

ВІДЗИВ

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Баранник Мар'яни Олександрівни** «Вплив фізико-хімічних чинників середовища на міжклітинну адгезію лактобактерій *Streptococcus Thermophilus* та еритроцитів людини», поданої на здобуття наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика.

Робота Баранник М.О. присвячена дослідженню міжклітинної взаємодії при адгезії лактобактерій на еритроцитів та впливу на цей процес рН середовища, концентрації катіонів (Na^+ , Ca^+ Mg^+) і температури. Еритроцити є добре відомою моделлю клітини, де мембрана дає вагомий внесок в клітинні компоненти та подібна до мембран багатьох клітин. Тому отримані результати можуть бути адаптовані на інші клітини і це є важливим кроком в запобіганні розвитку онкологічних, інфекційних та інших захворювань. Крім того, **актуальність** цього дослідження щодо еритроцитів як суттєвого компоненту крові людини, полягає у вагомому внеску в нові кріотехнології при зберіганні крові. Про **актуальність** роботи свідчить також її зв'язок з планами науково-дослідних робіт кафедри молекулярної та медичної біофізики Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна за темами: «Дослідження взаємодії наночастинок і біологічно активних речовин з біооб'єктами в умовах дії пошкоджуючих факторів», номер держреєстрації 0111U002464, 2011-2012 рр.; «Структурні перебудови біомакромолекул і клітин при взаємодії з наночастинками і біологічно активними речовинами», номер держреєстрації 0112U006963, 2013-2014 рр.

У відповідності до вимог робота складається з вступу, п'яти розділів, висновків, списку використаних джерел.

У вступі наведено всі необхідні формальні відомості.

У першому розділі детально подається стан проблеми та літературні дані про механізми адгезії клітин. Основна увага приділена теорії Дерягіна-Ландау-Фервея-Овербека, що описує так звану I стадію адгезії клітин та чинники, що обумовлюють взаємодію між бактеріями. Друга стадія клітинної взаємодії при адгезії розглядає конкретні рецептори клітин, що приймають участь у клітинній взаємодії. Описано бактеріофіксуючу здатність еритроцитів та поставлено задачі для розв'язання.

У другому розділі описано методи дослідження та надано характеристику використаних матеріалів та клітин. В дослідженнях використано такі клітини-еритроцити донорської крові в консервуючому розчині «Глюгіцир», лактобактерії *S. thermophilus* з бактеріальної закваски «Йогурт VIVO». При розробці режимів кріоконсервування використовували кріопротекторний розчин «Пропандіосахароль», поліетиленоксид 1500 (ПЕО-1500), гліцерин

(консервуючий розчин “ЦНИИГПК №114”). Концентрацію клітин підраховували в камері Горяєва. Поверхневий заряд оцінювали за допомогою барвника альціанового синього (АС). В роботі використано мікроскоп Axio Observer Z1 та спектрометр “Unicom SP 800”. Розрахунки поверхневого потенціалу еритроцитів та концентрації катіонів проведено за рівнянням Пуасона-Больцмана та рівнянням Грема. Сила електростатичної взаємодії між поверхнями клітин вираховувалась у наближенні малих потенціалів.

У третьому розділі представлено результати досліджень впливу рН середовища, та концентрації катіонів на взаємодію лактобактерій та еритроцитів. Максимальну адгезію для одновалентних катіонів отримано за фізіологічних умов при рН =7.4. При цьому цей показник мінімальний в середовищі з найменшою іонною силою і деякій оптимальній концентрації електроліту. Поява в розчині двовалентних іонів Ca^{2+} та Mg^{2+} зменшує адгезію в 2 рази і цей показник не змінюється при фізіологічних умовах, незалежно від типу іонів. Результати подальших досліджень показали, що рецептори не є Ca- або Mg- залежними.

У четвертому розділі вивчено вплив рН, іонної сили та концентрації двовалентних іонів на поверхневий заряд еритроцитів та лактобактерій. Для цього було використано катіони барвника АС. Спочатку було показано, що катіонний барвник не змінює поверхневий заряд еритроцитів в певних межах рН (5.8-8.0) та іонній силі (0.15-0.025 NaCl). Введення іонів (Ca^{2+}) призводить до зменшення зв'язаного еритроцитами АС і не змінювалось для лактобактерій. В той же час додавання Mg^{2+} не змінювало кількості зв'язаного еритроцитами барвника, а для лактобактерій кількість зв'язаного барвника зменшувалась. Тобто, якщо іони (Ca^{2+}) впливають на поверхневий заряд еритроцитів і не змінюють його у лактобактерій, то іони (Mg^{2+}) діють протилежно. Далі було розраховано поверхневі потенціали та дебаєвські радіуси еритроцитів в розчинах з різною концентрацією NaCl, та NaCl +CaCl₂, дані порівняно з експериментом. Отримано, що дебаєвський радіус еритроцита змінюється в даних розчинах несуттєво, при чом найбільше змінюється поверхневий потенціал клітини та концентрація кальцію біля поверхні. Робиться висновок, що визначальну роль в міжклітинному зв'язку відіграють електростатичні взаємодії.

П'ятий розділ присвячений впливу режимів кріоконсервації еритроцитів на їх поверхневий заряд. Визначено кращі режими консервації та параметри, за якими можна оцінювати збереження поверхневих властивостей клітин крові після відтаювання. Таким параметром визнано поверхневий потенціал, що характеризує здатність клітини до адгезії, а найкращим консервантом виявився ПЕО-1500.

У цілому робота виконана на високому науковому рівні з застосуванням нових оптичних приладів та свідчить про високий фаховий рівень здобувача. Основні результати є **новими** і вперше отриманими. Матеріали опубліковані в міжнародних журналах та доповідались на міжнародних конференціях.

Всі наукові положення та висновки є **обґрунтованими** завдяки повноті отриманих експериментальних та теоретичних даних та порівнянню з результатами інших досліджень.

Достовірність результатів не викликає сумніву оскільки вони отримані з використанням надійних експериментальних методик, ретельно оброблені та проаналізовані.

Текст дисертації та автореферат добре написані, гарно проілюстровані. **Автореферат** вірно відображає зміст дисертації. Основні результати, що наведено у роботі, вчасно і повністю опубліковано в 7 статтях у фахових вітчизняних та міжнародних журналах, частина з яких індексується базою даних Scopus та 16 тезах доповідей. Робота пройшла **апробацію** на міжнародних наукових конференціях.

Разом з тим, робота не позбавлена деяких **недоліків**:

1) В роботі проведена класифікація сил, з якою не можна погодитись. Так, введення сил «третього роду», (стор.23, 65 тощо дисертації) або структурних сил, які потім називаються гідратаційними (стор 27 дис), сил структурного відштовхування(стор.61дис.), виділення окремо осцилюючих сольватаційних сил (стор.25 дис.) тільки ускладнюють розуміння процесів взаємодії між клітинами і нічого нового не вносять в природу фізичних взаємодій. У всіх випадках йдеться про електростатичні сили, часто у взаємодіях приймає участь водневе зв'язування, де крім електростатичних діють дисперсійні сили. І більше ніяких нових сил там не має. Треба додати, що автором все ж таки був зроблений висновок наприкінці 5 розділу що визначальними є електростатичні взаємодії у міжклітинному зв'язку.

2) Оптична густина (стор. 47, 49, дис..10 автореферату) називається оптичною щільністю.

3) Табл.4 автореферату містить некоректний підпис, все ж таки показник адгезії, який є основним, бажано згадати в назві.

4) Термін «дальній мінімум» (стор12 автореферату, тощо) не є зрозумілим.

5) Не зрозуміло значення коефіцієнту «24» у формулі 3.2 в порівнянні з коефіцієнтом «8» в формулі 3.1 дисертації.

Але наведені зауваження не впливають на **загальну позитивну оцінку** дисертаційної роботи у цілому. Дисертаційна робота Баранник Мар'яни Олександрівни «Вплив фізико-хімічних чинників середовища на міжклітинну адгезію лактобактерій *Streptococcus Thermophilus* та еритроцитів людини» є **завершеною науковою працею**, в якій отримано нові науково обґрунтовані результати, що в сукупності вирішують науково-прикладну задачу взаємодії клітин при адгезії.

За обсягом проведених досліджень, якістю, новизною і практичною цінністю отриманих результатів дисертаційна робота Баранник Мар'яни Олександрівни повністю задовольняє вимогам ДАК України щодо кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата фізико-математичних наук за спеціальністю 03.00.02 – біофізика

провідний науковий співробітник
відділу фізики біологічних систем Інституту фізики НАН України,
доктор фізико-математичних наук,
професор,



Г.І. Довбешко

Підпис проф. Довбешко Г.І. засвідчую:

