

## ВИСНОВОК

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації “Антидіабетичний та антиоксидантний ефекти екстрактів плодів дерену справжнього (*Cornus mas L.*) за експериментального цукрового діабету” здобувачки ступеня доктора філософії з галузі знань 09 “Біологія” за спеціальністю 091 “Біологія”

Дзидзан Ольги Володимирівни

### 1. Актуальність теми дисертації

Гіперглікемія за цукрового діабету є головним чинником, що ініціює виникнення метаболічних розладів, інфекційно-запальних процесів та розвиток супутніх ускладнень. За гіперглікемії посилюється утворення активних форм оксигену та нітрогену, які пошкоджують ДНК, модифікують білки та ліпіди. Клітини крові одні з перших зазнають безпосереднього впливу високої концентрації глюкози. Порушення функціонального стану імунокомpetентних клітин, які індуковані гіперглікемією призводять до патологічних змін в організмі і є причинами розвитку мікро- та макросудинних ускладнень за цукрового діабету.

Незважаючи на досягнення у розробці нових антидіабетичних препаратів, проблема лікування цього захворювання є невирішеною. Актуальними є дослідження біологічних ефектів компонентів рослин, які містять комплекс біологічно активних сполук, котрі здатні впливати одночасно на декілька систем організму.

Виражені біологічні властивості проявляє дерен справжній (*Cornus mas L.*) який поширений на території України та центральної Європи. Плоди дерену здавна використовувались у народній медицині багатьох країн світу для лікування низки патологій (шлунково-кишкових та обмінних порушень, діареї, лихоманки, застуди). Проте антидіабетичні ефекти плодів цього виду є недостатньо вивченими.

Дослідження антидіабетичної та антиоксидантної дії екстрактів плодів *Cornus mas L.* та їхньої здатності коригувати функціональні порушення лейкоцитів периферичної крові дасть змогу оцінити перспективу використання цих екстрактів як основи для створення нових препаратів природного походження для терапії цукрового діабету.

Тему дисертації затверджено на засіданні Вченої ради Львівського національного університету імені Івана Франка, протокол № 43/12 від 06.12.2017 р. та уточнено на засіданні Вченої ради Львівського національного університету імені Івана Франка, протокол № 10/5 від 26.05.2021 р.

## *2. Зв'язок теми дисертації з державними програмами, науковими напрямами університету та кафедри*

Дисертаційна робота виконана на кафедрі біохімії біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка згідно плану науково-дослідної роботи кафедри біохімії за держбюджетною темою: “Біохімічні механізми розвитку, діагностики та корекції діабетіндукованого оксидативно-нітративного стресу” упродовж 2017–2019 років (номер державної реєстрації: 0117U001225); темою, яку виконують в межах робочого часу викладачі: “Дослідження дії біологічно активних речовин природного походження з метою корекції патологій, що супроводжуються гіперглікемією” упродовж 2020–2021 років (номер державної реєстрації: 0120U101780), також позабюджетною темою в рамках Міжнародного обміну PhD студентів і викладачів, яка фінансувалася польським національним агентством з академічних обмінів (NAWA) у Вроцлавському природничому університеті.

## *3. Особистий внесок здобувача в отриманні наукових результатів*

Всі дослідження, представлені у дисертаційній роботі, було виконано особисто або за безпосередньої участі здобувача. Автором дисертаційної роботи самостійно проведений аналіз наукової літератури, виконана основна частина експериментальної роботи і статистична обробка даних. Планування роботи, аналіз та обговорення отриманого матеріалу, приготування рукописів статей проводилося з науковим керівником – к.б.н., доц. Бродяк І. В. Ідентифікацію та кількісний аналіз сполук екстрактів червоних і жовтих плодів дерену справжнього та логанової кислоти виконано у співпраці з dr hab. inż. Алісією Кухарською (кафедра технологій фруктів, овочів та рослинних харчових продуктів, факультету біотехнології та харчових наук, Вроцлавського природничого університету). Дослідження *in vitro* антиоксидантних властивостей екстрактів червоних і жовтих плодів *Cornus mas* L. з використанням ліпосом з фосфатидилхоліну курячого яйця, як моделі дослідження мембрани, проведено спільно з dr. Paulina Strugała-Danak (кафедра фізики та біофізики, Вроцлавського природничого університету). Роботу з використанням протокового цитометра BD FACScan (Becton Dickinson, USA) виконано у співпраці з д. б. н., ст. н. сп. Інституту біології клітини НАН України Панчуком Р. Р.; вимірювання на спектрофлюориметрі Quantech Wide Band Filter Fluorometer (FM109530-33, Thermo Fisher Scientific) проведено у співпраці з к. б. н., н. сп. Інституту біології клітини НАН України Прокопів Т. М.; дослідження з використанням флюоресцентного мікроскопа Olympus IX73 з цифровою камерою DP-74 проведено у співпраці з к. б. н., ст. н. сп. кафедри фізіології людини і тварин Манька Б. О.

#### *4. Достовірність та обґрунтованість отриманих результатів та запропонованих автором вирішень, висновків, рекомендацій*

Усі експериментальні результати, наукові положення і висновки дисертаційної роботи побудовані на матеріалах власних досліджень. Результати отримані за допомогою сучасних взаємодоповнюючих методів досліджень, є науково обґрунтованими та достовірними, що визначається достатньою кількістю експериментальних досліджень.

Результати роботи багаторазово апробовано на вітчизняних та міжнародних конференціях та перевірено під час рецензування публікацій у фахових виданнях. У роботі наведено 7 висновків, які відповідають отриманим результатам. Одержані результати узгоджуються з літературними даними.

Дисертаційна робота виконана з дотриманням міжнародних норм гуманного поводження з лабораторними тваринами.

#### *5. Ступінь новизни основних результатів дисертації порівняно з відомими дослідженнями аналогічного характеру*

Досліджено якісний та кількісний склад екстрактів з дозрілих плодів дерену справжнього двох сортів: "Янтарний" (жовтий колір) та "Подольський" (червоний колір). Ідентифіковано 29 сполук, серед них: іридоїди, антоціани (відсутні в складі екстракту жовтих плодів), фенольні кислоти та флавоноли (в складі екстракту жовтих плодів відсутні похідні кемпферолу). В очищених екстрактах плодів дерену справжнього вперше виявлено два ізомери логанової кислоти: секоксилоганін і корнузид 2.

Встановлено здатність екстрактів червоних і жовтих плодів дерену справжнього знижувати концентрацію глукози, глікозильованого гемоглобіну, площину під глікемічними кривими на моделі стрептозотоцин-індукованого ЦД у щурів. Доведено інгібування активності  $\alpha$ -глюкозидази за впливу екстрактів плодів дерену справжнього, що обґрунтує механізм гіпоглікемічної дії. Вперше встановлено різну інгібувальну здатність досліджуваних екстрактів дерену справжнього, що ґрунтуються на відмінних типах інгібування ферменту: екстракти жовтих і червоних плодів проявляли змішаний, а логанова кислота – неконкурентний тип інгібування  $\alpha$ -глюкозидази.

Вивчено антиоксидантну здатність *in vitro* екстрактів червоних і жовтих плодів *Cornus mas* L., використовуючи ліпосоми, як поширену модель біологічних мембрани. Досліджувані екстракти ефективніше захищають модельні ліпідні мембрани від вільних радикалів, які утворюються під дією хімічних чинників (джерело вільних радикалів – АAPH (2,2'-Azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride)), ніж від окиснення, індукованого

ультрафіолетовим випромінюванням типу В. Вперше виявлено антиоксидантний потенціал екстрактів червоних і жовтих плодів дерену справжнього і логанової кислоти на моделі стрептозотоцин-індукованого діабету у щурів. Доведено, що екстракти знижують рівень активних форм оксигену і коригують активність ключових ферментів антиоксидантної системи у лейкоцитах крові щурів, пригнічуючи розвиток оксидативного стресу за цукрового діабету.

Продемонстровано здатність досліджуваних екстрактів покращувати поглинання глукози лейкоцитами крові та підвищувати рівень АТФ у цих клітинах за умов експериментального цукрового діабету.

Встановлено коригуючий вплив екстракту червоних плодів на вміст кінцевих продуктів глікації у плазмі крові та лейкоцитах та зниження концентрації мембранозв'язаних receptorів до кінцевих продуктів глікації та їхніх розчинних у плазмі крові форм при досліджуваній патології.

## *6. Перелік наукових праць, які відображають основні результати дисертації*

За матеріалами дисертації опубліковано 3 статті: 2 статті у міжнародних виданнях, що належать до першого (Q1) та другого (Q2) квартилів відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank та 1 статтю в українському фаховому журналі:

1. Dzydzan, O., Bila, I., Kucharska, A. Z., Brodyak, I., & Sybirna, N. (2019). Antidiabetic effects of extracts of red and yellow fruits of cornelian cherries (*Cornus mas* L.) on rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Food & Function*, 10(10), 6459–6472. <https://doi.org/10.1039/C9FO00515C> (Q1). (Особистий внесок здобувача: дисертанту виконала основну частину експериментів на тваринах, взяла активну участь в дослідженнях *in vitro*, спільно з науковим керівником та співавторами просела аналіз результатів досліджень, статистичне опрацювання отриманих даних, написання та оформлення статті).
2. Dzydzan, O., Brodyak, I., Sokół-Łętowska, A., Kucharska, A. Z., & Sybirna, N. (2020). Loganic acid, an iridoid glycoside extracted from *Cornus mas* L. fruits, reduces of carbonyl/oxidative stress biomarkers in plasma and restores antioxidant balance in leukocytes of rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Life*, 10(12), 349. <https://doi.org/10.3390/life10120349> (Q2). (Особистий внесок здобувача: дисертанту виконала основну частину експериментів на тваринах, взяла активну участь в дослідженнях *in vitro*, спільно з науковим керівником та співавторами просела аналіз результатів досліджень, статистичне опрацювання отриманих даних, написання та оформлення статті).

3. Seniv, M. B., Dzydzan, O. V., Brodyak, I. V., Kucharska, A. Z., & Sybirna, N. O. (2021). Antioxidant effect of extract of yellow fruits of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) in rats' leukocytes under streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Studia Biologica*, 15(1), 15–26. <https://doi.org/10.30970/sbi.1501.645> (Особистий внесок здобувача: дисертант виконала основну частину експериментальних досліджень, спільно з науковим керівником та співавторами просела аналіз результатів досліджень, статистичне опрацювання отриманих даних та оформлення статті).

*7. Апробація основних результатів дослідження на конференціях, симпозіумах, семінарах тощо:*

1. Dzydzan O., Bila I., Babiy D., Kucharska A., Brodyak I., Sybirna N. (2018, April 10–12). Changes of blood system's indicators in the experimental diabetes mellitus under *per os* administration of extracts from cornelian cherry (*Cornus mas* L.). Presentation at the XIV International Scientific Conference for Students and PhD Students “Youth and progress of biology”, dedicated to the 185<sup>th</sup> anniversary from the birthday of B. Dybowski, Lviv, 58.
2. Brezvin Y., Bila I., Dzydzan O., Gordeichuk A., Kucharska A. Z., Brodyak I., Sybirna N. (2018, April 10–12). Effect of loganic acid on some indicators of blood system under experimental diabetes mellitus. Presentation at the XIV International Scientific Conference for Students and PhD Students “Youth and progress of biology”, dedicated to the 185<sup>th</sup> anniversary from the birthday of B. Dybowski, Lviv, 57.
3. Ukhin A., Izhytskyi V., Dzydzan O., Bila I., Kucharska A., Brodyak I., Sybirna N. (2018, April 10–12). Hypoglycemic effect of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) extracts under streptozotocin induced diabetes mellitus in rats. Presentation at the XIV International Scientific Conference for Students and PhD Students “Youth and progress of biology”, dedicated to the 185<sup>th</sup> anniversary from the birthday of B. Dybowski, Lviv, 81–82.
4. Dzydzan O., Bila I., Kucharska A., Brodyak I., Sybirna N. (2018, April 16–20). Influence of *Cornus mas* L. extracts and loganic acid on blood erythrocytes under experimental diabetes mellitus. Presentation at the Third Annual BTRP Ukraine Regional One Health Research Symposium, Kyiv, 253.
5. Dzydzan O., Bila I., Kucharska A., Brodyak I., Sybirna N. (2018, June 20–21). Effect of extract from red fruits of *Cornus mas* L. on the state of antioxidant defence system in leukocytes under experimental diabetes mellitus. Abstracts at the 8<sup>th</sup> International Conference on “Quality and safety in food production chain”, Wrocław, 32–33.

6. Dzydzan O., Bila I., Kucharska A., Brodyak I., Sybirna N. (2019, April 9–11). Effect of extract from yellow fruits of *Cornus mas* L. on the markers of antioxidant system in rats' blood leukocytes under conditions of streptozotocin-induced diabetes mellitus. Presentation at the XV International scientific conference for students and PhD students "Youth and progress of biology", dedicated to the 135<sup>th</sup> anniversary of J. Parnas, Lviv, 40.
7. Dzydzan O., Bila I., Kucharska A., Brodyak I., Sybirna N. (2019, May 20–24). The Effect of the Iridoid – Loganic Acid from the *Cornus mas* L. fruits on plasma markers of oxidation stress in streptozotocin-induced diabetic rats. Presentation at the Fourth Annual BTRP Ukraine Regional One Health Research Symposium, Kyiv, 358.
8. Дзидзан О., Бродяк І., Кухарська А., Сибірна Н. (2019, 30 вересня – 4 жовтня). Антиоксидантний ефект екстрактів з плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) і логанової кислоти у плазмі крові щурів за стрептозотоцин-індукованого цукрового діабету. Тези представлені на XII Українському біохімічному конгресі, присвяченому 165-й річниці від дня народження І. Я. Горбачевського, Тернопіль, 87–88.
9. Мороз А. Сенів М., Дзидзан О., Бродяк І., Сибірна Н. (2020, 25 березня). Зміни в лейкоцитарній формулі крові щурів зі стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом за введення логанової кислоти та екстрактів з червоних і жовтих плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.). Матеріали IV Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених: Перспективні напрямки наукових досліджень лікарських та ефіроолійних культур, ДСЛР ІАН НААН, Лубни, 2020, 228–232.
10. Alfavitskyi O., Dzydzan O., Kucharska A., Brodyak I., Sybirma N. (2020, April 27–29). Effect of extracts obtained from the *Cornus mas* L. fruits on the level of reactive oxygen species and oxidatively modified proteins in leukocytes under conditions of streptozotocin-induced diabetes. Presentation at the XVI International scientific conference for students and PhD students "Youth and progress of biology", dedicated to the 75<sup>th</sup> anniversary of the Faculty of Biology of Ivan Franko National University of Lviv and 90<sup>th</sup> anniversary from the birthday of prof. M. P. Derkach, Lviv, 40.
11. Kalanova S., Seniv M., Moroz A., Dzydzan O., Kucharska A., Brodyak I., Sybirna N. (2020, April 27–29). Effect of extract of red fruits of cornelian cherries (*Cornus mas* L.) on the activity of antioxidant defence enzymes in rat's red blood cells with streptozotocin-induced diabetes mellitus. Presentation at the XVI International scientific conference for students and PhD students "Youth and progress of biology", dedicated to the 75<sup>th</sup> anniversary of the Faculty of

Biology of Ivan Franko National University of Lviv and 90<sup>th</sup> anniversary from the birthday of prof. M. P. Derkach, Lviv, 42.

12. Dzydzan O., Moroz A., Seniv M., Kucharska A., Brodyak I., Sybirna N. (2020, October 1–2). Effect of iridoids and anthocyanins from the *Cornus mas* L. fruits on the antioxidant defense system in leukocytes under experimental diabetes mellitus. Abstracts at the V International Scientific Conference “Actual problems of biochemistry, cell biology and physiology”, Dnipro, 95–96.
13. Dzydzan O., Chaban M., Brodyak I., Kucharska A. Z., Sybirna N. (2021, April 19–21). Glucose transport and ATP content in leukocytes under administration of *Cornus mas* L. fruit extracts to animals with streptozotocin-induced diabetes mellitus. Presentation at the XVII International Scientific Conference for Students and PhD Students “Youth and progress of biology”, Lviv, 55–56.
14. Dzydzan O., Kuchurka O., Brodyak I., Kucharska A. Z., Sybirna N. (2021, April 19–21). The extracts of *Cornus mas* L. fruits prevent the development of carbonyl stress in blood plasma of rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. Presentation at the XVII International Scientific Conference for Students and PhD Students “Youth and progress of biology”, Lviv, 57.
15. Dzydzan O., Kalanova S., Brodyak I., Kucharska A. Z., Sybirna N. An *in vitro* evaluation of hypoglycaemic potential of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) fruits' extracts. Presentation at the XVII International Scientific Conference for Students and PhD Students “Youth and progress of biology”, Lviv, 56.

**8. Наукове значення виконаного дослідження із зазначенням можливих наукових галузей та розділів програм навчальних курсів, де можуть бути застосовані отримані результати**

Екстракти, отримані з плодів дерену справжнього виявляють гіпоглікемічну дію, пригнічують оксидативний стрес та коригують функціональні порушення у лейкоцитах за умов експериментального цукрового діабету. Отримані результати обґрунтують доцільність застосування екстрактів плодів дерену як основи для розробки нових препаратів антидіабетичної дії.

Представлені у дисертаційній роботі дані можуть бути впроваджені у навчальний процес під час викладання спецкурсів “Моніторинг продуктів харчування та лікарських препаратів” та “Функціональні харчові продукти та їхнє значення для здоров'я людини”, які читаються на кафедрі біохімії Львівського національного університету імені Івана Франка.

## *9. Оцінка структури дисертації, її мови та стилю викладення*

Дисертація складається з вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків та списку цитованої літератури.

Дисертація за структурою, мовою та стилем викладення відповідає вимогам МОН України.

## *10. Висновки*

Дисертацію заслухано та обговорено на фаховому семінарі кафедр біохімії, біофізики та фізіології людини і тварин Львівського національного університету імені Івана Франка (протокол №1 від 9 листопада 2021 року). У ході обговорення суттєвих зауважень, які стосуються основних положень дисертаційної роботи, не було висунуто.

Загалом дисертаційна робота Дзидзан Ольги Володимирівни “Антидіабетичний та антиоксидантний ефекти екстрактів плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) за експериментального цукрового діабету” є завершеною науковою працею в межах поставлених завдань, у якій досліжено антидіабетичний та антиоксидантний ефекти екстрактів червоних і жовтих плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) та їхню потенційну здатність коригувати функціональні порушення в лейкоцитах крові за стрептозотоцин-індукованого цукрового діабету.

На основі вищесказаного можна зробити такі висновки щодо поданої дисертаційної роботи:

1. За актуальністю обраної теми, обсягом, достовірністю та рівнем апробації отриманих результатів, науковою новизною, обґрунтованістю висновків, практичною цінністю дисертаційна робота “Антидіабетичний та антиоксидантний ефекти екстрактів плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) за експериментального цукрового діабету” відповідає вимогам наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 р. “Про затвердження вимог до оформлення дисертації” та п. 10 “Тимчасового порядку присудження ступеня доктора філософії” (Постанова Кабінету Міністрів України від 06.03.2019 р. № 167, із змінами згідно з Постановами КМУ № 979 від 21.10.2020 р. і № 608 від 09.06.2021 р.).
2. Дисертація відповідає спеціальності 091 “Біологія” (галузь знань 09 “Біологія”).

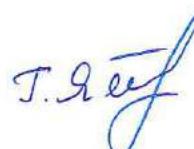
3. Наукові праці Дзидзан О.В., опубліковані за результатами дисертаційної роботи, за кількістю та якістю відповідають п. 11 “Тимчасового порядку присудження ступеня доктора філософії” (Постанова Кабінету Міністрів України від 06 березня 2019 р. № 167, із змінами згідно з Постановами КМУ № 979 від 21.10.2020 р. і № 608 від 09.06.2021 р.).
4. Дисертація “Антидіабетичний та антиоксидантний ефекти екстрактів плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) за експериментального цукрового діабету” Дзидзан Ольги Володимирівни рекомендується для подання до розгляду та захисту у спеціалізованій вченій раді.

Рецензенти:

доктор біологічних наук,  
професор, професор кафедри екології

 Галина АНТОНЯК

кандидат біологічних наук,  
доцент, доцент кафедри біохімії

 Галина ГАЧКОВА

12 листопада 2021 р.

*Підписи проф. Антоняк Г.Л. та доц. Гачкової Г.Я. заєднані*  
Вчений секретар  
Львівського національного  
університету імені Івана Франка, доц.

