

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, ведущего научного сотрудника отделения офтальмологии Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского» Рябцевой Аллы Алексеевны на диссертационную работу Колесникова Александра Вячеславовича «Свободнорадикальное окисление при разных типах патологии глаза и способы его коррекции», представленную на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 03.01.04 – биохимия, 14.01.07 – глазные болезни

### **Актуальность темы исследования**

Снижение остроты зрения является одной из наиболее важных и социально значимых проблем медицины. Возрастная катаракта, гнойная язва роговицы и острое нарушение кровообращения в сосудах сетчатки являются распространенными заболеваниями глаз, приводят к существенному снижению остроты зрения и, в ряде случаев, к инвалидизации пациентов.

При значительном количестве заболеваний и патологических состояний, в том числе имеющих социальную значимость, активно изучалась роль молекулярно-клеточных механизмов развития окислительного стресса, что привело с середины XX в. к расширению спектра заболеваний, которые стали связывать со свободными радикалами.

В литературе описана активация свободнорадикального окисления при развитии катаракты, гнойной язвы роговицы и нарушении кровоснабжения в сосудах сетчатки. Однако эффективность использования антиоксидантов при данных патологиях не доказана, методология их применения практически не разработана.

Исходя из этого, проблема изучения молекулярно-клеточных механизмов развития окислительного стресса в настоящее время является чрезвычайно перспективной для медицинской науки в целом. При этом в современной офтальмологии и биохимии детальное исследование состояния свободнорадикального статуса тканей глаза при развитии типичных патологических процессов – дегенеративно-дистрофического, воспалительного и дисциркуляторного – на моделях заболеваний глаза – катаракты, гнойной язвы роговицы, острой окклюзии сосудов сетчатки – является актуальным и имеет бесспорную научную значимость, а разработка обоснованной тактики применения разных видов антиоксидантных соединений в соответствии с особенностями патогенеза изучаемых патологий и дифференцированное назначение антиоксидантов определяет высокую практическую направленность представленной диссертационной работы, что особенно важно для персонализированной диагностики, профилактики и лечения заболеваний.

Реализация цели исследования проводилась посредством определения эффективности и безопасности 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенола, 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенола, этилового эфира N-фенилацетил-L-пролилглицина, свободнорадикального статуса и аминокислотного состава сетчатки при экспериментальной катаракте, гнойной язве роговицы, остром экспериментальном тромбозе магистральных сосудов сетчатки.

### **Новизна исследования и полученных результатов диссертации**

Новизна диссертационного исследования подтверждается тем, что в ходе работы изучена активность и установлен патологический характер окислительного стресса при разных видах патологии глаза: катаракте, гнойной язве роговицы и тромбозе сосудов сетчатки.

Выявлена эффективная и безопасная для ткани хрусталика антиоксидантная доза 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенола при инстилляции в конъюнктивальную полость в эксперименте на здоровых кроликах.

Впервые доказана антиоксидантная и терапевтическая эффективность местного применения 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенола в концентрациях 0,22% и 2,2% при экспериментальной дикват дибромид индуцированной катаракте, превосходящая препараты сравнения – «Офтан Катахром» и масляный раствор  $\alpha$ -токоферола ацетата по результатам сопоставления формирования морфологических признаков развития заболевания с изменениями показателей свободнорадикального статуса изучаемой ткани.

Автором впервые был показан патологический характер активации свободнорадикального окисления в заинтересованных тканях при развитии катаракты, стафилококковой язвы роговицы и острой окклюзии магистральных ретинальных сосудов.

Впервые была разработана оптимальная схема местного применения водного раствора лактоферрина в комбинации с ципрофлоксацином при экспериментальной гнойной язве роговицы.

Автором была разработана экспериментальная модель острой окклюзии (интравазального тромбоза) магистральных ретинальных сосудов, а также доказано, что применение этилового эфира N-фенилацетил-L-пролилглицина при экспериментальном тромбозе сосудов сетчатки оказывает антиоксидантное действие, улучшает функциональное состояние нейронов, нормализует концентрацию глутамата, аспартата, ГАМК и глицина, обладает протекторным эффектом в отношении гистологической структуры сетчатки.

Диссертационное исследование имеет высокую степень научной новизны.

**Значимость для науки и практики полученных результатов**

Научная и практическая значимость диссертационного исследования подтверждается тем, что полученные результаты позволяют рекомендовать изученные соединения (2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенол, лактоферрин и этиловый эфир N-фенилацетил-L-пролилглицина) для разработки лекарственных препаратов и тестирования в клинической практике. Доказана антиоксидантная и терапевтическая эффективность применения 2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенола при терапии дикват дибромид индуцированной катаракты, лактоферрина – при стафилококковой гнойной язве роговицы, этилового эфира N-фенилацетил-L-пролилглицина – при тромбозе сосудов сетчатки. Стоит отметить, что протестированные вещества по биологическим эффектам не уступали препаратам сравнения (лактоферрин – ципрофлоксацину) или даже их превосходили (2,6-ди-*трет*-бутил-4-метилфенол – «Офтан Катахром» и  $\alpha$ -токоферола ацетат; этиловый эфир N-фенилацетил-L-пролилглицина – пирацетам).

На основании полученных результатов и особенностей патогенеза заболеваний для достижения высокого терапевтического результата и коррекции окислительного стресса подобраны вещества в эффективных и безопасных дозах, обладающие антиоксидантной активностью.

Данные, полученные в диссертационном исследовании, представляют интерес для широкого круга специалистов: физиологов, патофизиологов, офтальмологов, биохимиков и могут быть рекомендованы для использования в работе научно-исследовательских центров и лабораторий, занимающихся проблемой офтальмогенетики. Полученные автором результаты существенно расширяют представления о патогенезе заболеваний хрусталика, роговицы и сетчатки, могут использоваться в педагогической деятельности теоретических и клинических кафедр медицинских ВУЗов.

---

## **Обоснованность и достоверность основных положений, результатов и выводов диссертации**

Диссертационная работа Колесникова А.В. выполнена на высоком методическом уровне, написана грамотным научным языком и имеет глубокую научную и практическую значимость. Выбранный дизайн исследования обеспечивает комплексный подход к изучению патологических процессов: работа выполнена с применением биохимических, клинических, морфологических, микробиологических и электрофизиологических методов исследования. Степень достоверности полученных результатов исследования определяется достаточным и репрезентативным объемом экспериментального материала, постановкой корректной цели и задач исследования, использованием современного сертифицированного офтальмологического оборудования.

В качестве тест-системы в исследованиях использовали 431 кролика самца породы Шиншилла, массой 3500-4000 г, в возрасте 10-13 месяцев. Работу с животными проводили в соответствии с международными правилами (Директива 86/609/ЕЕС) и правилами надлежащей лабораторной практики (приказ МЗ РФ №199н от 01.04.16).

Для определения свободнорадикального статуса исследуемых тканей оценивали концентрацию МДА (Гаврилова В.Б., Гаврилова А.Р., Мазул Л.М., 1987), содержание GSH (Ellman G.L., 1959), активность GPx (Ланкин В.З., Гуревич С.М., 1976; Paglia D.E., Valentine W.N., 1967), GT (Keen J.N., Iakoby W.B., 1978) и SOD (Костюк В.А. и др., 1990).

Полученные результаты обрабатывали с помощью программы «StatSoft Statistica 13.0» и Microsoft Excel (Реброва О.Ю., 2002). Распределение данных определяли по критерию Шапиро-Уилка. В независимых выборках при нормальном распределении данных статистическую значимость различий

оценивали дисперсионным анализом (ANOVA), парные сравнения осуществляли по критерию Ньюмена-Кейлса. При распределении данных, отличном от нормального, статистическую значимость различий оценивали по критерию Крускала-Уоллиса. При наличии статистической значимости, парные сравнения выполняли по критерию Манна-Уитни с поправкой Бонферрони. В связанных выборках при нормальном распределении данных достоверность различий оценивали дисперсионным анализом повторных измерений (ANOVA), парные сравнения выполняли по критерию Ньюмена-Кейлса. При ненормальном распределении достоверность различий оценивали с помощью критерия Фридмана, парные сравнения выполняли по критерию Вилкоксона с поправкой Бонферрони. Данные представлены в виде среднего арифметического и его стандартного отклонения – при нормальном распределении или в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей – при распределении, отличном от нормального.

Использованные экспериментальные методики способны реализовать поставленные цель и задачи диссертационного исследования. Выводы обоснованы, логично вытекают из полученных результатов, соответствуют целям и задачам научной работы.

Таким образом, четко спланированный поэтапный дизайн исследования и использование адекватных научных методов позволили решить поставленные задачи на высоком научно-практическом уровне.

---

### **Общая оценка использованных методов, содержания и оформления диссертации**

Диссертационная работа оформлена в соответствии с требованиями ВАК Минобрнауки России, изложена на 246 страницах компьютерного текста,

иллюстрирована 59 рисунками и 25 таблицами. Список литературы включает 86 источников отечественной и 192 – зарубежной литературы.

Диссертация имеет «классическую» структуру – состоит из введения, обзора литературы, результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы.

Во введении представлены обоснование и актуальность темы диссертационного исследования, степень разработанности проблемы, сформулированы цели и задачи исследования, обозначена научная новизна, теоретическая и практическая значимость результатов исследования. перечислены положения, выносимые на защиту, степень достоверности, апробация результатов, внедрение результатов исследования, и личный вклад автора. Выбранный дизайн исследования обеспечивает комплексный подход к изучению патологических процессов: работа выполнена с применением биохимических, клинических, морфологических, микробиологических и электрофизиологических методов исследования.

В обзоре литературы диссертант подробно описывает современное состояние изучаемой проблемы, аргументирует актуальность исследования роли и методов коррекции окислительного стресса в развитии катаракты, стафилококковой язвы роговицы и тромбозе сосудов сетчатки.

Во второй главе автор детально описывает материалы и методы исследования, преподносит схемы организации эксперимента, характеризует объекты экспериментов, обосновывает используемые дозы веществ, методы статистического анализа.

В третьей главе представлены результаты собственных исследований, где диссертант подробно анализирует развитие окислительного стресса в заинтересованных тканях при изучаемых патологиях, а также оценивает возможность его коррекции в зависимости от типа патологического процесса и механизмов развития окислительного стресса.

---

В главе «Обсуждение полученных результатов» диссертантом проведен глубокий анализ и сопоставление полученных результатов с современными данными отечественных и зарубежных исследователей.

Диссертация завершается 10 выводами, которые полностью соответствуют цели и задачам выполненной работы. Выводы и практические рекомендации логичны и в полном объеме отражают суть работы. Работа производит положительное впечатление. Ее достоинством является наглядность представления результатов исследования, что позволяет составить полноценное мнение о масштабности проделанного исследования.

Автореферат полностью отражает все разделы и положения диссертации, резюмирует полученные результаты.

Материалы исследования представлены на конференциях различного уровня. По материалам диссертации опубликовано 66 печатных работ, в том числе 14 в рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК Минобрнауки России и 5 статей – в журналах, индексируемых в международных базах данных Scopus и Web of Science. По теме диссертации оформлено 3 рацпредложения, получено 2 патента на изобретение Российской Федерации.

Основные положения работы могут использоваться в учебном процессе в медицинских вузах при обучении студентов, клинических ординаторов на кафедре глазных болезней, фармакологии и биологической химии.

### **Замечания по диссертационной работе**

Принципиальных замечаний по выполненной диссертационной работе нет. Работа включила уникальные результаты комплексного экспериментального исследования, продумана, выстроена логично, дает ответы на возникающие в ходе изучения диссертации и автореферата вопросы.

Однако при ознакомлении с диссертацией возникло несколько вопросов

---



1.Насколько конкурентно медикаментозное лечение катаракты в сравнении с хирургическими методами лечения?

2. Какие воспалительные процессы поверхности глаза могут подходить для применения разработанной Вами схемы применения лактоферрина?

3.Возможно ли считать полученные Вами результаты нейропротекторной терапии перспективным направлением для исследования эффективности ноопепта при других дисциркуляторных заболеваниях органа зрения?

Вместе с тем указанные вопросы не снижают научной и практической значимости рецензируемой работы.

### **Заключение**

Диссертационная работа Колесникова Александра Вячеславовича на тему «Свободнорадикальное окисление при разных типах патологии глаза и способы его коррекции» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как решение научной проблемы - применение с терапевтической целью веществ с антиоксидантной активностью для лечения различных типов офтальмологической патологии (дегенеративно-дистрофическая, воспалительная или дисциркуляторная), что имеет важное научно-практическое значение для биохимии и офтальмологии. По своей актуальности, новизне, научно-практической значимости диссертация Колесникова Александра Вячеславовича на тему «Свободнорадикальное окисление при разных типах патологии глаза и способы его коррекции» соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук согласно п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней»,


утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в редакции Постановлений Правительства РФ от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168), а ее автор Колесников Александр Вячеславович достоин присуждения искомой ученой степени доктора медицинских наук по специальностям 03.01.04 – биохимия, 14.01.07 – глазные болезни.

---


**Официальный оппонент:**

Согласен на обработку персональных данных

Ведущий научный сотрудник отделения офтальмологии  
профессор кафедры офтальмологии и оптометрии  
ФУВ ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского  
доктор медицинских наук, профессор  
Специальность: 14.01.07 – «глазные болезни»  
«17 » сентября 2021 г.

  
А.А. Рябцева

Подпись профессора А.А. Рябцевой «Заверяю»  
Ученый секретарь  
ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского»  
доктор медицинских наук, профессор

  
Н.Ф. Берестень

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области  
«Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф.  
Владимирского», отделение офтальмологии  
129110, г. Москва, ул. Щепкина, 61/2  
Тел. +7 (495) 681-31-13 e-mail: moniki\_glaz@rambler.ru  
web-сайт: <http://www.monikiweb.ru>