

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу О.В. Горбулінської «Біохімічні зміни в клітинах крові щурів за умов введення екстрактів та суспензій якона (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl.) за цукрового діабету 1-го типу» на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04– біохімія

Актуальність теми

На сьогоднішній день механізмам розвитку, діагностики та лікування цукрового діабету першого типу як за умов експерименту, так і клініки присвячено значну кількість наукових досліджень.

Відомо, що у розвиток цукрового діабету супроводжується розвитком нітросо-оксидативного стресу у різних клітинах та органах внаслідок гіперглікемії. Тому серед ключових напрямків досліджень цукрового діабету є пошук та визначення гіпоглікемічної дії різних речовин, в тому числі, рослинного походження. У зв'язку з цим, у дисертаційній роботі досліджувався вплив екстрактів та суспензій якона (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl.) на цитологічні та біохімічні показники периферичної крові та формених елементів (еритроцитів та лейкоцитів) за умов експериментального цукрового діабету першого типу (ЕЦД-1).

Вибір досліджуваної рослинної сировина – якону було обмовлено тим, що він є джерелом біологічно активних речовин, серед яких виявлені інулін, поліфеноли та амінокислота триптофан, які володіють цукрознижуючими та антиоксидантними властивостями. Вивчення впливу екстрактів та суспензій якона на рівень глюкози та біохімічні і цитологічні показники формених елементів у крові за умов цукрового діабету першого типу визначає актуальність проведених досліджень.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації



Наукові положення, висновки та рекомендації, що сформульовані автором у дисертації базуються на сучасному методологічному підході та експериментальних даних, одержаних з дотриманням вимог до утримування тварин, роботи з клітинами крові, на відповідній кількості повторностей в експериментах проведених на щурах. Кількість використаних тварин при проведенні досліджень було достатнім (280 тварин), кожна серія досліджень налічувала 4-8 тварин. Дослідження проведені згідно прийнятих етичних норм. Для обґрунтування поставлених завдань та обговорення автор використала 349 найменувань наукових джерел.

Моделювання експериментального цукрового діабету проводили шляхом одноразового введення розчину стрептозотоцина у дозі 5,5 мг/кг. Автор використала рослинну сировину якона, що була вирощена у Київській області і представила її характеристику. Описані етапи отримання екстрактів і суспензії та обґрунтовані використані дози отриманих препаратів (70 та 500 мг/кг).

Визначення дії екстрактів листя та кореневих бульб було проведено у шести серіях досліджень контрольних тварин та шести серіях тварин, яким моделювали ЕЦД-1.

Основні наукові положення базуються на вивченні дії водних екстрактів надземної (листя, черешки, стебла) та кореневої (кореневі бульби та шкірки корневих бульб) частин якона та встановлено, що найбільш виражену гіпоглікемічну дію виявляють водні екстракти листків і корневих бульб якона. При цьому автор розробила методику отримання екстрактів листя і корневих бульб якона та суспензій корневих бульб якона.

Дисертантом вперше розроблено спосіб стабілізації суспензії корневих бульб якона за допомогою біоПАР PS, що є підґрунтям для створення функціонального харчового продукту з гіпоглікемічною та антиоксидантною дією. Автором доведено, що за умов експериментального діабету найбільш виражена гіпоглікемічна дія притаманна водним

екстрактам у вищій досліджуваній концентрації та стабілізованій формі суспензії.

Визначено, що досліджувані водні екстракти якона (у дозі 500 мг/кг) у стабілізованій формі суспензії за умов ЕЦД 1-го типу виявляють позитивний коригувальний ефект на систему еритрону, зменшуючи кількість та добову продукцію ретикулоцитів, стабілізуючи фізико-хімічний стан мембран еритроцитів. Доведено, що дія водних екстрактів та суспензій якона має виражений антиоксидантний вплив в еритроцитах та лейкоцитах, знижують вміст фрагментованої ДНК та нормалізують співвідношення вмісту білків p53 та Bcl-2 у лейкоцитах, проявляють нормалізувальний вплив на вміст окремих глікокон'югатів у складі глікокаліксу лейкоцитів та еритроцитів за умов ЕЦД 1.

Доведено нормалізувальний вплив досліджуваних екстрактів та суспензій на функціональні властивості лейкоцитів (фагоцитарна активність, вміст катіонних білків, мієлопероксидазна активність та НАДФН-оксидазна активність нейтрофілів) у тварин з ЕЦД.

Отримані дисертантом результати доповнюють і поглиблюють уявлення про біохімічні механізми впливу водних екстрактів листя і корневих бульб та суспензії корневих бульб якона на морфофункціональний стан клітин крові за умов ЕЦД 1-го типу.

Отже, наукові положення, висновки та рекомендації є обґрунтованими та базуються на достатній кількості проведених визначень, їх аналізі та статистичній обробці, що дає змогу вважати їх обґрунтованими та достовірними.

Стосовно структури дисертації, то рукопис побудований згідно сучасних вимог і складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел та додатків. Дисертацію викладено на 207 сторінках друкованого тексту. Список використаних джерел складає 349 найменувань.

Дисертаційна робота написана згідно існуючих вимог і У «Вступі»

автор обґрунтовує актуальність власного дослідження. Сформульовані завдання повністю відповідають поставленій меті і розкривають її. Перелік положень, які мають наукову новизну та практичне значення, відповідає суті виконаної роботи.

Розділ I «Огляд літератури» складається з 5 підрозділів, у яких містяться фундаментальні відомості про сучасні аспекти патогенезу цукрового діабету першого типу, дані щодо біохімічних та структурно-функціональних порушеннях клітин крові за умов цукрового діабету, наведена інформація щодо глікопротеїнів плазматичної мембрани еритроцитів і лейкоцитів, а також біохімічні механізми гіпоглікемічної дії лікарських рослин та обґрунтована актуальність біохімічного дослідження препаратів з рослини якона. Достатня кількість посилань, наведених в огляді літератури, окреслює сучасний стан проблеми і переконує у необхідності та важливості проведення даного дослідження.

Розділ II «Матеріали та методи досліджень» включає інформацію щодо методичного підходу, використаних методик та об'єктів дослідження. Об'єктом дослідження були: кров, еритроцити та лейкоцити щурів з ЕЦД-1. Також дисертантом проведений якісний та кількісний аналіз корневих бульб якона. Використані автором методи досліджень відповідають поставленим завданням досліджень, є апробованими та дозволили реалізувати поставлені завдання. Отримані результати оброблені статистично згідно існуючих вимог.

Розділ III «Результати та їх обговорення» складається з десяти логічно структурованих підрозділів з результатами отриманими у експериментах. Отримані результати представлені описово, у вигляді таблиць та рисунків. У кінці кожного підрозділу є його узагальнення та вказано у яких працях опублікований отриманий матеріал.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів досліджень» кваліфіковано та аргументовано проведено обговорення основних результатів, пояснюються нові аспекти оксидативних механізмів у клітинах

крові та оцінюється вплив екстрактів та суспензій якона за умов цукрового діабету першого типу. Загалом розділ написаний аналітично і підкреслює високий фаховий рівень автора.

За результатами дисертаційної роботи О. В. Горбулінської зроблено 6 висновків, які логічно випливають із одержаних даних, науково обґрунтовані, повністю відображають отримані результати.

Практична значимість результатів досліджень

Практичне значення роботи полягає у відкритті перспективи розробки функціональних харчових продуктів до складу яких можуть входити природні фруктоолігосахариди і поліфеноли, комплекси яких дозволять уникнути шкідливих ефектів гіперглікемії за умов ЕЦД-1. Розроблени спосіб стабілізації суспензії кореневих бульб якона за допомогою біоПАР PS (патент на винахід UA 112625) може бути основою для створення функціонального харчового продукту з гіпоглікемічною та антиоксидантною дією.

Одержані в роботі результати та окремі методичні підходи можуть бути використати як у науковій практиці, так і в навчальному процесі.

Достовірність і новизна наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, в опублікованих працях

Отримані результати статистично опрацьовані автором з використанням t – критерію Стюдента за допомогою програми Microsoft Excel XP та подані у вигляді $M \pm m$. За отриманими результатами створені 31 рисунок та 21 таблиця. Враховуючи наявність вирогідних змін були сформовані наукові положення, рекомендації та висновки, які були опубліковані автором.

Повнота викладу наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, в опублікованих працях

Результати проведених автором досліджень викладені у 18 наукових працях, з яких 5 статей опубліковані у спеціалізованих фахових виданнях (3 з яких входять до наукометричних баз даних) та 12 тезах доповідей.

Одержані експериментальні дані широко апробовані на міжнародних і вітчизняних наукових конференціях і з'їздах – 3 республіканських, 7 міжнародних конференціях, XI Українському біохімічному конгресі, а також на семінарах кафедри біохімії та щорічних звітних конференціях біологічного факультету університету імені І.Франка. За результатами досліджень отриманий патент на винахід.

Автореферат дисертаційної роботи оформлено згідно вимог ДАК України, відповідає її змісту та повно висвітлює результати та основні наукові положення дисертаційної роботи.

Зауваження та запитання щодо змісту дисертації та автореферату

Зауваження:

1. Занадто деталізовані підрозділи огляду літератури, що можна було не робити.
2. Не було потреби детально описувати підрахунок формених елементів крові (еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів), так як була застосована традиційна методика.
3. У огляді літератури бажано було б показати зміни вмісту різних маркерів оксидативного стресу за умов цукрового діабету першого типу отриманих різними авторами, а не їх роль у розвитку оксидативних процесів.
4. Рис. 1.1 – якщо він модифікований автором, то має бути у підпису посилання на джерело.
5. Рис. 2.1. – у таблиці по схемі проведення експериментів відсутня інформація по кількості тварин у кожній серії.
6. Не вказано у чому розводили стрептозотонин та посилання на авторів, які використовували цю дозу для моделювання цукрового діабету.
7. Не вказаний спосіб евтаназії тварин.
8. Не вказано об'єм розчинів екстрактів та суспензій, що вводились *per os*.
9. У висновках бажано відзначити по конкретним результатам їх достовірність.

10. У тексті зустрічаються граматичні неточності.

Запитання:

1. Відомо, що рівень активності мієлопероксидази є одним з маркерів запального процесу. Чим обумовлено те, що Вами досліджувалась мієлопероксидазна активність нейтрофілів і не визначалась активність мієлопероксидази у крові за умов цукрового діабету та дії суспензій якона?

2. Який зв'язок між змінами рівня фрагментації ДНК та мієлопероксидазною активністю лейкоцитів за умов цукрового діабету?

3. Як Ви пояснюєте гіпоглікемічну дію екстрактів якона враховуючи ступінь руйнування β -клітин підшлункової залози?

4. Чому на Вашу думку екстракти якона у дозі 500 мг/кг у тварин з однієї сторони підвищують рівень глюкози (у тварин контрольної групи). А з другої за умов цукрового діабету – знижують?

5. Чим обумовлено зростання кількості гемоглобіну у еритроцитах за умов введення екстрактів листя та кореня бульб якона, при цьому кількість еритроцитів суттєво не змінювалась.

6. Чим обумовлено різке зниження процесів ПОЛ (у два рази) без суттєвих змін активності СОД, каталази та глутатіонпероксидази у тварин контрольної групи при введенні досліджуваних екстрактів та суспензій якона?

Однак, всі зазначені зауваження не зменшують цінності роботи і не впливають на загальну позитивну оцінку.

Висновок

Враховуючи все сказане вище, вважаю, що дисертаційна робота О.В. Горбулінської «Біохімічні зміни в клітинах крові щурів за умов введення екстрактів та суспензій якона (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & endl.) за цукрового діабету 1-го типу» присвячена важливій науковій і практичній проблемі, є завершеною науковою працею, що за актуальністю проблеми, теоретичним рівнем, науковою новизною та практичним значенням результатів досліджень відповідає вимогам до кандидатських дисертацій п.11

«Положення про присудження наукових ступенів та присвоєння звання старшого наукового співробітника», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України 24.07.2013 р., а її автор заслуговує присудження їй наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04. – біохімія.

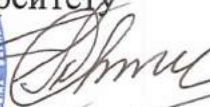
Завідувач кафедри біологічної хімії
Львівського національного медичного університету
імені Данила Галицького,
доктор медичних наук,
професор



Склярів О.Я.

Підпис професора Склярів О.Я. завіряю.

Вчений секретар
Львівського національного медичного університету
імені Данила Галицького



Ягело С.П.