

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Юрчук Т. О. на тему: «Вплив факторів кріоконсервування на морфофункціональні властивості клітин кори надниркових залоз щурів», поданої до спеціалізованої вченої ради Д 64.242.01 в ІПКіК НАН України на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.19 - кріобіологія

Низькотемпературне зберігання різноманітних біологічних об'єктів у рідкому азоті є дуже важливим винаходом, який дає можливість застосовувати матеріал у будь який зручний час для потреб у багатьох галузях. Тому дослідження впливу факторів кріоконсервування на морфофункціональний стан клітин ендокринних органів, а також пошук шляхів, що дозволяють підтримувати його на високому рівні, з метою отримання якісного матеріалу для корекції ендокринопатій різного генезу є однією з актуальних завдань сучасної медицини. Так, трансплантація клітин або фрагментів наднирників може бути альтернативою застосуванню стандартному медикаментозному лікуванню хронічної надниркової недостатності. Виходячи з цього актуальність роботи Юрчук Т.О. не викликає сумніву.

Дисертація побудована за традиційною схемою. Дисертація викладена на 146 сторінках та проілюстровано 29 рисунками, 6 мікрофотографіями та 3 таблицями. Вона складається зі вступу, огляду літератури, розділів «Матеріали і методи дослідження», «Результати власних досліджень та їх обговорення», висновків та списку літератури.

У вступі обґрунтовано актуальність теми роботи, мету та завдання дослідження. Для досягнення мети сформульовано 4 завдання. Слід зазначити, що виконуючи завдання Юрчук Т.О. використовувала сучасні методи досліджень, а саме: культуральні, радіоімунологічний, волюмометричний, гістохімічний, кріоконсервування, світлова, флуоресцентна та FRET мікроскопії, метод проточної цитофлуориметрії.

Наукова та практична значимість роботи полягаю у тому, що вперше проведено комплексну оцінку впливу факторів кріоконсервування на морфофункціональний стан первинної суспензії ККН та фактично сформовано протокол її кріоконсервування.

В огляді літератури, який викладено на 26 сторінках, висвітлені всі питання, що розглядаються в основній частині роботи. Дисертант докладно розглядає сучасні уявлення про регуляцію стероїдогенезу в ККН, підходи до кріоконсервування наднирників та обґрунтовує вибір кріопротектора та допоміжних компонентів кріозахисного середовища. Автор достатньо висвітлює сучасні методики флуоресцентної мікроскопії для оцінки функціонального стану клітин.

Другий розділ дисертаційної роботи присвячено матеріалам та методам експериментальних досліджень. Схема дослідження позитивно сприяє на розуміння отриманих даних. Цей розділ вказує на те, що автор володіє сучасними методиками, які підходять для рішення поставлених завдань у роботі.

Розділ три складається з п'яти підрозділів и викладено на 58 сторінках.

У підрозділі 3.1 автор досліджує осмотичну поведінку клітин кори наднирників (ККН) за умов інкубації у кріозахисних середовищах на основі ДМСО з вмістом та без вмісту фетальної сироватки та за умов їхнього видалення. Встановлено, що присутність 25 % ФС у складі кріозахисних середовищах на основі ДМСО дозволяє зменшити зміни відносного об'єму ККН в ході інкубації з цими середовищами порівняно з їх станом у середовищах без сироватки. А на етапі видалення сироватковмісних середовищ слід застосовувати відмивальному розчині сироватку у такій же концентрації, що й у кріозахисному (25 %) з метою стабілізації об'єму клітин.

У підрозділах 3.2 та 3.3 автор висвітлює результати дослідження функціонального стану ККН після інкубації у кріозахисних середовищах на основі ДМСО з вмістом сироватки та без, а також після повного циклу

кріоконсервування. Показано, що додавання до кріозахисного середовища ФС у кінцевій концентрації 25 % при вмісті ДМСО 10 – 15 % сприяє збільшенню кількості функціонально активних кріоконсервованих ККН. Крім того показано, що починаючи з етапу інкубації найбільш негативні ефекти на ланки гомонопоезу та життєздатність ККН в цілому зафіксовано у випадку використання кріозахисного середовища з 15 % ДМСО. А використання ФС у складі такого середовища нівелює ці негативні ефекти. Дисертант відмічає цікавий ефект: після кріоконсервуванні ККН у середовищі з концентрацією ДМСО 5% зберігалися клітини з високим рівнем продукції альдостерону.

У підрозділі 3. 4. автор модулює один із факторів кріопошкодження в процесі заморожування-відтавання - дію гіпертонічних розчинів та оцінює при цьому зміну об'єму клітин та об'єму, що займають в них ліпідні краплі. Виявилось, що регідратація ККН з розчинів 0,75 і 1 М NaCl супроводжувалася запізненням відновлення об'єму, що займають ліпідні краплі, у порівнянні з відновленням загального об'єму клітин, що може вплинути на стероїдогенез в цих клітинах.

У останньому підрозділі 3.5 використовуючи такий сучасний метод, як FRET - мікроскопія, було встановлено просторове зближення ліпідних крапель та мітохондрій, де відбуваються ключові реакції гормонпродукції, на відстань ширини фосфоліпідного біслою мембрани цих органел. Це дає підґрунтя для активного синтезу гормонів.

За результатами отриманих даних автором сформульовано 6 висновків, які відповідають поставленим завданням та отриманим результатам.

Автореферат повністю відповідає змісту та дає уявлення про наукову цінність та практичне значення роботи.

Матеріали дисертації опубліковані у 14 роботах, з яких 6 статей у спеціалізованих наукових виданнях, рекомендованих МОН України, 1 стаття у зарубіжному виданні, 7 тез доповідей у збірниках робіт науково-практичних конференцій та з'їздів.

В цілому представлена дисертаційна робота складає добре враження, матеріал викладено логічно та оформлено до існуючих вимог. Звертає увагу використанні сучасні методи досліджень та великий масив експериментальних даних, що були достатньо проаналізовані. Тому роботу загалом оцінюю позитивно, проте необхідно вказати деякі недоліки та запитання:

1. В тексті дисертації є окремі синтаксичні помилки.
2. Мало інформації щодо вибору саме такої концентрації сироватки у складі кріозахисних середовищ (25%).
3. З чим ви пов'язуєте позитивний вплив сироватки на життєздатність клітин та їхню гормонопродукцію у складі середовища з концентрацією ДМСО 10% порівняно з середовищем з такою ж концентрацією кріопротектора без вмісту сироватки?

Вище зазначені недоліки не впливають на загальну значимість роботи.

За актуальністю, поставленими завданнями, новизною, теоретичним та практичним значенням і напрямком досліджень робота Юрчук Т.О. «Вплив факторів кріоконсервування на морфофункціональні властивості клітин кори надниркових залоз щурів» відповідає профілю спеціалізованої вченої ради ІПКіК НАН України та вимогам ДАК України щодо кандидатських дисертацій (п.11 «Порядок присудження наукових ступенів і присвоєння вчених звань»), а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.19 - кріобіологія.

Офіційний опонент,

завідувач кафедри хімії та біохімії

Харківської державної зооветеринарної академії

МАН України

доктор біологічних наук, професор

Жегунов Г. Ф.

Турчак Т.О.
Насалюк Т.А.
в /карт/



Жегунов Г. Ф.
Т.А. Насалюк
Т.О. Турчак