

ОТЗЫВ

официального оппонента, кандидата биологических наук Ярцева Вадима Вадимовича на диссертационную работу Окотруб Светланы Васильевны «Раннее развитие и криоконсервация ооцитов и эмбрионов малых кошек (Felidae: Felinae): влияние внутриклеточных липидов», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12 – Зоология

Актуальность избранной темы

Позвоночные – одна из доминирующих на планете групп животных, что проявляется в их видовом разнообразии, численности, формировании самых крупных среди животных размеров тела и в представленности в виде конечных звеньев как водных, так и наземных пищевых сетей. Однако видовое богатство распределено неравномерно в разных кладах позвоночных: одни группы насчитывают лишь небольшое число видов (например, Sarcopterygii – 8), в то время как другие – тысячи видов (например, Actinopterygii, Reptilia, Aves). Всё это требует специальных подходов как к оценке, так и к мониторингу и сохранению разнообразия в различных группах позвоночных.

Одной из групп позвоночных, включающей большое число редких, находящихся под угрозой исчезновения или уязвимых форм (видов, подвидов) является семейство Кошачьи (Felidae). Для представителей этого семейства используется широкий арсенал методов сохранения разнообразия: от охраны местообитаний до сложных инструментальных технологий искусственного воспроизводства. При этом, развитие криобанков и технологий получения и сохранения главным образом семени, реже – ооцитов и ранних эмбрионов позволяет не столько использовать этот материал для восстановления численности данных форм, сколько сохранить и, при необходимости, «внести» в популяции генетическое разнообразие.

Несмотря на общность в структуре яичников, женских гамет позвоночных, ооциты, а в след за ними и ранние эмбрионы, могут иметь ряд специфических особенностей, которые затрудняют применение одного алгоритма для криоконсервации ооцитов и эмбрионов у разных видов Vertebrata. Диссертационная работа Светланы Васильевны Окотруб несомненно актуальна, поскольку проливает свет на роль липидов в раннем развитии и при криоконсервации ооцитов и эмбрионов на примере модельного вида – домашней кошки, *Felis silvestris catus*.

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

Цель диссертационной работы – изучение роли внутриклеточных липидов при криоконсервации ооцитов и ранних эмбрионов домашней кошки – разбита в работе на 5 задач,

каждой из которых соответствует вывод. Выделенные задачи позволяют в полной мере достигнуть поставленной цели.

Решение каждой задачи автором работы привело к формулировке соответствующих выводов, каждый из которых подкреплён результатами, полученными в ходе адекватных задаче экспериментов, манипуляций с эмбриологическим материалом, оценок состояния ооцитов и эмбрионов, а также внутриклеточных липидов с помощью методов световой, конфокальной и флуоресцентной микроскопии, Рамановской спектроскопии. Все результаты должным образом сопоставлены как между собой – для получения общей картины по проведённым автором разным экспериментам, так и с обширной современной литературой (239 источников, большая часть из которых – на иностранном языке).

Первые 3 положения, выносимые на защиту, основаны на выводах, полученных автором в ходе эмпирической части исследования, а положение 4 – на основе экстраполяции полученных в работе результатов на примере модельного вида – домашней кошки – на других представителей подсемейства Малые кошки (Felinae).

Рекомендации, составленные автором, на основе оригинальных данных диссертационного исследования достаточно точны и обоснованы. Важным достоинством при составлении рекомендаций можно считать, что автор не использует полученный в ходе своей работы протокол в качестве универсального в отношении всех малых кошек. Подчёркивается, что ввиду отсутствия данных по липидному составу ооцитов других малых кошек необходима предварительная оценка степени ненасыщенности липидов неинвазивной Рамановской спектроскопией, а затем, при необходимости, использование модификации состава липидов ооцитов или эмбрионов для повышения эффективности криоконсервации.

Достоверность результатов

Работа включает значительный объём экспериментов по культивированию ооцитов и эмбрионов домашней кошки, замораживанию и оценке состояния после него. Объём материала, деление на группы, размеры выборок соответствуют поставленным задачам. Использование малых выборок эмбриологического материала на отдельных этапах работы вполне оправдано, поскольку в дальнейшем изучение состояния и процессов в нём проводилось целым арсеналом современных методов световой, конфокальной и флуоресцентной микроскопии, нескольких видов флуорохромов. Особое методологическое достоинство работы – это применение современного химического метода – спектроскопии комбинированного рассеянного света (Рамановской спектроскопии) для понимания «поведения» внутриклеточных липидов. Использование данного метода в сочетании с дейтерированными жирными кислотами позволило проследить накопление, распределение, температуру фазового перехода и другие особенности липидов разной степени насыщенности

внутри клеток. Все количественные результаты прошли статистическую обработку с использованием адекватных задачам методов.

Результаты работы представлены в виде пяти научных статей, опубликованных в рецензируемых журналах, в полной мере отвечающих специфике представленных результатов – «Онтогенез», «Archives of Biochemistry and Biophysics», «Biophysical Journal», а также на двух всероссийских и одной международной конференциях. Это свидетельствует об оценке разделов работы С.В. Окотруб специалистами (в ходе рецензирования), а также об информировании широкого круга исследователей в области зоологии, эмбриологии, криобиологии, биофизики и биохимии с результатами исследования.

Научная новизна работы

Диссертационная работа имеет значительную новизну, поскольку в ней впервые модифицирован состав внутриклеточных липидов ооцитов и эмбрионов домашней кошки, изучено накопление и распределение липидов в разных условиях, оценена роль насыщенных и ненасыщенных их форм в эффективности криоконсервации ооцитов и эмбрионов, а также влияние на раннее развитие домашней кошки *in vitro*. Немаловажно, что все выявленные автором физико-химические, клеточные и эмбриологические особенности изучаемых процессов позволили впервые разработать практические рекомендации для сохранения генетического разнообразия малых кошек с учётом специфики липидного состава их ооцитов и эмбрионов.

Теоретическая и практическая значимость работы

Работа вносит фундаментальный вклад в понимание роли липидов (состава, распределения, их физико-химических характеристик) в процессы охлаждения и замораживания ооцитов и ранних эмбрионов кошачьих.

Практическая значимость работы заключается в том, что выявленное увеличение устойчивости преимплантационных эмбрионов домашней кошки при направленном увеличении степени ненасыщенности внутриклеточных липидов имеет важное значение для разработки новых и корректировки имеющихся протоколов криоконсервации ооцитов и эмбрионов диких видов кошачьих, вовлечение эмбриологического материала которых в экспериментальную практику затруднительно или вовсе невозможно ввиду их природоохранного статуса.

Оба аспекта работы делают её значимой для зоологии, в частности – для разработки биологических основ разведения редких и исчезающих видов, научных рекомендаций по охране животных.

Работа написана хорошим научным языком, логично, хорошо структурирована, что позволяет поэтапно раскрыть её содержание. Автореферат отражает структуру диссертационной работы.

Замечания и вопросы по диссертации

В тексте работы имеется ряд технических, орфографических и пунктуационных ошибок. Не всегда корректно используются общепринятые сокращения единиц измерения, особенно времени – можно встретить варианты «мин», «мин.», «сек.». Например, на с. 73 в одних случаях слово «час» набрано полностью, в другом – сокращённо «ч»; на с. 84 используется 2 варианта сокращения слова «минута» – «мин.» и «мин». В одних случаях диапазоны (интервалы) разделены знаком дефис, в других – тире. В ряде случаев перед разделительным союзом «либо» не стоит запятой (например, в положении 2, выносимом на защиту, в выводах 2, 3).

Вместе с этим, хотелось бы задать автору работы следующие вопросы:

1. Применяется ли полученный в ходе работы протокол модификации внутриклеточных липидов эмбрионов кошки для других целей в криобанке ИЦиГ СО РАН? Насколько такая технология может быть востребована в разведении пород кошек? Планируется ли получение патента?
2. Планируется ли апробация полученных рекомендаций на ооцитах и эмбрионах других представителей подсемейства Felinae на базе криобанка ИЦиГ СО РАН? Если планируется, то откуда будет взят материал и по каким видам?
3. Насколько широко с технической и экономической точек зрения можно использовать Рамановскую спектроскопию для неинвазивной оценки состава и распределения внутриклеточных липидов? Возможны ли другие способы изучения данных процессов?

Заключение

Несмотря на высказанные замечания, которые носят редакторский характер и не влияют на содержание работы, не снижают её значимость, диссертация Светланы Васильевны Окотруб «Раннее развитие и криоконсервация ооцитов и эмбрионов малых кошек (Felidae: Felinae): влияние внутриклеточных липидов», представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук, является самостоятельным исследованием, выполненным по актуальной теме на достаточном методическом уровне с получением результатов, которые обладают научной новизной, имеют теоретическое и практическое значение.

По своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, содержанию и объёму выполненных исследований диссертационная работа соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, изложенным в п. 9 «Положения

о присуждении учёных степеней», а соискатель Окотруб Светлана Васильевна заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12 – Зоология.

Официальный оппонент:

доцент кафедры зоологии позвоночных и экологии
Федерального государственного автономного
образовательного учреждения высшего образования
«Национальный исследовательский
Томский государственный университет»
(634050, г. Томск, пр. Ленина, 36; (3822) 52-98-52;
rector@tsu.ru; <http://www.tsu.ru>),
кандидат биологических наук (03.02.04 – Зоология),
доцент



Ярцев Вадим Вадимович

17 апреля 2023 года



Подпись удостоверяю
ВЕДУЩИЙ ДОКУМЕНТОВЕД
АБДЖЕНКО И. В.

