

УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Институт физиологии им. И.П. Павлова
Российской академии наук

Академик РАН  Филаретова Л.П.
«24»  2022 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу Анисимовой Маргариты Владимировны
«Влияние антигенной стимуляции самцов мышей на их репродуктивную эффективность и
морфофизиологические характеристики потомков»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.03.01 – Физиология

Актуальность исследования

Новые вызовы современного мира, связанные с пандемией COVID-19 и проведением масштабной вакцинации, делают особенно актуальными исследования влияния антигенной стимуляции, активации иммунной системы на фертильность родителей и морфофункциональные характеристики потомства в пре- и постнатальном онтогенезе. При этом важен анализ специфических иммунных и репродуктивных параметров, их взаимосвязи.

Феноменология и механизмы формирования у потомства инфицированных самцов устойчивости к антигенному разнообразию и иммунологической памяти, ее свойств являются малоисследованными, а изучение трансгенерационных эффектов иммунологических реакций представляется крайне актуальным.

Исследованию влияния системной активации иммунитета самцов на их репродуктивную эффективность, внутриутробное развитие эмбрионов, некоторые гормональные, репродуктивные и связанные с иммунным реагированием признаки у взрослых потомков и посвящена диссертационная работа М.В. Анисимовой, выполненная с использованием двух стандартных линий мышей- C57BL/6 и BALB/c.

Результаты работы являются приоритетными и свидетельствуют о влиянии иммунной стимуляции самцов чужеродным антигеном на их репродуктивные характеристики, на условия эмбрионального развития, на репродуктивные и иммунные характеристики потомков мужского пола, которые оказались способны поддерживать

высокий уровень тестостерона и показатели сперматогенеза при антигенной стимуляции, имели более высокий уровень возбуждающих нейромедиаторов в амигдале и индексы массы основных иммунокомпетентных органов.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость результатов

Системная активация иммунитета может быть индуцирована однократным введением чужеродного антигена- иммуногенного белка гемоцианина, KLH (keyhole limpet hemocyanin). Именно это воздействие и используется в представленной работе М.В. Анисимовой в качестве модели антигенной стимуляции у мышей, причем такая схема используется для поиска взаимосвязей между состоянием иммунной и репродуктивной систем у самцов и их потомков мужского пола.

В работе М.В. Анисимовой продемонстрированы впервые эффекты иммунизации отцов на их фертильность, ее зависимость от стадии иммунного ответа, на параметры пренатального и раннего постнатального развития потомков, на профиль нейрометаболитов в головном мозге взрослых самцов, на особенности их иммунной и репродуктивной функций.

Результаты работы М.В. Анисимовой имеют важное теоретическое значение, поскольку способствуют пониманию механизмов взаимодействия иммунной и репродуктивной систем, иммунной регуляции репродуктивной функции самцов и влияния системной активации иммунитета отцов на иммунные и эндокринные характеристики их сыновей. Практический выход связан с возможностью применения разработанных подходов и результатов в сельском хозяйстве и ветеринарии в плане оптимизации протоколов вакцинации, для повышения фертильности самцов и качества потомства.

Структура и краткое содержание диссертационной работы

Диссертационная работа Анисимовой М.В. общим объемом 140 страниц построена по традиционному плану и включает следующие разделы: Введение (9 стр.), Обзор литературы (30 стр.), Материал и методы (11 стр.), Результаты (27 стр.), Обсуждение результатов (10 стр.), Выводы (7), Список сокращений (2 стр.). Список использованной литературы (279 источников), Заключение (2 стр.). Результаты представлены в 11 таблицах и на 19 рисунках.

Все экспериментальные исследования выполнены лично автором, их достоверность сомнений не вызывает.

Во введении представлено обоснование актуальности темы диссертационной работы, ее теоретическая и практическая значимость, научная новизна, сформулированы

цель и задачи исследования, изложены основные использованные методы, приведены положения, выносимые на защиту, указаны конференции, на которых были доложены результаты работы и достаточно объемный список публикаций по теме диссертации.

В обзоре литературы автор обстоятельно рассматривает вопросы, связанные с размножением в условиях паразитарного пресса, механизмы иммунной и эндокринной регуляции репродуктивной функции самцов, собственно сперматогенеза и отдельно гематотестикулярного барьера. Последний раздел обзора посвящен немногочисленным известным из литературы эффектам влияния «факторов отца» при иммунизации на протекание беременности самок, развитие эмбрионов, морфофизиологические характеристики взрослых потомков. В целом, автор дает убедительное представление о проблематике диссертации и подводит к постановке цели и задач, но все же в конце обзора напрашивается краткое заключение с обобщением положений, явившихся предпосылками для проведения представленной работы.

Глава «Материал и методы» состоит из трех разделов. Первый содержит информацию о линиях мышей, используемых в работе, условиях их содержания, но, к сожалению, отсутствует хотя бы краткое обоснование выбора линий C57BL/6 и BALB/c для проведения исследования.

Во втором разделе подробно описаны схемы экспериментов и экспериментальные процедуры. Методы исследования представлены в третьем разделе и их описание является достаточно полным. Для определения уровня иммуноглобулинов, гормонов, цитокинов автор использовала иммуноферментный анализ, для определения нейрометаболитов в головном мозге - магнитно-резонансную спектроскопию. Характеристики сперматозоидов были изучены с помощью современного автоматического анализатора спермы. Приведены отдельно и методы статистической обработки данных, но не указан использованный пакет программ для статистического анализа.

Глава «Результаты» хорошо структурирована и состоит из 4-х частей, содержит достаточное количество наглядных иллюстраций. В первой части представлены результаты оценки уровня специфических к гемоцианину иммуноглобулинов в плазме крови и параметров сперматозоидов мышей двух исследуемых линий в разные сроки после введения KLH. Подраздел 3.1.1. следовало бы сделать самостоятельным первым разделом, поскольку его содержание не соответствует названию раздела 3.1. Далее рассматривается влияние иммунизации самцов мышей линии C57BL/6 на уровень антител, содержание тестостерона в плазме крови, репродуктивные характеристики, на протекание беременности самок и некоторые параметры пренатального развития эмбрионов (раздел 3.2). Следующий раздел посвящен изложению результатов влияния иммунизации самцов

линии C57BL/6 на размеры пометов, постнатальную гибель и вес выкормленных потомков. В четвертой части представлены спектры нейрометаболитов в амигдале и коре головного мозга, уровень антител и индексы массы иммунокомпетентных органов (тимус, селезенка) у самцов, потомков контрольных и иммунизированных отцов. В заключительном подразделе рассмотрена иммунно-гормональная реакция на введение KLH потомков контрольных и иммунизированных самцов (уровень тестостерона, масса андрогензависимых органов и параметры сперматозоидов). Обращает на себя внимание сбой в нумерации и названиях пп. 3.2; 3.3.1; 3.3 и далее.

В главе «Обсуждение» М.В. Анисимова обобщает полученные данные в контексте современных исследований, рассматривает, как факторы активации системного иммунитета нереплицируемым антигеном KLH у самцов могут сказываться на программе развития потомков от пренатального до зрелого состояния, какие механизмы лежат в основе этих процессов. Далее следует четкое краткое заключение и выводы.

Выводы (7) сформулированы корректно и резюмируют основные результаты диссертации.

Автореферат построен по стандартной схеме, полностью отражает основные результаты и положения диссертации, ее содержание, хорошо иллюстрирован.

Публикации по теме диссертации включают 7 статей, 5 из которых опубликованы в высоко рейтинговых журналах первого и второго квартилей. Все журналы входят в международные базы WoS и Scopus. В представленных публикациях основные результаты работы отражены в достаточной степени.

Замечания и вопросы

1. Основная часть работы выполнена на самцах линии C57BL/6. Не могли ли генетические особенности этой линии повлиять на характер гормональных и иммунологических реакций животных? Насколько универсальными могут быть выявленные эффекты активизации иммунитета у самцов этой линии?
2. В работе показано, что спаривание самок с иммунизированными самцами приводит к увеличению уровня тестостерона в амниотической жидкости. Автор рассматривает, как это сказывается на фенотипе потомков мужского пола и никак не обсуждает возможные и известные влияния на самок, хотя это может быть важным для общих заключений и рассуждений автора.
3. При ненормальном распределении и использовании непараметрических критериев статистики следует представлять медиану, максимальное и минимальное значения

выборки. В таких случаях более корректно использовать для демонстрации результатов ящичные диаграммы.

4. Ни в главе «Материал и методы», ни в тексте диссертации не указано, как высчитывали фетоплацентарный индекс и индексы масс органов.
5. В табл. 3,4,10, на рис. 2 и 19 указаны сокращенные характеристики скорости движения и морфологии сперматозоидов. Нужно было расшифровать их в подписях при первом упоминании в табл.3 и далее ссылаться на табл. 3, либо указать соответствующий раздел (страницу) диссертации, где приведена расшифровка. То же касается и сокращения ОП (оптическая плотность) на рис.5.
6. Некоторые неточности обнаружены в подписях к рисункам. Пропущено обозначение для третьей части «В» рисунка 12 «Масса тела...».
7. Перегружена информацией часть А подписи к рис. 15. Лучше было перенести в текст.

Замечания носят рекомендательный характер, не влияют на достоверность результатов и выводов, не снижают научной значимости диссертации и общего положительного впечатления от работы.

Заключение

Диссертационная работа М.В. Анисимовой «Влияние антигенной стимуляции самцов мышей на их репродуктивную эффективность и морфофизиологические характеристики потомков», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология, является самостоятельным научным исследованием, в основе которого лежит объемная и добротная, тщательно выполненная экспериментальная работа. Используя различные современные методы, автор получила важные результаты, расширяющие представления о влиянии иммунной стимуляции самцов чужеродным антигеном на их репродуктивные характеристики, условия пре- и постнатального развития, репродуктивные и иммунные характеристики потомков. Работа выполнена на высоком научном и методическом уровне.

Выводы хорошо обоснованы, результаты опубликованы в 7 статьях в рецензируемых научных журналах и обсуждены на конференциях.

Таким образом, по содержанию, уровню выполнения исследований, актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости диссертационная работа М.В. Анисимовой «Влияние антигенной стимуляции самцов мышей на их репродуктивную эффективность и морфофизиологические характеристики потомков» полностью соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней»,

утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842, а ее автор, Маргарита Владимировна Анисимова, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.01 – физиология.

Отзыв рассмотрен, обсужден и одобрен на расширенном заседании лаборатории генетики высшей нервной деятельности с представителями Отдела физиологии и патологии высшей нервной деятельности ФГБУН Института физиологии им. И.П. Павлова РАН 16 февраля 2022 года.

Отзыв составила заведующая лабораторией генетики высшей нервной деятельности, д.б.н. Дюжикова Наталья Алековна (специальность 03.03.01- физиология), e-mail: dyuzhikova@infran.ru, тел.: +79214399623

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук (ИФ РАН)

Адрес: 199034, г. Санкт-Петербург, наб. Макарова, д.б,

Тел.: 8(812)3280701, 8(812)3281301, 8(813)7072501

Веб-сайт: <http://www.infran.ru>

E-mail: Pavlov.institute@infran.ru

Зав. лабораторией генетики высшей нервной деятельности
ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН

д.б.н. Дюжикова Н.А.

Подпись Дюжиковой Н.А. заверяю

Ученый секретарь

ФГБУН Институт физиологии

им. И.П. Павлова РАН

к.б.н. Петропавловская Е.А.

