Отзыв

официального оппонента
д.б.н. Романовой Ирины Владимировны
на диссертацию Холовой Гулрухсор Исхокджоновны на тему
«ВЛИЯНИЕ СТРЕССА ОТЦА НА ПОВЕДЕНИЕ И ГОРМОНАЛЬНЫЕ ФУНКЦИИ ПОТОМКОВ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных.

Актуальность проведенного исследования. Исследования отсроченных последствий влияния стресса на организм – чрезвычайно важны как для физиологии, так и для медицины. Вопрос о том, что последствия стресса, перенесенного родителями, отмечаются и у их потомков, стоит чрезвычайно остро в настоящее время. В этой связи исследования влияния стресса, перенесенного будущим отцом, на его потомков обоего пола, очень актуальны. Автором диссертации проведены экспериментальные исследования на крысах, которые моделируют не только депрессивно-подобное состояние, но и посттравматическое стрессовое расстройство. Таким образом, разнонаправленные изменения активности гипофизарно-адренокортикальной системы, соответственно увеличение и снижение, которые наблюдаются при этих состояниях, ставит вопрос о возможности специфичного влияния гипофизарно-адренокортикальной системы отца на развитие его потомков в зависимости от ее функционального состояния. Данные, полученные диссертанткой, создают фундаментальную базу для возможности прогнозирования и коррекции психо-эмоционального статуса у детей, рожденных от отцов, перенесших сильный стресс.

Автором диссертации были поставлены 4 задачи: 1) Оценить влияние ПТСР-подобного или депрессивно-подобного состояния самцов-отцов на состояние их репродуктивной системы на момент подсадки к интактным самкам. 2) Изучить влияние ПТСР-подобного или депрессивно-подобного состояния самцов-отцов на соматическое развитие, ориентировочно-

исследовательскую активность, уровень тревожности, память, содержание в крови половых стероидных гормонов и активность ГАС потомков обоего пола. 3) Оценить уровень глюкокортикоидных рецепторов в областях гиппокампа и медиальной префрональной коры потомков самцов отцов с ПТСР-подобным или депрессивноподобным состоянием. 4) Исследовать экспрессию гена инсулиноподобного фактора роста 2 (*Igf2*) и его рецептора 2-го типа (*Igf2r*) в гиппокампе и неокортексе потомков самцов отцов с ПТСР-подобным или депрессивно-подобным состоянием. Решение этих задач позволило автору ответить на вопрос, который был сформулирован в цели выполненного исследования.

Научная новизна исследования, теоретическая и практическая значимость полученных результатов, сформулированных в диссертации. Диссертационное исследование проведено на модельных объектах, автором получено много новых данных, которые могут быть учтены и в практической медицине. В частности, показано, что посттравматическое стрессорное расстройство у отцов сопровождается изменением показателей их сперматогенеза, а у их потомков обоего пола наблюдаются изменения соматического развития, ориентировочно-исследовательской активности, уровня тревожности, нарушения памяти и активности гипофизарно-адренокортикальной системы. При этом нарушение памяти у их потомков-самцов (но не самок) связано со снижением в гиппокампе и неокортексе экспрессии гена, кодирующего инсулиноподобный фактор роста 2, но не его рецептора. Полученные результаты должны быть учтены в медицинской практике репродуктивных технологий, в частности, при экстракорпоральном оплодотворении.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, личный вклад

автора. Автор вынесла на защиту 4 положения: 1) ПТСР-подобное состояние самцов-отцов оказывает более значительное влияние на состояние репродуктивной системы и показатели сперматогенеза по сравнению с депрессивно-подобным состоянием. 2) Нарушение соматического развития, поведения и памяти потомков обоего пола более выражены у потомков самцов-отцов с ПТСР-подобным состоянием по сравнению с потомками самцов-отцов в депрессивно-подобном состоянии. 3) ПТСР-подобное или депрессивно-подобное состояние самцов-отцов оказывает дифференциальное влияние на активность ГАС потомков самцов и количество глюкокортикоидных рецепторов в мозге, тогда как у потомков самок активность ГАС и количество глюкокортикоидных рецепторов в мозге изменяются сходным образом при моделировании обеих психопатологий у самцов-отцов. Изменения уровня половых стероидных гормонов в крови потомков стрессированных отцов не зависит от использованной стрессорной процедуры (модель психопатологии), но определяется полом потомков. 4) Изменения экспрессии гена инсулиноподобного фактора роста 2 в мозге сопровождается нарушением памяти самцов - потомков отцов с ПТСР-подобным состоянием.

Эти положения были сформулированы на основании анализа и обобщения полученных автором диссертации новых фактов, которые отражены в выводах. Автор диссертации принимала непосредственное участие во всех этапах исследования и анализа полученных результатов. Для исследования были использованы адекватные поставленным задачам методы, достоверность полученных результатов не вызывает сомнений,

Основные результаты диссертации представлены в 5 статьях в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ, и индексированных в базах Web of Science и Scopus, а также в материалах нескольких всероссийских конференций.

Структура и содержание диссертации.

Диссертация Холовой Г.И. построена по традиционному плану, состоит из введения, четырех глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты, обсуждение результатов), заключения, выводов и списка литературы, состоящего из 267 ссылок. Работа изложена на 151 страницах текста, иллюстрирована 4 таблицами и 24 рисунками.

Глава 2 (Обзор литературы) представлена на 32 страницах текста. Автор рассматривает исторический аспект формирования представлений о стрессе, организация гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы, роль гормонов и нейрогормонов гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы в стрессорном ответе, строение и регуляция мужской репродуктивной системы, строение и функции семенников, сперматогенез, организация гипоталамо-гипофизарно-семенниковой системы, влияние неблагоприятных факторов среды на мужскую репродуктивную систему, влияние стресса отца на физиологические функции потомства, моделирование посттравматического стрессорного расстройства и депрессии у животных и адекватных факторы их оценки. Т.о. в литературном обзоре есть все необходимые для анализа разделы. В целом, текст Обзора легко читается. Однако формулировка задач исследования воспринималась бы лучше, если Обзор литературы заканчивался бы заключением, в котором автор обосновал бы необходимость решить задачи, сформулированные в диссертационной работе.

Вопросы:

1) На С.19. "…кортиколиберин, локализованный в экстрагипоталамических структурах мозга"… - о каких конкретно структурах идет речь?

2) "АКТГ усиливает синтез и высвобождение глюкокортикоидов (ГК) и, в меньшей степени, минералокортикоидов…". Какой механизм влияния АКТГ на минералокортикоиды, вырабатываемые в клубочковой зоне коры надпочечников, имеется ввиду? Известно, что АКТГ непосредственно, через соответствующие рецепторы, участвует в регуляции клеток пучковой зоны коры надпочечников, которые вырабатывают глюкокортикоиды.

3) Авторы приводят данные о строении семенника, что является необходимой в данном обзоре информацией. Однако, было бы корректным цитировать авторов, которые непосредственно занимались этой проблемой, а не Ноздрачев, Поляков, 2001, С.22.

4) Обозначения, использованные в тексте и в рисунках не всегда унифицированы (С.33. подписи к рисунку 2).

Глава 3 (Материалы и методы) представлена на 14 страницах. Автор приводит характеристику экспериментальных животных, подробно описывает манипуляции, проведенные с животными, для получения экспериментальных моделей в основном со ссылками на литературные источники, где ранее это было использовано. Приводит описание общепринятых методик оценки различных параметров поведения животных, подготовки проб, морфофункциональных, иммуногистохимических, молекулярных и биохимических исследований. Таким образом, в работе использованы адекватные для решения поставленных задач современные методы. Статистическая обработка результатов проведена корректно, использованы адекватные для каждой методики критерии с достаточным количеством животных.

Замечания:

1) С.51. "Стадию эстрального цикла определяли по характеру окрашенных азур-эозином вагинальных мазков". Здесь можно было бы дать ссылку на литературу, где указывается на необходимость применения именно этой окраски вагинальных мазков.

2) На С.61. автор указывает, что иммуногистохимические реакции проведены с " С помощью метода немеченых антител (авидин-биотинового)…"…Однако реально был использован метод непрямого иммуномечения с использованием именно меченых вторичных антител, о чем свидетельствует информация в сопроводительных документах (ab64261: вторичные анти-кролик антитела биотинилированные и стрептавидин, конъюгированный пероксидазой).

3) С. 58. "а также количество и площадь клеток Лейдига в участке интерстиция". О каком участке идет речь? Это стандартная площадь?

4) Неудачное выражение ”исследовали под световым микроскопом…” С. 59. Исследовали с помощью светового микроскопа!

Глава 4 (Результаты) представлена на 32 страницах, автор приводит подробное описание полученных данных, которые наглядно иллюстрированы рисунками.

Замечания:

1) На приведенных графиках можно было бы указать индивидуальные значения, чтобы можно было увидеть индивидуальные отличия в группе.

2) Рис. 24 (С.96). Автор демонстрирует иммуногистохимические реакции к глюкокортикоидным рецепторам в структурах гиппокампа и областях коры больших полушарий мозга. Однако стоило бы указать и источники, указывающие на координаты, по которым проводили идентификацию структур (например, ссылку на атлас мозга крысы).

Глава 5 (Обсуждение результатов) представлена на 19 страницах, легко читается. Автор удачно связывает полученные в диссертационном исследовании результаты с тем, что получено ранее.

Анализ полученных в настоящем исследовании результатов позволил автору сформулировать 6 логичных выводов, которые соответствуют содержанию представленных в диссертации результатов исследований автора.

Текст автореферата (26 страниц) представлен в хорошем стиле и полностью соответствует содержанию диссертационной работы.

В целом, работа Г.И. Холовой производит хорошее впечатление. Она в полной мере соответствует заявленной специальности.

В порядке научной дискуссии, можно сформулировать следующие **вопросы**:

1) В ходе выполнения исследования было выявлено влияние стресса отцов на репродуктивные показатели их потомства мужского пола

(снижение уровня тестостероны), но не женского (не выявлено изменения уровня эстрадиола). Имеет ли это какое-то популяционное значение?

2) В гиппокампе было выявлено снижением экспрессии гена инсулиноподобного фактора роста 2 (*Igf2*), но не его рецептора. Как можно ли интерпретировать этот факт как функциональную адаптацию?

Следует отметить, что высказанные по данной работе замечания не являются принципиальными, а поставленные вопросы имеют дискуссионных характер и не умаляют значимости работы.

Заключение. Диссертационная работа Холовой Гулрухсор Исхокджоновны на тему «ВЛИЯНИЕ СТРЕССА ОТЦА НА ПОВЕДЕНИЕ И ГОРМОНАЛЬНЫЕ ФУНКЦИИ ПОТОМКОВ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ», является законченным квалификационным научным исследованием, актуальна, решает важную задачу современной физиологии и соответствует заявленной специальности 1.5.5 – физиология человека и животных.

Диссертация полностью соответствует требованиям, изложенным в пунктах 9 и 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» от 24 сентября 2013 г. №842 (с изменениями от 11 сентября 2021 г. №1539), утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.5 – физиология человека и животных.

Главный научный сотрудник, зав. лаб.
интегративной нейроэндокринологии
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института эволюционной
физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова
Российской академии наук,
доктор биологических наук
Романова Ирина Владимировна

телефон: (812)5523227
irinaromanova@mail.ru

«20» сентября 2023 года

подпись д.б.н. Романовой И.В. «заверяю»

Ученый секретарь ИЭФБ РАН
к.б.н. Гальперина Елизавета Иосифовна
телефон: (812)552-79-01
e-mail: galperina-e@yandex.ru