

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора ветеринарных наук, профессора кафедры Управления АПК и сельскими территориями ФГБОУ ДПО «Российская академия кадрового обеспечения агропромышленного комплекса» Концевой Светланы Юрьевны на диссертационную работу Гончаровой Анны Витальевны на тему «Клинико-офтальмическое обоснование диагностики, патогенеза и способов лечения лошадей с первичными и вторичными кератопатиями», представленную к защите на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук в диссертационный совет Д 220.059.05 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургская государственная ветеринарная медицина» по специальности 06.02.04 – Ветеринарная хирургия.

1. Актуальность темы исследования

По данным отечественных и зарубежных ученых (Brooks, D.E., 1999; Monk, C.S., Jeong, S.Y., Gibson, D.J., Plummer, C., 2017; Gilger, B.C., 2017; Knickelbein, K., 2017; Стекольников, А.А., Сотникова, Л.Ф., 2017; Джелатт, К.Н., Пламмер, К.Э., 2019), среди заболеваний глаз у лошадей наиболее часто встречаются кератопатии, которые сопровождающиеся поражением одного или нескольких слоев роговицы. Полиэтиологичность кератопатий, роль системных механизмов и воздействие внешней среды (неправильная эксплуатация и кормление) в развитии и течении кератопатий определяют комплексный характер и сложность проблемы. Несмотря на распространение патологии у лошадей до сих пор не определены распространение, факторы этиологического риска и развития осложнений, и связанных с ними образованиями передних синехий, субатрофией, геморрагическим увеитом в раннем периоде заболевания, и развитием вялотекущих торпидных форм хронического воспаления.

Основной задачей лечения кератопатий является сокращение периода лечения, минимизация осложнений, таких как перфорация роговицы,

иридоциклит и кератомалация, а также восстановление оптических свойств роговой оболочки глаза. В связи с этим, важным представляется поиск новых способов терапии патологических изменений роговицы у лошадей, связанных с нарушением прочностных свойств роговицы от которых зависит состояние волокон стромального коллагена, межколлагеновых связей и их структурная организация. Одним из таких способов является процедура кросслинкинга роговичного коллагена (КЛРК), основанного на сшивании коллагеновых волокон под воздействием фотосенсибилизирующего вещества рибофлавин (Berman, M.B., 1975; Spoerl, E., Wollensak, G., Seiler, T., 2004; Dana, R., 2005; Gilger, B., 2008; Иомдина, Е.Н., Сотникова, Л.Ф., 2019). Таким образом, избранное направление исследования является актуальным направлением ветеринарной офтальмологии.

2. Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научная новизна диссертационной работы Гончаровой Анны Витальевны заключается в разработке научной концепции патогенеза, способов диагностики и лечения первичных и вторичных кератопатий у лошадей. Автором установлен комплекс факторов, позволяющий обосновать две клинические формы, основанные на состоянии физиологических барьеров глазного яблока: первичная форма течения – первичный язвенный кератит, кератолизис, абсцесс роговицы, возникающая на фоне травматизации роговицы и последующей прогрессии за счет размножения патогенной микрофлоры, и, вторичная форма течения – вторичная язва роговицы, буллезная кератопатия, неязвенный кератоувеит, краевой сосудистый кератит, инициируемая окислительным стрессом и разрушением физиологических барьеров глазного яблока, что вызывает деструктивные изменения роговицы и запуск патологического процесса.

Исследованиями, проведенными Гончаровой Анной Витальевной выявлено, что вариации клинических признаков определялись тяжестью течения, характером микрофлоры и коррелировали с цитоморфологическими изменениями в мазках-отпечатках. Характер микрофлоры определил полиморфизм клинических признаков, патоморфологические изменения и особенности репаративной регенерации роговицы. Впервые, на основе систематизации клинических форм течения кератопатий, определены целесообразные диагностические критерии и клинические факторы риска развития слепоты у животных, к которым отнесены: десцеметоцеле, перфорация роговицы, геморрагический иридоциклит, передние синехии, паноптальмит – при первичной форме и, кальцификацию роговицы, пигментацию, гиполакримию, субатрофию глазного яблока, рецидивирующее течение при вторичной форме. При отдаленных исследованиях (более 10 лет) впервые обнаружено поражение заднего отдела увеального тракта с вовлечением в патологический процесс хрусталика и стекловидного тела при вторичных формах кератопатий.

Автором показана эффективность применения бактериофагового препарата, что позволяет купировать острый процесс в короткие сроки (3-5 дней), контролировать процесс кератомалиции и вовлечение в патологический процесс всей площади роговицы. Разработаны и получены патенты (№ 2707792, 2019 г.; № 199825, 2020 г.) на способы и устройства для лечения осложнений вирусных и бактериальных кератоконъюнктивитов у животных с использованием локального коллагенового кросслинкинга и лечения язвенных кератитов у лошадей препаратом из коктейля бактериофагов.

3. Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Теоретическая и практическая значимость работы диссертационной работы Гончаровой Анны Витальевны заключается в научно-обоснованном

подходе к оценке форм течения кератопатий, базирующийся на подробном анализе факторов риска возникновения и развития заболеваний, выявленных особенностей клинического течения, патогенеза и патоморфоза. Автором показано, что характер выделяемой микрофлоры из конъюнктивальной полости во многом определяет течение патологического процесса и его прогноз. Усовершенствован алгоритм клинической оценки органа зрения с применением функциональных тестов с использованием витальных красителей, щелевой биомикроскопии, офтальмоскопии, микробиологического и цитоморфологического исследования мазков-отпечатков с поверхности поврежденной роговицы.

В результате проведенных исследований показано, что использование кросслинкинга роговичного коллагена позволяет в кратчайшие сроки получить положительные результаты при лечении язвенного кератита, кератолизиса, буллезной кератопатии. Доказано, что кросслинкинг предотвращает распространение патологического процесса, минимизирует поствоспалительное рубцовое изменение роговицы, является эффективным и неинвазивным способом лечения.

Полученные в результате исследований данные способствуют расширению и углублению уже имеющихся сведений об этиологии, патогенезе, симптоматике и лечении первичных и вторичных кератопатий у лошадей. Результаты диссертационного исследования вошли в учебники для вузов «Ветеринарная офтальмология» (2017 г.), «Болезни глаз животных» (2020 г.), монографию «Практическое руководство по клинической офтальмологии лошадей» (2021 г.). Основные положения и результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс профильных аграрных вузов России, отмечены Золотой медалью XX Российской агропромышленной выставки «Золотая осень» за «За инновационные разработки в области ветеринарии» (Москва, 2018), а также дипломами международных научных конференций.

4. Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений

В основе работы лежит анализ результатов комплексных исследований, проведенных в период с 2011 года по 2021 годы на базе кафедры общей и частной хирургии имени К.И. Шакалова ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», конноспортивных комплексах и клубах Москвы, Московской области, Ленинградской области, Краснодарского края, Ставропольского края, Ленинградской и Калужской областей. Исследование общей антиоксидантной активности проведены в отделе сигнальных систем клетки МГУ имени М. И. Ломоносова. Работа основана на анализе результатов изучения 188 лошадей разных породных, половых групп с клиническими признаками воспаления роговицы, направление использования животных – спортивное, что подтверждено 235 фотографиями с результатами клинического осмотра и лечения болезней глаз лошадей.

Автор осуществила комплексное офтальмологическое обследование, включающее: общепринятые клинические, гематологические цитоморфологические, бактериологические исследования, биохимические исследования слезной жидкости, инструментальные, функциональные методов исследования с использованием современного диагностического оборудования и препаратов.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, определяется глубиной изучения теоретических вопросов диагностики, патогенеза и способов лечения первичных и вторичных кератопатий у лошадей, представленных в обзоре отечественной (22 источника) и зарубежной (137 источников) литературы.

Научная значимость диссертационной работы заключается в получении новых научных данных позволяющих систематизировать и классифицировать заболевания роговицы на первичные, возникающие в результате травмы роговицы и последующего размножения патогенной микрофлоры, и, вторичные, индуцированные разрушением физиологических барьеров глазного яблока. Расширено понимание этиопатогенеза кератопатий у лошадей и усовершенствована диагностика заболеваний конъюнктивы и роговицы. Автором разработано лечение, которое позволило минимизировать возможные осложнения, увеличить период ремиссии заболеваний, а также сократить сроки лечения.

Основные материалы диссертации апробированы на международных научно-практических конференциях.

Научные положения, изложенные в диссертационной работе Гончаровой Анны Витальевны, соответствуют паспорту специализации 06.02.04 – Ветеринарная хирургия по следующим пунктам:

2. Изучение общих и специфических признаков хирургических заболеваний;

4. Исследование процессов воспаления, регенерации, трансплантации и выздоровления;

7. Разработка методов и обобщение опыта профилактики и лечения хирургических болезней;

10. Изучение клинических, гематологических, морфологических и физиологических показателей, объективно характеризующих общее состояние организма при патологиях.

Диссертация Гончаровой Анны Витальевны отвечает требованиям ГОСТ Р 7.0.11-2011 «Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Диссертация и автореферат диссертации. Структура и правила оформления» и требованиям ВАК Минобрнауки РФ в части главы II

«Критерии, которым должны отвечать диссертации на соискание ученых степеней», предъявляемым к кандидатским диссертациям, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г., № 842.

Во *введении* обоснована актуальность диссертационной работы, сформулирована цель и определены задачи для ее достижения, аргументирована научная новизна, теоретическая и практическая значимость полученных результатов исследований, представлены основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности результатов работы, сведений по проведенной апробации, включая перечень печатных публикаций по теме исследований.

Первая глава представляет собой «Обзор литературы» на основе анализа результатов исследования отечественных и зарубежных научных трудов в области болезней глаз лошадей, проанализированы аспекты этиологии, патогенеза, диагностики и лечения кератопатий у лошадей, а также факторы риска возникновения и развития первичных и вторичных кератопатий у лошадей.

Во *второй главе* «Материалы и методы исследований» диссертант определила структуру и объем исследований, привела информацию об объектах и методах исследований, контролируемых показателях комплексного подхода, включающего: анамнестические данные, результаты клинического осмотра, гематологические, цитоморфологические и бактериологические исследования биологического материала от больных лошадей, биохимические исследования слезной жидкости, а также алгоритм клинического исследования органа зрения высокоинформативными методами дифференциальной диагностики с применением теста Ширмера, пробы по Норну, использованием витальных красителей, щелевой биомикроскопии, офтальмоскопии, микробиологического и цитоморфологического исследования мазков-отпечатков.

Третья глава «Результаты собственных исследований и их обсуждение» состоит из следующих разделов, в которых определены следующие сведения и доказательства:

«Распространение и факторы риска возникновения и развития кератопатий у лошадей», где автором показано, что заболеванию глаз подвержены лошади не зависимо от пола, породы и масти, а в основе классификации кератопатий у лошадей лежат механизмы индукции воспалительного процесса, которые способствуют нарушению целостности роговицы, снижению функции физиологических барьеров переднего отрезка глаза и нарушение обменных процессов в роговице. Последнее ведет к возникновению вторичной язвы роговицы, краевого сосудистого кератита, неязвенного кератоувеита и буллезной кератопатии. Автор указывает, что в развитии этих заболеваний лежат факторы, способствующие иммунодепрессивному состоянию организма лошади (транспортировка, вакцинация, наличие сопутствующих заболеваний, интенсивный тренинг) и прогрессированию вторичных кератопатий.

В разделе *«Клиническая картина кератопатий у лошадей»*, Гончаровой А.В. определены две клинические формы кератопатий лошадей, основанные на состоянии физиологических барьеров глазного яблока. Автором установлено, что клиническое проявление кератопатий характеризуется значительным полиморфизмом и зависит от этиологического фактора, состояния физиологических барьеров переднего отрезка глазного яблока, наличия сопутствующих заболеваний или других индукторных факторов. В диссертации указывается, что репаративная регенерация переднего отрезка глазного яблока зависит от характеристики физиологических барьеров глаза. Объективными диагностическими признаками первичной формы течения автор считает: острое воспаление переднего отрезка глаза, нарушение целостности роговицы, вовлечение в воспалительный процесс радужной оболочки. Осложнением язвенного кератита указаны стромальный абсцесс и кератолизис, а целесообразными

диагностическими критериями и клиническими факторами риска развития слепоты автор считает: десцеметоцеле, перфорация роговицы, геморрагический иридоциклит, передние синехии, панофтальмит. Диагностическими клиническими признаками вторичной формы течения кератопатий укаваны: подострое или хроническое течение воспаления, являющееся следствием разрушения конъюнктивального, слезного, эпителиального и эндотелиального барьеров. Как диагностические критерии и клинические факторы риска развития слепоты в этом случае автором указаны: гиполакримия, кальцификация, пигментация роговицы, субатрофия глазного яблока, в случае рецидивирующего течения (отдаленные наблюдения более 10 лет) – поражение заднего отдела увеального тракта с вовлечением в патологический процесс хрусталика (капсулярная катаракта) и стекловидного тела (деструкция).

В разделе *«Гематологические показатели у лошадей с первичными и вторичными кератопатиями»*, автор отмечает, что отклонений биохимических показателей сыворотки крови у лошадей с первичными формами кератопатий от показателей у животных контрольной группы выявлены не были. При вторичных формах кератопатий было установлено повышение печеночных трансаминаз.

Проведенный автором в разделе *«Результаты бактериологического исследования конъюнктивального содержимого лошадей с первичными и вторичными кератопатиями»* сравнительный анализ микробного пейзажа конъюнктивальной полости и поверхности роговицы у здоровых (контрольных) животных и лошадей, больных клинически разными формами кератопатий позволил установить корреляцию между формой течения кератопатий и микробной популяцией, а также определить факторы, влияющие на кератопатогенность микроорганизмов.

В разделе *«Цитоморфологическая характеристика первичных и вторичных форм кератопатий у лошадей»* Гончаровой А.В. выявлены цитоморфологические изменения в мазках–отпечатках с поверхности

роговицы, которые полностью соответствуют клинической картине и являются морфологическим эквивалентом формы течения заболевания.

В разделе *«Значение местных окислительных реакций в патогенезе кератопатий у лошадей и разработка клинико-биохимических критериев прогноза»* автором определено, что фактором риска возникновения и развития вторичных форм кератопатий является изменение биохимических свойств слезной жидкости. Полученные в результате исследования данные расширили понимание патогенеза кератопатий и позволили автору предположить, что при первичных формах кератопатий повышение антиоксидантной активности является защитным механизмом, а при вторичных формах кератопатий – определяющим звеном патогенеза.

В разделе *«Концепция патогенеза первичных и вторичных кератопатий у лошадей»* представлена концепция, что заболевание является рецидивирующим и периоды длительной ремиссии достигаются только путем комплексной терапии (транsepителиальный кросслинкинг роговичного коллагена в сочетании инстилляцией капель). Автор предполагает, что при терапии заболевания происходит уплотнение коллагена стромы и нормализация окислительно-восстановительных процессов в роговице. За счет дегидратации стромы роговица восстанавливает свою толщину и прозрачность.

В разделе *«Лечение кератопатий у лошадей»*, показаны разработанные автором схемы лечения кератопатий у лошадей с учетом этиологического фактора, течения воспалительного процесса, данных функциональных тестов, значений антиоксидантной активности слезы, а также клинического статуса больных животных.

В разделе *«Использование кросслинкинга роговичного коллагена для лечения кератопатий у лошадей»* Гончаровой А.В. подтвержден положительный терапевтический эффект при использовании модифицированного кросслинкинга у животных с различными видами кератопатий. Автор считает, что у лошадей опытных групп с первичными и

вторичными кератопатиями включение в алгоритм лечения локального кросслинкинга роговицы уже после первой процедуры тормозило процесс протеолиза, способствовало заживлению роговицы без формирования новообразованных сосудов, уплотнению ткани стромы с восстановлением прозрачности роговицы и значительно сокращало сроки лечения.

В разделе *«Использование коктейлей бактериофагов для лечения кератопатий у лошадей»* автором показано, что для лечения первичных кератопатий необходимо проводить терапию антибиотиками с учетом чувствительности микрофлоры, выделенной из конъюнктивальной полости больной лошади. В случае отсутствия чувствительности или низкой чувствительности микрофлоры, автор рекомендует замену в схеме лечения антибиотиков и нестероидных противовоспалительных средств коктейлем бактериофагов «Офтальмофаг», что позволяет достичь купирования острого процесса в короткие сроки (3-5 дней) и восстановить целостность роговицы путем заживления через вторичное натяжение. Автор считает, что полученные данные свидетельствуют о перспективности применения бактериофагового препарата для лечения травм переднего отрезка глаза.

В разделе *«Использование кросслинкинга роговичного коллагена для лечения кератопатий у лошадей»* дана сравнительная оценка эффективности лечения лошадей с кератопатиями с применением кросслинкинга роговичного коллагена и традиционной схемы. Автором показано, что включение в алгоритм лечения локального кросслинкинга роговицы уже после первой процедуры тормозило процесс протеолиза, способствовало заживлению роговицы без формирования новообразованных сосудов, уплотнению ткани стромы с восстановлением прозрачности роговицы. При этом применение кросслинкинга роговичного коллагена позволило значительно сократить срок лечения.

В разделе *«Ближайшие и отдаленные результаты лечения»* автором определены исходы кератопатий, которые напрямую зависят от

индуцирующего фактора, глубины и обширности патологического процесса, развившихся осложнений, а также тактики лечения.

«Заключение» содержит 11 выводов, в которых представлены все разделы диссертационной работы в обобщенном виде. Представлена оценка достоверности полученных результатов, проведена аналогия с результатами других ученых. В виде 6 пунктов даны рекомендации для практического использования результатов проведенных Гончаровой А.В. исследований. Определены перспективы дальнейшей работы, связанные с темой диссертации, которые будут направлены на изучение концентрации ферментов, обеспечивающих антиоксидантную защиту слезной жидкости (супероксиддисмутазы, глутатион-s-трансферазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы) при первичных и вторичных кератопатиях у лошадей.

Список использованной литературы представлен 159 источниками литературы, из них 137 - источников иностранной литературы.

5. Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертации Гончаровой Анны Витальевны изложен на 39 печатных страницах, оформлен методически верно, содержит все разделы и подразделы диссертации и раскрывает ее основные положения. Выводы и практические предложения в автореферате и диссертации идентичны. Диссертация и автореферат соответствуют критериям «Положения о присуждении ученых степеней».

6. Подтверждения опубликованных основных результатов диссертации в научной печати

Результаты исследования представлены в 48 научных публикациях, в том числе 19 – в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ по специальности 06.02.04 – Ветеринарная хирургия, 3 – в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus, 3 патента на изобретения, 1 –

монография, 3 – методических рекомендаций. Основные материалы диссертационной работы обсуждались на научных конференциях разного уровня, заслушивались на заседаниях кафедр. Автореферат и тематика опубликованных работ отражают основные результаты исследований.

7. Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом, замечания по оформлению

Представленная к оппонированию диссертация Гончаровой Анны Витальевны является завершенной научно-квалификационной работой. Текст диссертации изложен на 362 страницах машинописного текста, иллюстрирован 258 рисунками и 65 таблицей, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов собственных исследований и их обсуждение, заключения, рекомендаций по использованию результатов исследования, перспектив разработки темы исследования, списка использованной литературы.

8. Замечания и вопросы по диссертации

Оценивая диссертационную работу Гончаровой Анны Витальевны в целом положительно, предлагаю в рамках научной дискуссии следующие вопросы:

1. Как основное положение на защиту Вами вынесен алгоритм клинического исследования органа зрения с применением теста Ширмера, пробы по Норну, флюоресцеинового теста, целевой биомикроскопии, микробиологического и цитоморфологического исследования? В чем особенность предложенного Вами алгоритма?
2. Почему Вы считаете, что системное использование нестероидных противовоспалительных препаратов является распространенной ошибкой, а применение кератопротекторов способствует удержанию инфекции в роговице?

3. Список изученной литературы в диссертации представлен всего 22 источниками отечественной литературы и 137 источниками иностранной литературы. С чем Вы связываете малый интерес изучения вопросов кератопатий у лошадей в России?
4. Что Вы понимаете кератопатогенностью микроорганизмов?
5. С чем Вы связываете эффективное ингибирование протеолиза роговицы в схеме лечения лошадей с кератолизисом?
6. Какие перспективы Вы видите в изучении патогенетических механизмов белковых маркеров воспалительных реакций поверхности глаза?

**9. Заключение о соответствии диссертации критериям,
установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней**

Диссертационная работа относится к прикладным научным исследованиям с выраженной практической направленностью. Автором было проведено специальное научное исследование, направленное на разработку научно-обоснованного подхода к диагностике, клинико-офтальмической характеристике и лечению кератопатий у лошадей.

Все вышеизложенное позволяет заключить, что по своему уровню, совокупности проведенных исследований, научной и практической значимости, новизне, достоверности полученных результатов диссертационная работа Гончаровой Анны Витальевны, является научной квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной проблемы лечения болезней глаз у животных.

По своему содержанию, объему, актуальности, теоретической и практической значимости диссертационная работа Гончаровой Анны Витальевны соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым

к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а её автор – Гончарова Анна Витальевна заслуживает присуждения учёной степени доктора ветеринарных наук по специальности 06.02.04 – Ветеринарная хирургия.

Доктор ветеринарных наук, профессор,
профессор кафедры Управления АПК и
сельскими территориями ФГБОУ ДПО
"Российская академия кадрового
обеспечения агропромышленного
комплекса"

Концевая Светлана Юрьевна

С. Концевая 12.11.2021г.

Заручилась *С.Ю. Концевая*
заверяю

Виза Р

ФГБОУ ДПО РАКО АПК

С.Ю. Концевая



В.Г. Лобин

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
дополнительного профессионального образования «Российская академия
кадрового обеспечения агропромышленного комплекса» (ФГБОУ ДПО
РАКО АПК)

11622, г. Москва, ул. Оренбургская, д.15Б, Телефон/Факс: +7 (495) 700-0669,
e-mail: rako-apk@mail.ru