



**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**  
**ХАРКІВСЬКА ДЕРЖАВНА ЗООВЕТЕРИНАРНА АКАДЕМІЯ**

вул. Академічна, 1, смт. Мала Данилівка, Дергачівський район,  
Харківська область, 62341, тел./факс (05763) 5-74-73  
E-mail: [info@hdzva.edu.ua](mailto:info@hdzva.edu.ua) код ЄДРПОУ 00493758

---

**ВІДГУК**

офіційного опонента  
на дисертаційну роботу **Чабаненко Олени Олексіївни**  
за темою **«Реакція еритроцитів ссавців на постгіпертонічний шок і  
видалення кріопротектору після заморожування»**,  
поданої до спеціалізованої вченої ради в  
Інституті проблем кріобіології і кріомедицини НАН України на  
здобуття доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія  
за спеціальністю 091 – Біологія

**Актуальність теми.**

Проблема зберігання життєздатних клітин поза організмом, *in vitro* та *ex vivo*, є актуальною для кріобіології. Для довгострокового зберігання еритроцитів застосовують проникний кріопротектор гліцерин, який необхідно видаляти із розморожених клітин, тому існує питання мінімізації пошкоджень еритроцитів на цьому етапі. Вплив на клітини факторів кріопошкодження, які реалізуються на етапі відігрівання кріоконсервованих клітин, досліджують за допомогою моделі постгіпертонічного шоку. Постгіпертонічний гемоліз еритроцитів відбувається за умов їх перенесення з гіпертонічних розчинів у фізіологічне середовище. На даний час гостро стоїть питання щодо можливої корекції стану еритроцитів ссавців за умов постгіпертонічного шоку та при видаленні гліцерину з розморожених клітин, тому застосування представників різних класів амфіфільних сполук з метою

зниження постгіпертонічного пошкодження еритроцитів за цих умов є своєчасним і актуальним.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.** Робота виконана в рамках відомчих науково-дослідних робіт відділу кріоцитології Інституту проблем кріобіології і кріомедицини НАН України.

**Достовірність і ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації.**

У дисертаційній роботі Чабаненко О.О. мета дослідження сформульована чітко та досягнута завдяки вирішенню поставлених завдань у повному обсязі. Результати є обґрунтованими, бо отримані за допомогою комплексу сучасних методів дослідження, які є адекватними завданням, що розв'язуються, та проаналізовані з використанням значної кількості наукових джерел у відповідному напрямку досліджень. Достовірність отриманих результатів обумовлена достатньою кількістю експериментів та їх ретельною статистичною обробкою. Висновки, зроблені автором, конкретні, логічно витікають з результатів проведених досліджень і повністю відповідають зазначеним завданням роботи, яка є добре спланованим та закінченим дослідженням. Все це підтверджує достовірність і обґрунтованість наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих дисертантом.

**Наукова новизна отриманих результатів.**

Новизна роботи полягає в тому, що в ній *вперше* в порівняльному аспекті досліджена антигемолітична активність амфіфільних сполук, які є представниками катіонних, аніонних і неіонних класів поверхнево-активних речовин, за умов постгіпертонічного шоку еритроцитів ссавців за температури 0°C. *Вперше* проведено тестування стану еритроцитів, що збереглися після сумісної дії постгіпертонічного шоку і досліджуваних амфіфільних сполук, за допомогою нагрівання. Отримані дані істотно доповнюють і поглиблюють існуючі уявлення щодо захисного ефекту амфіфільних сполук.

В дисертаційній роботі представлено *нові результати* щодо чутливості еритроцитів людини до дії постгіпертонічного шоку в присутності гліцерину, а

також при застосуванні комбінованих середовищ (гліцерин і хлорид натрію в різних співвідношеннях, загальна осмоляльність 2370 мОсм/л) на етапі дегідратації.

*Вперше встановлено, що амфіфільні сполуки, які належать до різних класів поверхнево-активних речовин, є ефективними при видаленні гліцерину з розморожених еритроцитів людини, що є обов'язковим етапом кріоконсервування клітин під захистом проникного кріопротектору.*

### **Теоретичне та практичне значення отриманих результатів.**

Теоретичне значення дисертаційної роботи Чабаненко О.О. обумовлено тим, що отримані результати можуть бути використані при розробці загальної теорії кріопошкодження і кріозахисту біологічних об'єктів за умов низькотемпературного консервування. Крім того, слід зазначити, що результати, наведені в роботі, є важливими не тільки для кріобіології, але мають і загальнобіологічне значення.

Практичне значення отриманих результатів полягає в тому, що розроблений підхід спрямованої корекції чутливості еритроцитів до постгіпертонічного шоку із застосуванням амфіфільних сполук може бути використаним для підвищення стійкості клітин за екстремальних умов. Крім того, встановлений факт ефективності амфіфільних сполук (що мають певні фізико-хімічні властивості) на етапі дегліцеринізації розморожених клітин може бути підґрунтям для подальшого пошуку сполук природного походження, які були би ефективними за вищезазначених умов.

### **Структура, обсяг і зміст дисертації.**

Дисертаційна робота викладена на 202 сторінках друкованого тексту (з яких 149 сторінок основної частини). Дисертація містить наступні розділи: анотація, вступ, огляд літератури, опис матеріалів і методів дослідження, 3 розділи власних досліджень і їхнє обговорення, узагальнення, висновки, список використаної літератури та 2 додатків. Список літератури містить 235 джерел, у тому числі 140 зарубіжні, розміщених на 29 сторінках тексту. Робота ілюстрована 14 таблицями і 45 рисунками, з яких 8 – мікрофотографій.

**Вступ** містить всі необхідні складові загальної характеристики роботи: актуальність теми дослідження; зв'язок з науковими програмами, планами, темами; об'єкт і предмет дослідження; наукова новизна; практичне значення отриманих результатів; апробація і публікації матеріалів; об'єм та структура дисертації; чітко і ясно сформульовані мета і завдання дослідження.

В огляді літератури (розділ 1), що складається з 3-х підрозділів, представлено аналіз сучасних літературних даних щодо ролі природного кріопротектору гліцерину для кріоконсервування еритроцитів, розглядається явище постгіпертонічного шоку клітин в історичному аспекті і аналізуються інформація щодо особливостей амфіфільних сполук і їх використання в якості антигемолітичних агентів. Автором вивчені і аналізуються відомі досягнення і теоретичні положення інших авторів з питань, що досліджуються. Огляд літератури написаний ґрунтовно і являє собою докладний аналіз різних аспектів досліджуваної проблеми.

**Другий розділ** дисертаційної роботи детально висвітлює матеріали й методи дослідження, містить схеми експериментів. Зазначається відповідність проведеного експериментального дослідження діючому законодавству України, вітчизняним та міжнародним біоетичним нормам. Автором описано використані методи щодо оцінки постгіпертонічного гемолізу еритроцитів за допомогою спектрофотометрії, дослідження морфології еритроцитів методом світлової мікроскопії, визначення порушення асиметрії мембран еритроцитів методом проточної цитофлуорометрії, метод кріоконсервування еритроцитів людини, а також представлено застосовані методи статистичного аналізу результатів. Слід зазначити, що автором вдало обрано як біологічну систему – еритроцити різних видів ссавців: людини, кролика та щура, так і хімічні сполуки з метою оцінки їх ефективності за умов постгіпертонічного шоку еритроцитів.

**Результати власних досліджень та їх обговорення** викладені в 3-х розділах (розділ 3-5), наприкінці кожного з них подано перелік відповідних публікацій здобувача.

**Третій розділ** складається з трьох підрозділів. У ньому наведено отримані результати щодо ефективності амфіфільних сполук (хлорпромазин, трифторперазин, децилсульфат натрію, децил- $\beta$ ,D-глюкопіранозид) за умов постгіпертонічного шоку еритроцитів людини, кролика та щура. Подано експериментальні результати щодо оцінки (за допомогою нагрівання) стану еритроцитів, що збереглися після сумісної дії постгіпертонічного шоку і різних амфіфільних сполук. При цьому автор використовує два методи дослідження: спектрофотометричний і метод світлової мікроскопії.

Слід звернути увагу на проведений порівняльний аналіз ефективності амфіфільних сполук із різними фізико-хімічними властивостями. Крім того, ефективність амфіфільних сполук оцінюється по відношенню до еритроцитів різних видів ссавців, еритроцитарні мембрани яких мають певні відмінності.

**Четвертий розділ** містить два підрозділи і охоплює результати дослідження впливу гліцерину на постгіпертонічний шок еритроцитів людини. Аналіз часових, температурних і концентраційних залежностей постгіпертонічного гемолізу еритроцитів людини дозволив зробити висновок щодо визначальної ролі етапу дегідратації і значного внеску низької температури та високої концентрації гліцерину в розвиток пошкодження клітин за умов постгіпертонічного шоку.

**П'ятий розділ** є найбільш значущим для практичної кріобіології розділом та присвячений дослідженню ефективності амфіфільних сполук (трифторперазин, децилсульфат натрію та децил- $\beta$ ,D-глюкопіранозид) за умов дегліцеринізації еритроцитів людини, попередньо заморожених до  $-196^{\circ}\text{C}$  під захистом гліцерину (15%). Встановлено, що неіонний децил- $\beta$ ,D-глюкопіранозид є найбільш ефективним серед всіх досліджуваних амфіфільних сполук.

У розділі **узагальнення та обговорення результатів** автором зроблено ретельний аналіз отриманих результатів і логічний підсумок проведених досліджень. Роботу завершують **висновки**, які в повній мірі відповідають

поставленій меті та завданням роботи та впливають із результатів проведених досліджень.

**Список використаних джерел** відповідає вимогам з оформлення дисертацій. Наприкінці роботи приведено два додатки, які містять список публікацій здобувача за темою дисертації та відомості про апробацію результатів дисертації. У цілому, виклад власних досліджень, їхнє обговорення й висновки свідчать про широкий кругозір дисертантки.

#### **Повнота викладення результатів в опублікованих наукових працях.**

Основні результати дисертації опубліковані в друкованих роботах, вони неодноразово обговорювалися на різних конференціях і симпозіумах та отримали схвалення провідних фахівців.

Матеріали дисертації у повному обсязі викладені в 23 працях, з них 6 статей у фахових наукових виданнях України (2 з яких входить до міжнародної наукометричної бази даних Scopus), 3 статті у збірниках матеріалів науково-практичних конференцій, опубліковано 14 тез доповідей.

#### **Зауваження та запитання щодо оформлення та змісту дисертації.**

Принципових недоліків у змісті та оформленні дисертації не виявлено.

*Зауваження рекомендаційного характеру.* В роботі виявлена ефективність амфіфільних сполук за умов постгіпертонічного шоку еритроцитів при температурі 0°C на відміну від 37°C. Було би доцільним провести дослідження антигемолітичної активності цих речовин в усьому температурному діапазоні 0 – 37°C.

#### **Прошу відповісти на наступні запитання:**

1. Чим обґрунтований вибір саме цих ссавців для досліджень?
2. Чи будуть амфіфільні сполуки проявляти ефективність за умов постгіпертонічного шоку еритроцитів інших видів тварин?
3. Чи будуть амфіфільні сполуки проявляти антигемолітичну активність за використання інших кріопротекторів?

4. Зазвичай в експериментальних роботах результати представлені як середнє арифметичне значення кількісних показників. Ви в роботі переважно представляєте результати у вигляді медіани. Чому?

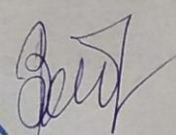
**Загальні висновки.**

На підставі проведеного аналізу вважаю, що подана до захисту дисертаційна робота Чабаненко Олени Олексіївни за темою «Реакція еритроцитів ссавців на постгіпертонічний шок і видалення кріопротектору після заморожування» є завершеною науково-дослідною роботою, в якій вирішені поставлені наукові завдання. На підставі проведених досліджень отримано результати, які є суттєвим авторським внеском у вирішення наукової проблеми. Наукові положення, висновки та рекомендації обґрунтовані та аргументовані, містять елементи наукової новизни та пройшли необхідну апробацію на науково-практичних конференціях.

Зміст, структура та оформлення дисертаційної роботи відповідає галузі знань 09 – Біологія, спеціальності 091 – Біологія, вимогам Наказу Міністерства освіти і науки України «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» від 12.01.2017 р. №40 та «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 29.10.2020 р. №167 (зі змінами). Автор дисертаційної роботи Чабаненко Олена Олексіївна на основі публічного захисту заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія.

**Офіційний опонент:**

кандидат біологічних наук,  
доцент кафедри нормальної та  
патологічної фізіології тварин  
Харківської державної  
зооветеринарної академії

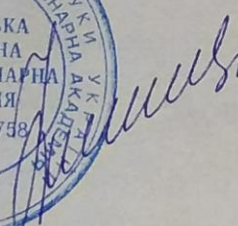


Л.А. Водоп'янова

Підпис Водоп'янової Л.А.  
начальник відділу кадрів



Засвідчую



І.М. Москаленко