

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

Актуальность избранной темы

Диссертационная работа Павловой Надежды Сергеевны посвящена изучению влиянию пролактина на осморегуляцию и репродукцию трёхиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* L. Получены данные о связи пролактина с экспрессией генов ионных транспортёров в жабрах и кишечнике колюшек, различиях, связанных с полом, а также иерархией самцов.

Пролактин обычно исследуется в связи с репродукцией, в частности, лактацией, у млекопитающих. Вместе с тем было показано, что в ряде патологий, сопровождающихся гиперпролактинемией, например, при холестазе, увеличивается вклад пролактина в регуляцию водно-солевого обмена. Осморегуляторные функции пролактина считаются эволюционно древними, в основном выражены у рыб, а у млекопитающих и в частности, у человека, пролактин проявляет свои осморегуляторные функции в патологических состояниях.

Исследование взаимосвязи репродуктивных и осморегуляторных эффектов пролактина у рыб позволяет лучше оценить не только спектр возможных функций пролактина, но и то его влияние, которое находится на пересечении регуляции репродукции и водно-солевого обмена даже у низших позвоночных. Таким образом, исследования на рыбах могут определить новые мишени для пролактина в осморегуляции человека при гиперпролактинемии.

Целью данной работы явилось исследование роли пролактина в адаптации процессов осморегуляции и цветового зрения к полу в брачный период у колюшек, что актуально с фундаментальной точки зрения, и имеет потенциальную практическую пользу для дальнейших медицинских исследований.

Структура диссертационной работы

Диссертация изложена на 152 страницах, имеет классическую структуру и включает в себя введение, обзор литературы, описание материалов и методов, результаты и их обсуждение, выводы, заключение и список литературы, содержащий 283 источника. Материал диссертации сопровождается 43 рисунками и 18 таблицами.

В разделе «Введение» дано обоснование актуальности темы и её научной новизны, сформулированы цели и задачи исследования.

В разделе «Обзор литературы» соискатель даёт характеристику объекта, после чего рассматривает механизмы осморегуляции рыб с особым фокусом на ионные транспортёры, транскрипционная активность генов которых изучается в работе (α -субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы, NKCC, NCC, ECAC, NHE). Далее рассматриваются механизмы цветового зрения рыб, в частности,

пластичности экспрессии генов опсинов рыб при адаптации к различным экологическим условиям, что подчёркивает возможность регуляции чувствительности цветового зрения в разных областях спектра видимого света. Далее рассмотрена пролактиновая ось рыб. Отдельное внимание уделено наличию у рыб двух гомологов генов пролактина и пролактинового рецептора, осморегуляторным и репродуктивным эффектам пролактина, а также его потенциальному действию на сетчатку рыб, что обосновывает изучение экспрессии генов опсинов как потенциальной мишени пролактина.

Раздел «Материалы и методы» подробно описывает методы, использованные в диссертационной работе, представлена схема проведённых экспериментов. В работе были использованы современные, актуальные и разнообразные подходы, включая сбор полевого материала, постановку экспериментальной модели, проведение ПЦР в реальном времени и атомно-абсорбционная спектроскопия. Методы статистической обработки результатов выбраны корректно, и подробно описаны.

В разделе «Результаты» автор приводит экспериментальные данные, посвящённые всем блокам работы: анализу морфометрических показателей особей и концентраций ионов Na^+ и K^+ в плазме крови, анализу уровней мРНК генов пролактина в мозге, генов пролактиновых рецепторов и ионных транспортёров в жабрах и кишечнике, генов опсинов в сетчатке особей в экспериментальных моделях. Основные результаты описывают различия самок и α -самцов при пресноводной адаптации, и вместе с тем часть данных посвящена сравнению α - и ω -самцов, а также самцов в фазе родительского поведения.

Раздел «Обсуждение» представляет собой интерпретацию полученных результатов и встраивание их в контекст известных на настоящее время данных на других видах рыб. Сначала обсуждаются результаты, полученные на данных морфометрии и изучения концентраций ионов в плазме крови, таким образом автором была валидирована используемая модель пресноводной адаптации и показано, что для самок переход в пресную воду связан с изменением репродуктивного статуса. Подобное подтверждение эффективности модели повышает качество обсуждаемых далее результатов. Интересно отметить, что при пресноводной адаптации именно у самок, а не у самцов, происходит повышение экспрессии гена пролактина в мозге, несмотря на то, что родительское поведение демонстрируют самцы. Не самой объёмной, но важной частью результатов стала демонстрация того, что именно пролактин-1, а не его гомолог пролактин-2, является основным гормоном у колюшек. Часть работы, посвящённая изменению экспрессии генов опсинов в модели пресноводной адаптации, позволила соискателю выявить новую для всех позвоночных функцию пролактина – модуляцию цветового зрения. В разделе 4.4 приведены результаты, полученные при сравнении экспрессии генов пролактиновых рецепторов и ионных транспортёров в ткани жабр и кишечника у самцов разного положения в иерархии.

Раздел «Заключение» подводит итог работы и содержит ключевые результаты в контексте современного научного знания. Сделанные выводы соответствуют задачам, и расширяют настоящие представления о функциях гормона пролактина.

Степень обоснованности положений, выносимых на защиту

Ввиду правильно подобранного модельного организма исследования, адекватно разработанной экспериментальной модели исследования, выбора генов-мишеней с учётом данных литературы и корректной статистической обработки результатов, положения, выносимые на защиту, можно считать обоснованными и резонными.

Новизна работы

К значимым и новым достижениям соискателя можно отнести впервые для рыб изученную зависимость осморегуляторных эффектов пролактина от пола особей. В других работах на рыбах исследования пролактина фокусируются либо на его регуляции водно-солевого обмена без учёта пола особей, что, как следует из настоящей диссертации, может давать искажённую картину об одинаковых механизмах пролактиновой регуляции у самок и самцов. Данная диссертация демонстрирует принципиально новый подход к изучению пролактиновой оси рыб, в котором должны сочетаться как учёт факторов солёности окружающей среды, так и пола животных. Принципиально новым знанием является демонстрация участия пролактина в регуляции экспрессии генов опсинов в сетчатке, впервые показанная не только для рыб, но и для всех позвоночных. Также в работе автором дополняются известные данные о стимуляции пролактином родительского поведения у самцов, предположением о вовлечении в этот механизм пролактинового рецептора b в мозге.

Замечания

1. В работе обсуждается несколько моделей пресноводной адаптации и модели гиперпролактинемии в условиях морской воды, а сами особи колюшек разделены по полу (самцы также – по положению в иерархии). У экспериментальных животных исследуется большое количество параметров, что может усложнять общее понимание результатов. Блок результатов по сравнению α - и ω -самцов, дополнен схемой, на которой суммируются все полученные результаты по данным экспрессии генов, а также их корреляции между собой, что улучшает восприятие полученных соискателем данных. Остальные разделы работы, в которых соискатель исследует экспрессию генов ионных транспортёров в жабрах и кишечнике, или экспрессию генов опсинов в ткани сетчатки, сравнивая самок и α -самцов колюшек, подобными схемами не проиллюстрированы. Для повышения качества работы желательно дополнить соответствующие разделы интегральными схемами.
2. Анализ ограничен в основном транскриптомным уровнем; функциональные подтверждения (белковые, физиологические) представлены недостаточно.
3. Некоторые выводы построены на корреляциях, что требует более осторожной интерпретации.
4. Связь изменений экспрессии опсинов с поведением рыб обозначена лишь гипотетически и не подкреплена поведенческими наблюдениями.

Вопрос

Уточните, как вы установили причинно-следственную связь выявленных изменений в пролактиновой оси и экспрессии опсинов при пресноводной адаптации у рыб?

Заключение

Указанные замечания не умаляют значимость диссертационной работы, посвященной интересной проблеме, работа актуальна как с точки зрения фундаментальных, так и практических наук. Можно заключить, что диссертационная работа Павловой Надежды Сергеевны «Исследование роли элементов пролактиновой оси трёхиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* L. в осморегуляции и репродукции» соответствует специальности 1.5.5. Физиология человека и животных (по биологическим наукам), а именно направлению «Анализ механизмов нервной и гуморальной регуляции, генетических, молекулярных, 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. Диссертационное исследование оформлено согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Павлова Надежда Сергеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5. Физиология человека и животных.

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, профессор

главный научный сотрудник отделения нейроэндокринологии

ФГБУ «НМИЦ эндокринологии им. академика И.И. Дедова»

Минздрава России

Дзеранова Лариса Константиновна

Дата «26» 09. 2025 г.

Контактные данные:

тел.: 8(499)1243422, доб. 6718; e-mail:

Специальность, по которой официальным оппонентом

защищена диссертация: 14.01.02 – Эндокринология (медицинские науки)

Адрес места работы: 117292, г. Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11.

Телефон: 8 (495) 500-00-90; e-mail: nmic.endo@endocrincentr.ru

Подпись д.м.н., профессора, главного научного сотрудника отделения нейроэндокринологии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии им. академика И.И. Дедова» Минздрава России Дзерановой Ларисы Константиновны удостоверяю.

Ведущий специалист по персоналу

М.В. Чиковани