнтів молодого працездатного віку.

В той же час, через особливості законодавчої бази в Україні актуальними і невирішеними залишаються проблеми дефіциту донорського рогівкового матеріалу. Застосування ксенобіоімплантів та кератобіоімплантів певною мірою допомагає вирішити частину питань у випадках термінової потреби в кератоластикі. Але все одно, навіть за умов часткового покриття потреб в донорському матеріалі, потреба в раціональному використанні нативних донорських рогівок залишається особливо актуальною, що вимагає

нових рішень.

Все вищевказане 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 рр.; «Діагностика та лікування порушень оптичної системи ока» (№ державної реєстрації 0110U002363), термін виконання 2010-2014 рр.; «Діагностика та лікування порушень оптичної системи, судинних та дистрофічних змін органа зору» (№ державної реєстрації 0115U002167), термін виконання 2015-2016 рр. і «Клінічне та експериментальне обґрунтування діагностики, лікування і профілактики рефракційних, дистрофічних, травматичних і запальних захворювань органу зору» (№ державної реєстрації 0116U002821), термін виконання 2016-2020 рр., в яких автор був співвиконавцем.

3. Новизна дослідження та одержаних результатів.

Були проведені офтальмологічні клінічні обстеження хворих на кератоконус в динаміці після наскрізної аллокератопластики, обстеження *ex vivo* донорських очних яблук для трансплантації рогівки та статистичні дослідження, які доповнили наукові дані про можливість вивчення за допомогою метода *ex vivo* конфокальної мікроскопії ендотеліального шару рогівкових оболонок донорських очних яблук, визначили залежність швидкої втрати ендотеліальних клітин на трансплантаті від певних морфометричних критеріїв рогівкового ендотелію, розширено наукову інформацію про модифікований спосіб віскопротекції на етапі «back table», доповнили

наукову інформацію про структуру браку серед донорських рогівок, що надходять для кератопластики.

4. Теоретичне значення результатів дослідження.

Доповнено наукові знання про можливості вивчення за допомогою метода прижиттєвої конфокальної мікроскопії ендотеліального шару рогіvkових 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 алокератопластиці ($p < 0,05$).

Доповнено наукові дані на підставі проведених клінічних досліджень хворих на кератоконус про динаміку морфометричних характеристик ендотеліальних клітин (щільності ЕК) на наскрізному рогівковому трансплантаті через шість місяців після наскрізної алокератопластики (НАКП). Встановлена достовірна залежність від коефіцієнта рефлексивності ендотеліальних клітин рогівки (КРЕКР), який був визначений до трансплантації, щільності ендотеліальних клітин на рогівковому наскрізному алотрансплантаті через шість місяців після НАКП у хворих на кератоконус. Визначена 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 відмічено більше збереження 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% ДТР КОЯ - 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 КОЯ, які надходять для проведення трансплантації; 45,1% ДТР непридатні через виражений посмертний набряк рогівки, 10% - через патологічні зміни структур переднього сегменту ока та недостатню щільність ЕК, 5% - через підвищення вимог до ДТР шляхом застосування розроблених морфометричних критеріїв ЕК 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 якості донорського трансплантата і, таким чином, за рахунок доопераційного відбракування - зменшення втрати ендотеліоцитів на трансплантатах у реципієнта через 6 - 12 місяців після наскрізної аллокератоластики в порівнянні з групою без урахування цих факторів ($p < 0,05$).

Запропонований та впроваджений модифікований спосіб віскопротекції ендотелію кадаверного очного яблука при наскрізній аллокератоластиці 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, які спрямовані на підвищення якості рогівкового трансплантату у реципієнтів, яким була виконана оптична наскрізна аллокератоластика 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 коефіцієнта рефлексивності ендотеліальних клітин рогівки (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 базується на результатах офтальмологічних, клінічних, та статистичних досліджень, котрі включають біомікроскопію *in vivo*, пахіметрія рогівки та конфокальну мікроскопію *ex vivo* та *in vivo* за допомогою лазерного скануючого конфокального ретинотомографа HRT II з рогівковим модулем Rostock Cornea Module, Heidelberg Engineering Inc., а також біомікроскопію *ex vivo* за допомогою операційного мікроскопу OPMI Lumera 700, Carl Zeiss Meditec AG, Йена.

Дисертація виконана на сучасному науково-методичному рівні із застосуванням принципів доказової медицини. 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 симпозиумі 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. детально представлені дані про пацієнтів, проведених обстеження та хід наскрізної кератопластики.

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 представлений великий матеріал, дуже цікавий з наукової точки зору: 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 трансплантатів. В залежності від інтенсивності втрати ендотеліоцитів були визначені 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, що є профілактикою пізнього відторгнення трансплантату. Одержані наукові відомості є високо інформативними і достовірними і є практично значимими та важливими. Розділ дуже добре ілюстрований конфокальними мікрофотографіями, завершується резюме та списком публікацій автора.

Розділ 4 присвячений дослідженню впливу запропонованого удосконаленого інтраопераційного захисту ендотелію донорської рогівки під час підготовки її до трансплантації. Наведена динаміка стану клітин ендотелію трансплантату під впливом запропонованого способу. Одержані наукові відомості є практично значимими та важливими. Розділ добре ілюстрований рисунками та таблицями, завершується резюме та списком публікацій автора.

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 трансплантату 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.

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. У Вашому дослідженні виявляються непридатними через виражений посмертний набряк рогівки 45,1% донорських трансплантатів, як це корелює з даними літератури?
2. Вами доказано, що проведення конфокальної мікроскопії рогівки *ex vivo* підвищує ефективність діагностики стану рогівки. Чи можливе застосування розроблених Вами методів дослідження якості донорської рогівки при застосуванні ізольованого корнео-склерального трансплантату?
3. Чим можна пояснити, що на ранніх етапах Ви не спостерігали відмінностей в досліджуваних групах?
4. Відзначали чи Ви вплив віку донорів і термінів забору матеріалу після смерті донора на якість донорського матеріалу?

9. Рекомендації щодо використання результатів дисертаційного дослідження в практиці.

Отримані дисертантом результати дисертаційної роботи можуть бути впроваджені у роботу стаціонарних офтальмологічних відділень, що мають право на трансплантологічну діяльність, 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, де планується офіційний захист.

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 НАПК за рахунок визначення додаткових діагностичних та прогностичних критеріїв якості рогівкового алотрансплантату на передтрансплантаційному 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 - офтальмологія.

Офіційний опонент:

Старший науковий співробітник
відділу патології рогівки ока ДУ
«Інститут очних хвороб і тканинної
терапії ім. В.П.Філатова НАМН
України», д.мед.н



Т. Б. Гайдамака

Справжнє підпису д.мед.н Гайдамаки Т.Б.
засвідчую

Вчений секретар
к.біол.н.



Гресюкова

Від чини надійшов до секретарки
наї ради Дзб. 613. 05 6. 05. 2019р
Вчений секретар президи
к.мед.н, доцент Ніла (Нє Лаврик)