

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию Павловой Надежды Сергеевны на соискание ученой
степени кандидата биологических наук
на тему: «Исследование роли элементов пролактиновой оси трехиглой
колюшки *Gastrosteus aculeatus* L. в осморегуляции и репродукции»
по специальности 1.5.5. Физиология человека и животных

Актуальность темы исследования. Диссертационная работа Павловой Надежды Сергеевны посвящена изучению характера действия гормонов пролактиновой оси, вызванного изменением солености воды, на осморегуляцию, репродукцию и особенности зрения трехиглой колюшки *Gastrosteus aculeatus* L.

Пролактин, который часто ассоциируют с лактацией, в эволюции появился значительно раньше, чем на Земле возникли млекопитающие. У позвоночных он оказывает влияние на многие функции организма, в частности, на репродуктивную функцию у обоих полов, ионный гомеостаз, обмен углеводов, иммунный ответ. У рыб пролактин играет важную роль в адаптации к пресной воде во время миграции из морей в реки, обеспечивая выживание рыб, переходящих из морской воды в пресную для размножения. Выяснение взаимосвязи осморегуляторной и репродуктивной функций пролактина у рыб позволяет лучше понять гормональную регуляцию этих функций. Кроме того, полученные результаты в дальнейшем могут быть применены в аквакультуре для гормональной поддержки жизнедеятельности и повышения плодовитости некоторых видов рыб.

Таким образом, цель диссертационной работы Павловой Надежды Сергеевны, в котором исследована роль пролактина в адаптации к полу процессов осморегуляции и цветового зрения трехиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* L. в брачный период, актуальна как с точки зрения теоретической, так и прикладной науки.

Структура диссертационной работы. Диссертация написана по классическому образцу и содержит следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы»; «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение результатов», «Заключение» и «Выводы». Работа изложена на 152 страницах, содержит 43 рисунка и 18 таблиц. Список цитируемой литературы включает 283 источника.

Во «**Введении**» описана актуальность исследуемой проблемы, цели и задачи исследования, его научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология исследования и положения, выносимые на защиту. Сообщается также о достоверности полученных результатов, апробации материалов и публикациях автора по теме исследования.

В разделе «**Обзор литературы**» автор описывает биологию объекта исследования, включая особенности брачного поведения самцов и самок колюшки трехиглой, особенности процессов осморегуляции и роль различных органов в поддержании ионного гомеостаза у пресноводных и эвригалинных рыб. Особое внимание уделено участию в этом процессе различных типов ионных транспортеров (Na,K-АТФаза, Na⁺-, Ca²⁺-, и Cl⁻-каналы, Na-симпортеры и антипортеры) и изменению представленности этих транспортных систем в ионоцитах различных органов при разных условиях солености.

Далее рассмотрены особенности цветового зрения рыб. В связи со спецификой распространения света разной длины волны в воде у рыб в колбочках сетчатки обнаруживаются различные виды опсинов. У трёхиглой колюшки выявлены четыре класса опсинов, кодирующиеся четырьмя генами и характеризующиеся различной максимальной чувствительностью в разных частях спектра. Отмечается, что смена опсинов у рыб наблюдается в процессе взросления или смены среды обитания.

И, наконец, диссертант подробно описывает пролактины рыб (пролактин 1 и пролактин 2), их рецепторы и осморегуляторную функцию пролактина. Отмечается, что пролактины обеспечивают адаптацию рыб к

пресной воде, в связи с чем осморегуляторные ткани рыб, включая кожу, характеризуются высокой экспрессией пролактиновых рецепторов. Приведены также данные о влиянии пролактинов на Na,K-АТФазу и Na-зависимые транспортеры, рассмотрено влияние пролактинов на репродуктивную функцию рыб и на сетчатку глаза. В целом обзор литературы производит очень хорошее впечатление, поскольку автором проанализировано большое количество литературных данных. Написан обзор достаточно подробно и хорошим языком, он подготавливает читателя к пониманию результатов, полученных диссертантом.

Раздел **«Материалы и методы»** посвящен методам, использованным для получения экспериментальных данных. Надо отметить, что все они подробно описаны и могут быть легко воспроизведены. Рассмотрены процессы формирования контрольных и экспериментальных выборок самок и самцов, модели острой, хронической и сочетанной пресноводной адаптации, модель гиперпролактинемии при содержании рыб в морской воде, а также методы обработки полученных в эксперименте материалов и статистической обработки данных. В процессе работы Павлова Н.С. освоила сложные биохимические методы исследования, среди которых определение концентрации ионов Na^+ и K^+ в плазме крови методом атомно-абсорбционной спектроскопии, электрофорез РНК и ГЦР в реальном времени. Все это в совокупности с полученными экспериментальными результатами демонстрирует высокую квалификацию диссертанта.

В разделе **«Результаты и обсуждение»** диссертант описывает полученные экспериментальные данные и дает их интерпретацию. На начальном этапе работы Павловой Н.С. было проведено определение морфометрических показателей и концентрации ионов Na^+ и K^+ в плазме крови, которые являются физиологическими параметрами, отражающими функциональные изменения организма при адаптации к условиям пресной воды или в ответ на введение пролактина млекопитающих. Диссертантом было установлено, что в ходе хронической и острой пресноводной адаптации

гепатосоматический индекс (относительная масса печени) самок значительно возрастал. Аналогичный эффект наблюдался при введении самкам пролактина при их содержании в морской воде, тогда как у самцов гепатосоматический индекс не менялся ни в зависимости от пресноводной адаптации, ни на фоне введения пролактина при содержании рыб в морской воде. В то же время нефросоматический и гонадосоматический индекс как у самок, так и у самцов не менялся ни в одной из моделей адаптации к соленой воде, ни при введении пролактина.

Далее автором было показано, что концентрация ионов Na^+ в плазме крови и у самок, и у а-самцов значительно снижалась, начиная с 24 часов пресноводной адаптации, в то время как концентрация K^+ ни у самок, ни у самцов не изменялась. При этом введение пролактина при содержании рыб в морской воде не повлияло на концентрации Na^+ и K^+ в плазме крови у самок, однако у а-самцов введение пролактина концентрацию K^+ в плазме крови повышало.

Следующая часть работы посвящена исследованию изменений уровня иРНК пролактинов 1 и 2, их рецепторов, Na,K -АТФазы, других Na -зависимых и Ca -транспортеров при адаптации рыб к пресной воде и при введении пролактина в условиях содержания в морской воде.

Выполнения этих экспериментов показало, что во всех трёх моделях пресноводной адаптации в мозге самок уровень иРНК *prl1* значительно увеличивался, у а-самцов - не менялся. Однако иРНК *prl2* в мозге самок и а-самцов в условиях морской воды и после 24 и 72 часов пресноводной адаптации практически отсутствовал, но увеличивался у особей обоих полов на 12-й и 18-й час пресноводной адаптации с преобладанием у а-самцов. Обнаружены также различия в уровнях иРНК гена пролактиновых рецепторов *prlra* и *prlrb* в мозге и в почках самок и самцов при адаптации к пресной воде в течение 72 часов.

Сравнение уровня иРНК ионных транспортеров у самцов и самок колюшки трехиглой в различных органах, обеспечивающих поддержание

ионного гомеостаза, выявило, что осморегуляторная перестройка затрагивает в основном жабры и кишечник: у самок при пресноводной адаптации происходит увеличение уровней иРНК ионных транспортёров (изоформы альфа-3 Na,K-АТФазы, Na,K,Cl-котранспортера (1a изоформа) и Na,H-обменника) в кишечнике. Снижение уровня иРНК NKCC(1a) в жабрах при адаптации к пресной воде происходит независимо от пола особи. Увеличение уровня иРНК определенных ионных транспортеров самок коррелирует с увеличением уровня иРНК пролактина 1. У самцов аналогичные изменения не выявлены или выражены значительно слабее.

Важным достижением исследования являются результаты, представленные в таблицах 10 и 16, где выявлена корреляция между изменением уровня иРНК рецепторов пролактина и уровнем иРНК определенных ионных транспортеров в жабрах и кишечнике самок (таблица 10) и в жабрах и кишечнике а- и со-самцов (таблица 16).

Исследование уровня иРНК опсинов при адаптации к пресной воде демонстрирует, что цветовое зрение у самок и а-самцов трёхиглой колюшки может изменяться неодинаково. Для самок обнаружено коррелирующее с уровнем иРНК пролактина 1 снижение уровня иРНК опсина Sws2 и пролактин-независимое повышение уровня иРНК опсинов Rh2 и Lws. Это может приводить к увеличению чувствительности зрения самок в длинноволновой области спектра и снижению чувствительности в коротковолновой, улучшая распознавание красного и зелёного цвета, что необходимо для распознавания полового партнёра во время нереста.

В разделе **«Обсуждение результатов»** автор сопоставляет полученные данные, сравнивая их с литературными, и приходит к интересным заключениям, важным для дальнейших исследований. В разделе **«Заключение»** автор суммирует эти заключения, среди которых, с моей точки зрения, наиболее важным является то, что в работа впервые продемонстрировала различные для рыб разного пола эффекты пролактина

на осморегуляцию и чувствительность цветового зрения при адаптации к пресной воде.

Приятно отметить, что все полученные экспериментальные данные представлены в диссертации не только в виде рисунков, но и в виде таблиц. Это можно использовать в дальнейшем для расчетов и сопоставления данных, что важно для будущих исследований.

Таким образом, **положения, выносимые на защиту, обоснованны и в достаточной степени отражают ключевые и новые результаты, полученные в ходе работы, научные выводы соответствуют цели исследования и поставленным задачам. Впервые для осморегуляторные и репродуктивные аспекты функций пролактина изучены у рыб в совокупности, впервые для позвоночных доказано существование нового эффекта пролактина: влияние на адаптацию цветового зрения колюшек в зависимости и от условий солености воды, и от пола особей. Это не оставляет сомнений в новизне данных исследования.**

Можно сделать вывод, что диссертационная работа Павловой Надежды Сергеевны представляет собой актуальное, очень интересное в научном плане и тщательно выполненное исследование, свидетельствующее о высокой квалификации автора. Невзирая на высокую оценку этой работы к автору есть несколько вопросов и замечания.

Вопросы

1. Диссертантом показано, что у самок при пресноводной адаптации происходит увеличение уровней иРНК ионных транспортёров в кишечнике, но не в жабрах. Поскольку и кишечник, и жабры являются основными органами осморегуляции у рыб, возникает вопрос, почему не происходит увеличение иРНК ионных транспортеров в жабрах? Есть ли какие-либо предположения на этот счет?
2. Для Na,K-АТФазы у млекопитающих известны 4 изоформы α -субъединицы (α_1 , α_2 , α_3 и α_4), наличие этих изоформ в ферменте существенно влияет на его чувствительность к ионам Na^+ и K^+ . У млекопитающих α_4 - изоформа

встречается только в семенниках. Есть ли эта изоформа у рыб, и если есть, то почему диссертант не исследовал, как изменяется уровень этой изоформы в гонадах самцов у колюшки трехиглой?

Замечания

1. Описывая свои экспериментальные данные, автор часто говорит об изменениях в экспрессии генов. Однако термин «экспрессия гена» имеет отношение не к количеству существующей в клетках иРНК, транскрибированной с определенного гена (это промежуточный этап в экспрессии гена), а к изменению количества белка, который синтезируется с использованием данной иРНК. К сожалению, описаны такие ситуации, когда даже при высоком уровне иРНК синтез соответствующего белка не осуществляется. Это обусловлено регуляцией экспрессии гена и на уровне процесса трансляции, в частности, с использованием малых интерферирующих РНК. По этой причине желательно использовать другой термин, например, говорить о изменении уровня иРНК данного гена.
2. Полученные данные о концентрации катионов, выраженные в мг/л желательно пересчитать на концентрацию, выраженную в мМ, для удобства сравнения со сродством различных переносчиков к катионам, поскольку константы связывания с переносчиками обычно выражают в виде константы диссоциации (в мМ).
3. К сожалению, в тексте диссертации встречаются опечатки и некоторые неточности. Например, в тексте диссертации в формулировке цели исследования дважды встречается словосочетание «в брачный период». В автореферате этой ошибки нет. В подписи к рисунку 7 указано, что «здесь и далее выборка самок обозначена красным контуром ящиков, а-самцов обозначена синим контуром ящиков». Если читатель не заметил этого предложения на рисунке 7, то далее он не может определить, какие результаты относятся к женскому, а какие к мужскому полу.

В заключении необходимо отметить, что невзирая на сделанные замечания диссертация отвечает высоким 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 «Анализ механизмов нервной и гуморальной регуляции, генетических, биохимических процессов, определяющих динамику и взаимодействие физиологических процессов и функций человека и животных», а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова, а соискатель Павлова Надежда Сергеевна безусловно заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. Физиология человека и животных.

Официальный оппонент:

профессор, доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник кафедры
биохимии Биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова

Лопина Ольга Дмитриевна

30 сентября 2025 года

Контактные данные: тел.: 7(495)939-44-34, e-mail: _____

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена
диссертация: 03.01 .04 - Биохимия

Адрес места работы: Москва, Ленинские горы, МГУ им. М.В.Ломоносова
биологический факультет, кафедра биохимии.