

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Лупак Мар'яни Ігорівни **“Молекулярні механізми анти діабетичної дії екстракту галеги лікарської (*Galega officinalis L.*)”** що подається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія

Актуальність теми.

Дисертаційна робота Лупак М. І. присвячена актуальній медико-біологічній проблемі – пошуку ефективних методів лікування діабету. Відомо, що захворювання на діабет за останні десятиліття набуло епідемічних показників і продовжує зростати. Цукровий діабет обох типів є причиною смерті понад 3 млн людей на рік і займає 3 місце за цим показником серед інших захворювань, що робить його одним із найбільш гострих медико-соціальних проблем сучасності.

Головним чином, висока смертність хворих на цукровий діабет зумовлена не стільки самим діабетом, як цілою низкою ускладнень, які супроводжують це захворювання. До таких ускладнень належать інфаркти, інсульти, ретинопатія, нефропатія, нейропатія, а також різні види діабетичних ком.

Згідно сучасних уявлень, в основі виникнення та розвитку ускладнень цукрового діабету обох типів лежить ряд патологічних процесів тісно пов’язаних з гіперглікемією. До таких процесів відноситься надпродукція супероксид-аніону, який прямим і опосередкованим шляхом (через інтермедіати) запускає каскад процесів, що призводять до порушень метаболізму клітини. Отримані на сьогодні експериментальні дані вказують на те, що крім вищезгаданих механізмів у розвиток діабетичних процесів також залучені регуляторні системи за участю NAD(P)H-оксидаз, синтезу і утилізації оксиду азоту, транскрипційні фактори, сигнальні протеїнкінази, та інші фактори регуляції клітинної активності.

Пошук чинників, здатних впливати на всі означені ланки патогенезу діабету є важливою умовою для створення ефективних лікарських засобів.

Препарати рослинного походження (фітопрепарати), компоненти яких здатні комплексно впливати на якомога більше процесів, залучених у розвиток діабету і діабетичних ускладнень привертають увагу. Перспективним джерелом для отримання фітопрепаратів для лікування діабету слугує галега лікарська. Хоча ця рослина широко використовується в народній медицині, високий вміст алколоїдів суттєво обмежує її використання в терапії діабету.

Раніше на кафедрі біохімії ЛНУ ім. І.Я. Франка був розроблений метод отримання безалкалоїдної фракція з галеги лікарської, збагачену компонентами, що мають високу цукрознижувальну і антиоксидантну дію і не є токсичними у високих концентрація.

Метою дисертаційної роботи було дослідити біохімічні ефекти дії безалкалоїдного екстракту галеги лікарської на структурно-функціональний стан лейкоцитів крові та клітин підшлункової залози щурів за стрептозотоцин-індукованого цукрового діабету.

Наукова новизна дослідження та одержаних результатів, ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Робота ґрунтуються на значному за обсягом експериментальному матеріалі, виконана на сучасному науковому та методичному рівні з використанням сучасних методів досліджень. За допомогою нетоксичних бактерійних поверхнево-активних сполук, дисертантом було отримано стійку емульсію біологічно-активних компонентів галеги лікарської (E^{ps}). Методом газової хроматоспектрометрії визначено компонентний склад E^{ps} та виявлено 31 сполуку із яких ідентифіковано 26. З'ясовано, що отримана субстанція складається головним чином із жирних кислот та їх естерів (64%). До складу E^{ps} також входять в значній кількості фітостероли, ди- та три терпени, флавоноїди.

Лупак М.І., було показано, що парентеральне введення щурам E^{ps} за умов стрептозотоцин-індукованого діабету призводе до значного зниження рівня глюкози та підвищення концентрації інсуліну та С-пептиду в крові. Встановлено, що цей фітопрепарат володіє також вираженою антиоксидантною активністю і характеризується здатністю знижувати рівень апоптичних лімфоцитів на фоні зростання вмісту ФНП-альфа в крові тварин за експериментального цукрового діабету (ЕЦД). Цікаво, що E^{ps} має здатність пригнічувати проліферацію та диференціацію клітин-попередників лімфоцитів в кістковому мозку піддослідних тварин. Автором роботи було показано, що введення E^{ps} хворим на діабет тваринам впливає на полімеризацію актину в лімфоцитах в напрямку зростання вмісту коротких філаментів актину. Це вказує на корегуючи дію цього фітопрепаратору на рухливість лімфоцитів.

Практичне значення одержаних результатів. Дисертантом розроблено спосіб отримання фітопрепаратору на основі безалкалоїдної фракції екстракту галеги лікарської. Комплексні дослідження біологічних ефектів цього препарату на лімфоцити та бета-клітини підшлункової залози здорових щурів та тварин з ЕЦД показали його антidiабетичну дію. Результати досліджень

можуть слугувати основою для розробки комбінованого методу лікування діабету 1-го і 2-го типів.

Повнота викладу результатів у наукових публікаціях. Аналізуючи структуру рецензованої роботи, потрібно зазначити, що вона повністю відповідає вимогам ДАК МОН України. Робота написана літературною мовою, ілюстрації добре оформлені. Результати проведених автором досліджень повністю відображені у публікаціях.

Зміст автoreферату відображає структуру і основні положення дисертації.

Одержані результати апробовані на міжнародних та національних конгресах, з'їздах, симпозіумах, конференціях і опубліковані в 12 наукових працях, з яких 6 статті у фахових наукових журналах і 6 тез доповідей у матеріалах наукових з'їздів, конференцій та конгресів.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається із вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів досліджень, обговорення результатів досліджень, а також із висновків, і списку використаних літературних джерел. Дисиратацію викладено на 150 сторінках машинописного тексту і проілюстровано 26 рисунками та 7 таблицями. Список літератури складається із 150 процитованих джерел. Автoreферат дисертації за змістом відповідає основним положенням дисертації.

Окремі дискусійні питання і зауваження до дисертації.

Оцінюючи в загальному позитивно рецензовану роботу, у мене до неї є деякі зауваження:

1. Розділ “огляд літератури” бажано доповнити літературними даними щодо автоімунного походження діабету 1-го типу.
2. В дисертації не досить чітко висвітлено, що саме означає “стабілізація” безалколоїдного екстракту гелеги лікарської поверхнево-активними речовинами *Pseudomonas sp*. Це є: а) довготривале збереження анти-діабетичної активності компонентів екстракту рослини? б) утворення стабільних емульсій, придатних для більш тривалого використання?
3. Яка тривалість гіпоглікемічної і антиоксидантної дії на щурів з ЕЦД за умов одноразового введення, ще нетоксичної дози фітопрепарату? Це важливо для рекомендацій щодо подальшого терапевтичного використання цього фітопрепарату.
4. На мою думку, для більшої достовірності щодо вмісту про-апоптичних (p53) та анти-апоптичних (Bcl-2) білків в лімфоцитах щурів за умов ЕЦД окрім

- імуноцитохімічний аналізу було б варто також використати Вестерн-блот аналіз.
5. З рис.3.20 (сторінка 103) не зрозуміло чим саме між собою відрізняються різні форми актину у лейкоцитах щурів в нормі та за умов ЕЦД? Якщо молекулярною масою, то наскільки?
 6. В роботі також є певні неточності і невдалі вирази: “скавенжерування”, (нейтралізація); “кров – біологічна рідина” (кров, це тканина), і т.д.

Однак, зазначені зауваження не є принциповими. Вони не зменшують вартості роботи і не впливають на загальну позитивну її оцінку.

Висновок. Враховуючи все вищесказане, вважаю, що дисертаційна робота “Молекулярні механізми антидіабетичної дії екстракту галеги лікарської (*Galega officinalis L.*)” присвячена важливій науковій і практичній проблемі, представляє собою завершену наукову працю, що за актуальністю проблеми, теоретичним рівнем, методичним забезпеченням, науковою новизною та практичним значенням результатів досліджень відповідає вимогам п. 13 та п. 14 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 07.03.2007 року №423 (зі змінами), які висуваються до кандидатських дисертацій, а її автор, Лупак Мар'яна Ігорівна, заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія.

Старший науковий співробітник
відділу регуляції проліферації клітин і апоптозу
Інституту біології клітини НАН України
доктор біол. наук

Кот Ю.Я.



Підпис Кота Ю.Я. засвідчує:
Вчений секретар,
канд.біол.наук

Барська М.А.

18 січня 2016 р.