

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук Тюлиной Вероники Валерьевны на тему: «Окислительный стресс при синдроме сухого глаза, вызванный нарушением мигательного рефлекса» по специальности 1.5.5. Физиология человека и животных

Ещё сравнительно недавно важнейшим независимым фактором риска синдрома сухого глаза (ССГ) считалось старение. Действительно, эпидемиологические исследования показывают, что начиная с 50 лет распространенность ССГ неуклонно растёт, но в последние годы возрастные границы заболевания существенно раздвинулись на фоне тотального охвата населения различными электронными устройствами. Оказалось, что развитию ССГ может способствовать как их использование, так и другие факторы, включая некоторые лекарственные препараты, использование линз и др. Ключевым патогенетическим звеном для части из них является нарушение физиологии моргания, которое проявляется изменением динамики паттернов мигательного рефлекса, что способствует хроническому воспалению эпителия роговицы и конъюнктивы на фоне нарушения гомеостаза слезной пленки. Как центральные факторы повреждения поверхности глаза при ССГ рассматриваются окислительный стресс и воспаление, однако механизмы, лежащие в основе этих событий, как и их последовательность, остаются до конца не ясными. В этой связи актуальность исследования В.В. Тюлиной, направленного на выяснение механизмов развития окислительного стресса и его роли в повреждении структур глаза при вызванном нарушении мигательного рефлекса ССГ и поиск подходов к его профилактике, сомнений не вызывает.

Научная новизна и значимость исследования

Очевидным достижением В.В. Тюлиной явилось создание экспериментальной модели, имитирующей нарушение паттернов мигательного рефлекса и развитие ССГ у людей во время использования

цифровых экранов. На этой оригинальной модели автором впервые получены прямые доказательства того, что нарушение мигательного рефлекса приводит к развитию окислительного стресса – последовательному снижению в слезной жидкости содержания низкомолекулярных антиоксидантов, накоплению продуктов перекисного окисления липидов и провоспалительных оксилипинов, воспалению, активации ММП-9, нарушению барьерной функции эпителия роговицы. Автором доказано, что центральную роль в развитии воспаления глазной поверхности при ССГ играют продукты липоксигеназного пути метаболизма арахидоновой и линолевой кислот, а источником провоспалительных оксилипинов являются липоксигеназы, что делает их перспективной мишенью для профилактики заболевания. Последнее подтвердила впервые показанная автором способность ингибитора липоксигеназы Зилеутона подавлять накопление провоспалительных оксилипинов, снижать выраженность воспаления и окислительного стресса и проявлять выраженный терапевтический эффект при ССГ, вызванном нарушением мигательного рефлекса.

Научно-практическое значение

Диссертационное исследование В.В. Тюлиной расширяет существующие представления о механизмах развития ССГ при нарушении рефлекса моргания. Разработанный ею метод количественного совместного определения полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) и оксилипинов в слёзной жидкости позволил впервые оценить состав метаболитов ПНЖК и их оксилипинов в слёзной жидкости кролика, продемонстрировать его сходство с физиологическим уровнем этих сигнальных липидных медиаторов в слёзной жидкости людей, подтвердив таким образом перспективность использования созданной В.В. Тюлиной модели для фундаментальных исследований механизмов развития ССГ и поиска новых терапевтических подходов к его профилактике и лечению. Несомненное научно-практическое значение имеет доказательство терапевтического потенциала диметилсульфоксида (ДМСО) – способность инстилляций разработанной автором растворимой формы

препарата подавлять процессы ПОЛ в слёзной жидкости и снижать клинические и морфологические проявления ССГ, ускорять процесс регенерации при восстановлении мигательного рефлекса. Очевидна также важность доказательства связи терапевтического потенциала митохондриального антиоксиданта SkQ1 с его способностью восстанавливать редокс-статус слезной жидкости и сохранять плотные межклеточные контакты в эпителии роговицы, подавляя воспаление и нормализуя работу матриксных протеиназ. Таким образом, очевидны как новизна, так и научная значимость диссертационной работы В.В. Тюлиной.

Апробация результатов

Результаты диссертационной работы В.В. Тюлиной полностью опубликованы в 11 научных статьях в специализированных высокорейтинговых журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus, доложены на многочисленных российских и международных конференциях. Все сформулированные в диссертации положения, выводы полностью базируются на результатах проведенных исследований.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертационная работа В.В. Тюлиной выглядит как хорошо спланированное многоплановое исследование. Она изложена на 120 страницах и содержит 25 рисунков и 5 таблиц. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и обсуждения, изложенных в 4 главах, а также заключения, выводов и списка литературы, содержащего 232 ссылки на первоисточники.

Во введении автор обосновала актуальность проблемы, обозначила степень разработанности темы исследования, сформулировала его цели и основные задачи, оценила научную новизну, теоретическую и практическую значимость результатов, сформулировала положения, выносимые на защиту. Из раздела о личном вкладе автора в исследование следует, что все основные

результаты были получены ею самостоятельно в течение 10 лет, что объясняет масштабы и фундаментальность диссертационной работы.

В обзоре литературы представлен подробный и всесторонний анализ современных представлений о физиологии глазной поверхности, функционирование которой обеспечивают анатомические структуры, участвующие в формировании и обновлении слёзной пленки, о взаимосвязях этих структур и вкладе их нарушений в развитие ССГ. В соответствии с целями исследования особое внимание в нём уделено анализу физико-химических свойств слёзной жидкости, физиологическим механизмам регуляции её состава, возможным причинам и следствиям его нарушений. Также подробно автор проанализировала имеющиеся в литературе данные об участии окислительного стресса в патогенезе ССГ, полученные в клинических исследованиях, в опытах на животных и экспериментах *in vitro*. Подробный анализ имеющихся в настоящее время биологических моделей заболевания позволил В.В. Тюлиной заключить, что на момент начала её исследования экспериментальной модели ССГ, вызванного нарушением мигательного рефлекса, не было.

Обзор хорошо структурирован, логически выстроен и написан грамотным и доступным языком. Его завершает обобщающее заключение, в котором автор делает акцент на нерешенных вопросах и дает обоснование актуальности своего исследования, формулирует рабочую гипотезу, согласно которой нарушение мигательного рефлекса вызывает снижение секреции липидных компонентов слёзной пленки, что ускоряет испарение водного слоя и в конечном итоге приводит к развитию окислительного стресса.

В Главе 2, содержащей экспериментальную часть, приведено подробное описание методов и подходов, которые автор применила для решения поставленных задач. Следует отметить их высокий научно-методологический уровень, широкий спектр использованных в работе физиологических, клинических, гистологических, биохимических, молекулярнобиологических и электрохимических методов исследования, масс-спектрометрии. Все методики,

использованные и оптимизированные в исследовании, детально прописаны и пояснены, что предоставляет возможность для воспроизведения экспериментов по приведенным протоколам. Полученные результаты обработаны с помощью адекватных статистических методов, информация о которых представлена.

Глава 3 посвящена подробному изложению результатов исследования. В ней представлены все детали разработки экспериментальной модели вызванного нарушением мигательного рефлекса ССГ с подробным описанием дизайна эксперимента и этапов его реализации. Автор показывает, как с помощью клинических тестов, патоморфологического анализа изменений поверхности роговицы и состава слёзной жидкости удалось подобрать оптимальную продолжительность нарушения мигательного рефлекса для развития ССГ и определить период, необходимый для восстановления глазной поверхности и лазной поверхности с изменением осмолярности слёзной жидкости и с увеличением в ней концентрации и активности матричной металлопротеазы ММП-9 на фоне снижения уровня её ингибитора ТИМП-1.

Следующие разделы главы посвящены доказательству связи вызванного нарушением мигательного рефлекса ССГ с нарушением окислительно-восстановительного баланса. Используя оригинальный подход, автор даёт развернутую характеристику комплекса низкомолекулярных и ферментативных антиоксидантов слёзной жидкости, их вклад в общую антиокислительную активность, оценивает уровень продуктов перекисного окисления липидов.

Далее автор приводит описание основных результатов анализа липидома слёзной жидкости кролика и его сравнению с таковых у людей, выполненным с помощью разработанного автором оригинального метода. Далее следует описание полученных этим методом результатов исследования изменений содержания полиненасыщенных жирных кислот и оксипинонов в слезе при ССГ. Обобщая полученные результаты, В.В. Тюлина предлагает возможный патофизиологический механизм развития ССГ, вызванного нарушением мигательного рефлекса, ключевым патогенетическими факторами которого

становится окислительное повреждение липидного слоя слёзной пленки и повреждение клеток и межклеточных контактов эпителия роговицы. Закономерно, что при выборе экспериментальной терапии вызванного нарушением мигательного рефлекса ССГ автор останавливает свой выбор на антиоксидантах. В разделе 3.2 представлены результаты оценки терапевтической эффективности и механизмов действия инстилляций аскорбиновой кислоты, ДМСО, ингибитора липоксигеназ Зилеутона в комплексе с ДМСО, использованным для повышения растворимости, а также митохондриального антиоксиданта SkQ1, который уже применяется в терапии сухого глаза.

Обсуждение полученных результатов В.В. Тюлина начинает по существу ещё одним обоснованием актуальности исследования, которое более уместно в заключении обзора литературы. Далее она проводит детальный анализ полученных результатов, дает их трактовку, сопоставляет с литературными данными и приводит развёрнутую картину развития событий при ССГ, вызванном нарушением мигательного рефлекса. Также подробно автор сопоставляет и анализирует выявленные в исследовании эффекты антиоксидантной терапии, сравнивает механизмы действия исследованных соединений и обосновывает перспективность использования этого подхода в профилактике и лечении ССГ.

В *заключении* В.В. Тюлина подводит итог диссертационного исследования - суммирует полученные результаты, делая акцент на их значимости и новизне, отмечая в том числе те свои несомненные достижения, которые не были упомянуты во введении в разделе «Научная новизна исследования».

Достоверность и обоснованность полученных результатов

Работа выполнена на высоком методическом уровне с использованием комплекса современных методов и подходов, количество которых впечатляет. Объем, сложность и глубина проведенных исследований определили важность и новизну полученных результатов. Достоверность полученных результатов

обусловлена применением соответствующих поставленным задачам методических подходов, критическим анализом мировой литературы, а также использованием адекватных статистических методов обработки данных. Все сформулированные в диссертации положения, выводы, рекомендации полностью базируются на результатах проведенных исследований. Диссертация заслуживает высокой оценки по замыслу, воплощению и представлению собственных результатов.

Вопросы и замечания по работе

Принципиальных замечаний по работе нет. В то же время удивило количество положений, выносимых на защиту: их оказалось больше (шесть!), чем выводов и даже задач исследования. Ряд выводов содержат более значимые обобщения, чем положения. При этом не все достаточно новые и оригинальные результаты исследования нашли отражение в выводах. В их числе – результаты сравнительного анализа количественного состава липидных медиаторов воспаления в слёзной жидкости людей и кроликов. Не нашёл в них отражения и вклад активации ММП-9 и изменений уровня его ингибитора ТИМП-1 в нарушение межклеточных контактов эпителия роговицы при ССГ. Представляется не корректным отсутствие упоминания в обзоре литературы и обсуждении того, что глазные капли Визомитин на основе антиоксиданта SkQ1 уже много лет используются в клинической практике при ССГ и, согласно данным ряда исследований, стимулируют процесс эпителизации роговицы и способствуют повышению стабильности слезной пленки.

Заключение

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.5. Физиология человека и животных (по биологическим наукам), а именно направлению «Исследование закономерностей физиологических процессов и функций отдельных систем и

органов организма человека и животных разных таксонов в норме и эксперименте» и критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова. Диссертационное исследование оформлено согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Тюлина Вероника Валерьевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. Физиология человека и животных.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук

по специальностям

03.00.13 – «Физиология человека и животных» и

03.00.04 – «Биохимия»,

профессор

Зав. лабораторией молекулярных механизмов старения ИЦиГ СО

Колосова Наталия Гориславовна

Дата подписания

25.09.2026

Контактные данные:

тел.: _____ e-mail: _____

Ученый секретарь ИЦиГ СО РАН

кандидат биологических наук

/ Орлова Г.В.

Адрес

630090, Новосибирск, Россия,
пр. Лаврентьева, д. 10