

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Сушко Ольги Олександрівни «**Метаболічні процеси в організмі щурів за дії цитратів ванадію та хрому на тлі експериментального цукрового діабету**», подану на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04–біохімія

Актуальність теми.

Вміст макро- та мікроелементів як частина показників гомеостазу відіграє важливу роль у регуляції діяльності всіх систем організму. Біологічне значення хімічних елементів розкривається на всіх рівнях життєдіяльності: молекулярному, субклітинному, клітинному, тканинному та на рівні цілого організму. Воно полягає у тому, що елементи активують більшість ферментативних систем організму, стимулюють процеси тканинного дихання, кровотворення, імунні реакції, синтез біологічно активних речовин, а також коригують рівень вільно радикальних процесів в організмі. Серед усіх мікроелементів в особливу групу виділяють есенціальні або, іншими словами, незамінні мікроелементи, адже вони надходять в організм лише екзогенно, а їхня наявність в організмі зумовлює нормальну життєдіяльність. За умов їхньої відсутності відбуваються негативні зміни в організмі, а після надходження необхідного елемента ознаки дефіциту зникають і організм може далі нормально функціонувати. До числа цих елементів якраз і належать Хром (Cr) і Ванадій (V).

Серед численних біохімічних ефектів Cr^{3+} найважливішим є взаємодія мікроелемента з молекулою інсуліну в ході ампліфікації гормонального сигналу. Посилення дії інсуліну відбувається без зміни кількості самого гормону і залежить від вмісту Cr^{3+} . У клітині чотири атоми Cr^{3+} формують комплекс із олігопептидом апохромомодуліном, утворюючи хромомодулін, який взаємодіє із внутрішньоклітинною частиною активованого рецептора інсуліну (тирозинкіназою), підсилюючи ефект його дії.

Важлива роль хрому також полягає в регуляції вуглеводного обміну, оскільки Cr^{3+} є компонентом низькомолекулярного органічного комплексу — фактора толерантності до глюкози (glucose tolerance factor — GTF).

Характеризуючи біологічні ефекти Ванадію, потрібно наголосити на тому, що він має відношення до зниження рівня холестерину за рахунок пригнічення його синтезу в клітинах печінки та зниження вмісту ліпідів у крові шляхом прискорення їхнього метаболізму. Є дані про те, що Ванадій має стосунок до нормалізації вуглеводного обміну за рахунок імітації дії інсуліну та регуляції активності ферментів вуглеводного обміну. При цукровому діабеті 1-го типу застосування препаратів, які містять сполуки ванадію, дозволяє уникнути резистентності до інсуліну та не підвищувати його дозу, а при діабеті 2-го типу Ванадій підвищує чутливість до інсуліну інсулінових рецепторів.

Дефіцит навіть одного з мікроелементів або зміна їхнього співвідношення може призвести до порушення збалансованої роботи всього

організму та до розвитку патологічних станів. При недостатньому надходженні мінеральних компонентів організм може лише певний час поповнювати створений дефіцит шляхом мобілізації їх із тканинних депо, а при надмірному надходженні — підвищеним виведенням. Особливо важливим стає вивчення застосування цих мікроелементів за умов цукрового діабету, оскільки гомеостаз Ванадію і Хрому має безпосереднє відношення до функціонування інсуліну — основного гормону, дефіцит якого, або порушена рецепція, є основною етіологічною причиною виникнення цього захворювання.

Виходячи із вищесказаного, вважаю, що тема дисертації О.О. Сушко «**Метаболічні процеси в організмі щурів за дії цитратів ванадію та хрому на тлі експериментального цукрового діабету**» є актуальною і має не лише значний теоретичний інтерес, але й практичну цінність.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими програмами.

Дослідження, що увійшли до дисертаційної роботи, виконувались упродовж 2016–2019 рр. та є частиною науково-дослідної роботи лабораторії біохімії адаптації та онтогенезу тварин Інституту біології тварин НААН згідно із завданням 35.00.01.02 Ф ДР 0116U001407 «Вивчити біологічні особливості дії цитратів мікроелементів в різні періоди онтогенезу тварин» та етапами: 35.00.01.02.02 Ф «Вивчити дію цитрату ванадію на фізіолого-біохімічні процеси в організмі тварин», 35.00.01.02.03 Ф «Дослідити комплексну дію цитратів ванадію та хрому на резистентність та адаптаційну здатність тварин», у яких дисертантка була співвиконавцем.

Наукова новизна дослідження та одержаних результатів.

Новизна дослідження та одержаних результатів полягає в тому, що в роботі з'ясовано вплив цитратів ванадію та хрому, синтезованих нанотехнологічно, на метаболічні процеси в організмі щурів із ЕЦД. Показано дозозалежність їхнього впливу та досліджено, що цей ефект реалізується через безпосередню дію на конкретні мішені, якими є окремі ланки вуглеводного та ліпідного обміну, а також антиоксидантна система крові й тканин щурів. Отримані результати досліджень вперше розкривають уявлення про гіпоглікемічний, антиатерогенний та антиоксидантний вплив цитрату ванадію, у дозах 0,125, 0,5 та 2,0 мкг V/мл води, та цитрату хрому, у дозах 0,1 і 0,2 мкг Cr/мл води, на тлі цукрового діабету. Доведено, що поєднаний вплив цитратів ванадію (0,5 мкг V/мл води) та хрому (0,1 мкг Cr/мл води) зумовлював зниження концентрації глюкози та глікозильованого гемоглобіну в крові, а також запобігав втраті маси тіла щурів із ЕЦД. Встановлено виражену антиоксидантну дію цитратів ванадію та хрому за ЕЦД, про що свідчить зниження вмісту гідропероксидів ліпідів та ТБК-активних продуктів як у плазмі, так і в тканинах тварин. Встановлено позитивний дозозалежний вплив застосованих сполук на систему антиоксидантного захисту у крові, печінці, нирках, скелетних м'язах і

підшлунковій залозі щурів із ЕЦД. Встановлено вплив цитратів ванадію та хрому на обмін ліпідів, що виявляється у зниженні як загального вмісту ліпідів, так і їхніх окремих класів (фосфоліпідів, неестерифікованого холестеролу, триацилгліцеролів) у крові тварин з ЕЦД.

Практичне значення одержаних результатів.

Практичне значення результатів дисертаційної роботи полягає у тому, що експериментально обґрунтовано позитивний послідовний вплив цитратів ванадію та хрому на метаболічні процеси в організмі щурів за умов ЕЦД. Встановлено, що застосування цитратів ванадію та хрому дозволяє скоригувати біохімічні процеси, які відбуваються в крові та тканинах організму за ЕЦД. Розроблений і запатентований спосіб корекції метаболічних процесів в організмі за цукрового діабету (патент №139300). Результати досліджень дозволяють припустити, що застосування цитратів ванадію та хрому у відповідних дозах при цукровому діабеті можуть бути привабливим терапевтичним підходом для профілактики та лікування даного захворювання. Отримані результати впроваджені у навчальний процес та науково-дослідну роботу кафедри біохімії біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка, кафедри медичної біології, паразитології та генетики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, а також кафедри лабораторної медицини ВНКЗ ЛОР «Львівська медична академія імені Андрея Крупинського».

Апробація результатів дисертації.

Основні результати дисертаційної роботи були представлені на конференції-конкурсі молодих вчених «Актуальні проблеми біохімії та біотехнології» (Київ, 2018); науково-практичній конференції молодих вчених «Молоді вчені у вирішенні актуальних проблем біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (Львів, 2016–2018); міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми сучасної біології, тваринництва та ветеринарної медицини» (Львів, 2016); International Symposium of «Trace Elements in Man and Animals» (Saint Petersburg, 2017); міжнародній науковій конференції студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології» (Львів, 2017, 2019); науково-практичній конференції «Бабенківські читання» (Івано-Франківськ, 2017); 33 Joint Annual Meeting of the German Society for Minerals and Trace Elements (GMS) with Zinc-UK (Aachen, Germany, 2017); всеукраїнській науково-практичній конференції «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій» (Харків, 2018); міжнародній конференції СЕЕСНЕ «The Central and Eastern European Conference on Health and the Environment 2018» (Krakow, Poland, 2018); науково-практичній конференції «Актуальні питання сучасної мікроелементології» (Київ, 2018) та міжнародній конференції «Сьогодення біологічної науки» (Суми, 2018); XX з'їзді Українського фізіологічного

товариства (Київ, 2019); XII Українському біохімічному конгресі (Тернопіль, 2019).

Повнота викладу результатів у наукових публікаціях.

Результати дисертації представлені у 29-ти публікаціях, з яких 12 статей у фахових журналах (дві — у зарубіжних виданнях та дві — у виданнях, що входять до наукометричної бази Web of Science, 16 тез доповідей за матеріалами наукових конференцій та з'їздів та 1 патент України на корисну модель.

Структура дисертації.

Дисертаційна робота викладена на 198 сторінках та проілюстрована 28 рисунками та 21 таблицею, складається з анотації, переліку умовних позначень, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел — 423 найменувань.

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 1 «Огляд літератури» складається з 6 підрозділів, які містять фундаментальні відомості про предмет дослідження і необхідні для подальшого кваліфікованого обговорення результатів. Проаналізовані біохімічні механізми виникнення, патогенезу та особливостей цукрового діабету 1 та 2 типу. Висвітлено біохімічну та патофізіологічну роль оксидативного стресу в індукції пероксидного окиснення ліпідів за цукрового діабету. Описані біохімічні та фармакологічні властивості Ванадію та Хрому(III).

Розділ 2 «Матеріали і методи дослідження» свідчить про експериментальну майстерність та професійний рівень дисертанта. Використано коректні умови постановки експерименту, які дозволяють реалізувати поставлені завдання.

Розділ 3 «Результати дослідження» складається з 3 добре структурованих підрозділів, які описують результати роботи.

Інтерпретація фактів, отриманих дослідником, є важливим елементом роботи. У даній дисертації їй присвячено **Розділ 4 «Аналіз та узагальнення результатів досліджень»**. В ньому подається обговорення основних підсумків роботи.

За результатами дисертаційної роботи зроблено 6 **висновків**.

Обґрунтованість і достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій.

Сформульовані положення, висновки та рекомендації ґрунтуються на експериментальних даних, одержаних з дотриманням стандартних вимог до

утримування тварин, на великій кількості повторностей в експерименті. Одержані результати піддавали статистичному аналізу. Отже ступінь обґрунтування та достовірності не викликають застереження.

Окремі дискусійні питання і зауваження до дисертації.

Оцінюючи, в загальному, позитивно рецензовану роботу, у мене до неї є деякі зауваження. Крім того, при читанні роботи виникають питання дискусійного характеру, на які хотілось би почути відповідь автора. Так:

1. **До термінології.** Претендуючи на отримання наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю «біохімія», потрібно бути більш уважним у використанні хімічної термінології. В роботі неодноразово зустрічається термін “неетерифікований холестерол”, “неетерифіковані жирні кислоти” або “етерифікований холестерол”. У перших двох випадках потрібно просто писати “холестерол” або “жирні кислоти”, а от у третьому випадку потрібно писати і говорити “еСтерифікований холестерол” так як спирт холестерол взаємодіє з вищими жирними кислотами, утворюючи складні ефіри, тобто еСтери, а не прості ефіри – етери. Термін “естерифікований холестерол” можна, доречі, замінити терміном “холестерид”.
2. Цитата: «Таким чином, отримані результати продемонстрували, що за поєднаної дії цитрати ванадію та хрому, отримані з використанням нанотехнології, здатні проявляти антиатерогенний ... ефект...» Кінець цитати. Твердження дуже спекулятивне і не підтверджене експериментально. На сучасному етапі розвитку медикобіологічних знань вже доконаним і експериментально підтвердженим фактом є те, що етіологічною причиною розвитку атеросклеротичного ураження судин є розвиток запалення ендотелію судин, спровоковане активованими імунокомпетентними клітинами та цитокінами, які ними продукуються. А холестерол і холестерид якраз, протидіючи запаленню ендотелію, вистилають уражені ділянки. Тому дані, отримані в роботі можуть свідчити про вплив досліджуваних чинників на зміни у ліпідному обміні, але ніяк не про їхні антиатерогенні властивості.
3. Жаль, що ні у авторефераті, ні в дисертації не представлена узагальнююча схема дії досліджуваних чинників. Вона, без сумніву, була б дуже корисною для інтерпритації отриманих результатів, де можна було б вказати гіпотетичні і експериментально підтверджені точки впливу застосованих речовин і уявити собі біохімічні механізми їхньої дії.
4. Констатація без достатнього узагальнення і спроби з'ясування механізмів дії досліджуваних чинників прослідковується і у висновках.
5. Непереконливими для мене залишилися твердження про профілактичне застосування цитратів ванадію та хрому.
6. У роботі часто зустрічаються граматичні і стилістичні помилки, а також невдалі у мовному та науковому сенсі вирази.

Однак, всі зазначені зауваження не зменшують цінності роботи і не впливають на загальну позитивну оцінку. Проблема, яку досліджує автор дисертації, надзвичайно важлива. На підставі отриманих результатів теоретично узагальнено та на експериментальній моделі обґрунтовано можливість застосування цитратів ванадію та хрому, синтезованих з використанням нанотехнологічних методів, з метою корекції вуглеводного і ліпідного обміну та стану антиоксидантної системи організму за цукрового діабету. Отримані у роботі дані мають важливе фундаментальне та практичне значення.

Висновок.

Враховуючи все сказане вище, вважаю, що опонована робота Сушко Ольги Олександрівни «Метаболічні процеси в організмі щурів за дії цитратів ванадію та хрому на тлі експериментального цукрового діабету», присвячена важливій науковій і практичній проблемі, є завершеною науковою працею, що за актуальністю проблеми, теоретичним рівнем, методичним забезпеченням, науковою новизною та практичним значенням результатів досліджень відповідає вимогам до кандидатських дисертацій п.п. 11, 12, 13 положення “Порядку присудження наукових ступенів”, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 зі змінами, внесеними згідно з постановою Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015, а її автор, Сушко Ольга Олександрівна, заслуговує присудження їй наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04– біохімія.

**Завідувач кафедри біохімії
Львівського національного університету
імені Івана Франка,
доктор біологічних наук,
професор**

Підпис професора Сибірної Н.О. завіряю
Вчений секретар Львівського національного
Університет імені Івана Франка, доцент



Сибірна Н.О.

Грабовецька О.С.