

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

Низшие позвоночные, к которым обычно относят рыб, являются не только важнейшей составляющей водных экосистем, но и ключевым модельным объектом для понимания процессов, наблюдаемых у высших позвоночных. Хотя во многих случаях рыб можно рассматривать как немного более упрощенную, и потому удобную и полезную для изучения модель, но существуют некоторые физиологические и регуляторные системы, которые «работают» у рыб и у человека по-разному. Пролактиновая гормональная регуляция относится именно к таким системам, гормон вначале считался исключительно участвующим в физиологии деторождения (лактация, половое и родительское поведение), а затем было открыто его участие в осморегуляции у рыб. В защищаемой работе диссертант впервые рассматривает обе функции пролактина и всей пролактиновой оси на одном модельном объекте – как механизм регуляции водно-солевого баланса при смене солёности среды, так и его роль в половом поведении.

В представленной работе очень аккуратно и последовательно изучены изменения, происходящие у трёхиглой колюшки в нерестовый период и при миграции из морской солёности в пресноводные озера, причем все эксперименты позволяют проследить уровень экспрессии как самого гормона, так его генов его рецепторов и ряда ионообменных белков, участвующих в осморегуляции. При этом рассматриваются отдельно самки и самцы, самцы делятся по степени выраженности полового поведения и окраски (главным образом использовались доминантные альфа-самцы на пике полового поведения). Проведенные

исследования впервые закрывают пробел между двумя разными физиологическими областями компетенции пролактина и показывают тесную связь между участием пролактиновой оси как в осморегуляции, так и в половом поведении трехиглой колюшки.

Структура диссертационной работы

Работа построена по классической схеме, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и обсуждения. Завершают работу заключение, выводы и список литературы. Работа представлена на 152 с., иллюстрирована 43 рисунками и содержит 18 таблиц. Список литературы содержит 283 источника, из которых 7 на русском языке.

Во ВВЕДЕНИИ рассматривается актуальность и степень исследованности проблемы, указывается на различие в преобладающей роли пролактина у млекопитающих и у рыб - эффекты пролактина можно разделить на две группы: участие в поддержании гомеостаза организма и в регуляции размножения. Вторая группа эффектов у млекопитающих более выражена, чем первая, а у низших позвоночных преобладает гомеостатическая функция пролактина, в частности, регуляция водно-солевого баланса.

Учитывая, что в условиях патологии пролактин млекопитающих способен проявлять свои эволюционно древние функции, в том числе осморегуляторной функции пролактина у млекопитающих, представленная работа также оказывается актуальной в контексте понимания нарушений гормональной функции пролактина у человека, с непосредственным потенциальным выходом на возможное фармакологическое применение у человека.

С другой стороны, массовое развитие аквакультуры лососевых рыб (радужная форель, атлантический лосось (семга) в последние десятилетия связано с искусственным регулированием осморегуляции при выращивании рыб в пресной воде (при нормальном жизненном цикле в море) и наоборот, выращивание изначально пресноводных рыб в морских садках. Представляется перспективным внедрение коррекции пролактиновой регуляции у выращиваемых рыб с целью облегчения адаптаций к меняющейся солености среды и тем самым повышения эффективности и рентабельности этой важнейшей области сельского хозяйства.

Раздел введение подводит читателя к формулировке цели работы, и списка задач, который автор поставил перед собой для достижения указанной цели. Можно сразу отметить неудачность формулировки самой задачи – «Целью данной работы было исследование роли пролактина в адаптации к полу процессов осморегуляции и цветового зрения в брачный период трёхиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* L. в брачный период.» - очевидно, автором имелось в виду «в зависимости от пола».

Раздел «Обзор литературы» изложен на 32 страницах и является добротным введением в современное состояние как «колюшководения», так и эндокринологии и осморегуляции рыб.

В описании биологии колюшки как объекта следует отметить, что цитирование Зюганова про продолжительность жизни не совсем корректно. «Средняя продолжительность жизни трёхиглой колюшки составляет порядка 2–3 лет, в некоторых случаях – до пяти. Половозрелости достигает уже к возрасту одного года. Длина тела до 11 см, масса до 9 г.» - можно рассматривать как описание жизненного цикла в южных широтах, в то время как беломорская популяции колюшки (объект исследования Надежды Сергеевны) первую нерестовую миграцию из моря к берегу (и в частности в пресноводные озера) совершает в возрасте 3 лет, а резидентные популяции нерестятся в возрасте двух лет. Созревание в возрасте 1 года на севере является исключением и наблюдаются только в считанных резидентных популяциях как адаптация к прессу паразитов. Также к описанию южной популяции можно отнести фразу «Время начала нереста (с конца марта по конец августа) зависит от температуры и длины светового дня».

Очень подробно описана система осморегуляции у рыб, отдельные разделы посвящены функционированию жабр, кишечника, почек и кожи как органов осморегуляции. Имеется раздел обзора, посвященный физиологии зрения рыб, пластичности экспрессии опсинов и связи с возрастными изменениями и брачным поведением.

Раздел «Обзор литературы» завершает подраздел, описывающий пролактиновую ось у рыб и млекопитающих. При всей полноте обзора, имеется ощущение, что автор не всегда понимает, где какие гены являются паралогичными, какие произошли при полногеномной

дупликации предка костистых рыб, а какие – при двух раундах дупликации, приведшей к современному геному всех позвоночных. Так, наличие гена *Prl-2* у акул, ящериц и кур (наряду с рыбами) позволяет предположить, что этот паралог основного гена пролактина (*Prl-1*) возник при формировании всех позвоночных. А учитывая еще один раунд полногеномной дупликации у всех рыб, можно ожидать, что изначально в рыбах должно быть по паре паралогов – *prl-1a* и *Prl-1b*, *Prl-2a* и *Prl-2b*, которые могли со временем потерять функциональность, но возможно и остались в геноме в функционирующем состоянии. Хотелось бы увидеть в обзоре более четкое доказательство отсутствия ожидаемых паралогичных копий *Prl-1* и *Prl-2* в геномах современных рыб, в частности колюшки.

Раздел Материалы и методы изложен на 12 страницах. Самая трудоемкая и самая впечатляющая часть раздела – это получение, отработка и введение в исследование двадцати (!) тест-систем на гены интереса и оценка уровня их экспрессии. Обычно диссертации пишутся не на 20, а на исследовании экспрессии 4-5 генов, представленная же работа заслуживает в этом контексте уважения за всесторонний анализ не только непривычно большого числа генов, но и различных тканей.

К замечаниям я бы отнес не совсем точное описание эксперимента по участию пролактиновой оси в брачном и родительском поведении - из текста не понятно, использовались ли самцы, собранные в пресном озере, или на морской литорали. Именно родительское поведение – наиболее заметная функция пролактина у млекопитающих, и этот раздел диссертационной работы мне представляется очень важным при сравнении участия пролактина у рыб и млекопитающих.

Раздел «Результаты» занимает 42 страницы диссертации и содержит подробное описание полученных результатов. Автором очень удачно выбрана общая система обозначений на рисунках (красный контур – самки, синий контур – самцы, темная заливка – морская вода, светлая – 24 часа в пресной воде и без заливки – хроническая (72 часа) адаптация к пресной воде. Результаты исследований представлены достаточно подробно, хорошо иллюстрированы, проведена необходимая статистическая обработка. Достоверность представленных результатов сомнений не вызывает.

Раздел «Обсуждение» сформирован по блокам исследования, ранее опубликованных в статьях диссертанта. В некоторых случаях обсуждение явно значительно короче и лаконичнее, чем в статье, но отсылка к публикациям восполняет этот недочет. Пролактин известен как гормон пресноводной адаптации рыб. В представленной работе показано, что экспрессия генов пролактина в мозге колюшек меняется в ходе пресноводной адаптации. Во всех трёх моделях пресноводной адаптации в мозге самок экспрессия гена *prl1* значительно увеличивалась, у α -самцов – не менялась. Этот вывод несколько интуитивно противоречит конституционной роли пролактина как преимущественно гормона осморегуляции – ведь и самки, и самцы должны как-то адаптироваться к изменению солёности. С другой стороны, ранее было показано, что перенос рыб из морской солёности в пресную воду и обратно не требует у колюшки долговременной адаптации – рыбы переходят в нормальное состояние и демонстрируют типичное поведение через несколько секунд после смены солёности воды.

Также следует иметь в виду, что когда экспериментально исследуется экспрессия пролактина и его рецепторов в зависимости от пола, то следует учесть, что колюшка, приходящая к берегу в начале июня, уже завершила нерестовую миграцию и уже созрела и готова к сезону размножения. Чтобы охарактеризовать роль пролактиновой оси именно в половом поведении, необходимо провести сравнение рыб до созревания и наступления сезона размножения (молодь) и созревших рыб в сезон размножения. Учитывая, что многолетние исследования большой группы зоологов Санкт-Петербургского университета так и не смогли ответить на вопрос, где колюшка зимует, очевидно, исследования следует проводить при круглогодичном содержании колюшки в аквариумах, что на момент работы над диссертацией было недоступно. Думаю, подобные работы еще ждут своих исследователей, и в представленной диссертации вскрыт только первый (хотя и самый важный и информативный) пласт проблемы.

Степень обоснованности положений, выносимых на защиту

Достоверность результатов обосновывается методически правильным выбором направления исследования, применение современных подходов и методов, грамотный выбор локусов и подбор праймеров для проведения анализа экспрессии. Используется статистическая обработка полученных результатов, на которых обосновано строятся

выводы, представленные в диссертационной работе. Используются современные генетические и физиологические методы. Научные положения и выводы подтверждены большим количеством представленного в диссертации фактического материала, основные положения, выносимые на защиту, ранее были опубликованы в рецензируемых журналах.

Новизна полученных результатов не вызывает сомнения. Впервые проведено исследование элементов пролактиновой оси в зависимости от пола трехиглой колюшки, в том числе в процессе адаптации обоих полов к пресной воде. Впервые показано, что у самцов и самок наблюдаются достоверные различия в изменении экспрессии ключевых генов пролактиновой оси, что является принципиальным дополнением к проводимым ранее работам по адаптации к солености у рыб, где традиционно не разделялись особи по полу. Выявлена новая функция пролактина у рыб – в модификации чувствительности зрения у самцов и самок к спектральному составу.

Заключение

Замечания и вопросы в основном были изложены в тексте отзыва при разборе соответствующих разделов. Указанные замечания не умаляют значимость диссертационной работы. Она посвящена интересной проблеме и актуальна как с точки зрения фундаментальных, так и практических наук. Можно заключить, что диссертационная работа Павловой Надежда 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:

кандидат биологических наук (03.02.07 - Генетика),
Всероссийский научно-исследовательский институт
рыбного хозяйства и океанографии,
(ГНЦ РФ ФГБНУ «ВНИРО»),
105187 Москва, Окружной проезд 19.
Тел. 8(499)2648519 (лаб.),
e-mail: _____

Мюге Николай Сергеевич

03 октября 2025 г.

Подпись заверяю
Ученый секретарь
ФГБНУ «ВНИРО»