

Голові разової спеціалізованої
вченої ради ДФ 35.051.050
у Львівському національному
університеті імені Івана Франка,
доктору біологічних наук,
професору кафедри фізіології
людини і тварин,
професору Іскрі Р. Я.

ВІДГУК

офіційного опонента

Ушакової Галини Олександрівни

на дисертацію Дзидзан Ольги Володимирівни

“Антидіабетичний та антиоксидантний ефекти екстрактів плодів дерену

справжнього (*Cornus mas L.*) за експериментального цукрового діабету”,

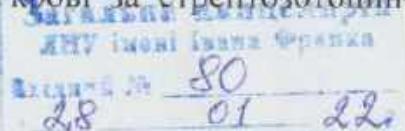
подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії

за спеціальністю 091 “Біологія”

Дисертаційна робота Дзидзан Ольги Володимирівни присвячена дослідженню гіпоглікемічних та антиоксидантних властивостей екстрактів червоних і жовтих плодів дерену справжнього та логанової кислоти на моделі експериментального цукрового діабету (ЦД) у щурів та здатності екстрактів зменшувати негативний вплив оксидативно-карбонільного стресу на функціональний стан лейкоцитів периферичної крові. “Молодшання” діабету й в Україні, й в світі ще більше підвищує ризики ускладнень. Особливої актуальності поширеність цукрового діабету набуває ще й внаслідок епідемії на COVID-19.

Відтак обрана тема дисертації Дзидзан Ольги Володимирівни є актуальною, підходи до реалізації даної тематики дослідження є сучасними і коректними.

Метою представленої роботи було дослідити гіпоглікемічний та антиоксидантний ефекти екстрактів червоних і жовтих плодів дерену справжнього (*Cornus mas L.*) та їхню потенційну здатність коригувати функціональні та метаболічні зміни в лейкоцитах крові за стрептозотоцин-



індукованого ЦД. Для досягнення поставленої мети були сформульовані сім послідовних завдань.

Предмет дослідження – гіпоглікемічна дія екстрактів плодів дерену справжнього та логанової кислоти, ферменти антиоксидантної системи захисту лейкоцитів, маркерні показники оксидативно-карбонільного стресу, кінцеві продукти глікації та рецептори до них, рівень поглинання глюкози лейкоцитами крові та вміст АТФ.

Відповідно до матеріалу презентованої дисертації усі поставленні завдання були успішно реалізовані.

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

Оцінюючи ступінь обґрутованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, звернімо увагу на кількість опрацьованої сучасної літератури за тематикою дослідження (251 посилання) та вільне володіння цим матеріалом під час обговорення власних результатів і висновків. Автором застосовано широкий арсенал різноманітних сучасних методів та експериментальна модель стрептозотоцин-індукованого діабету на лабораторних тваринах. Великий об'єм отриманих даних, їх обробка з використанням статистичного аналізу та спеціального програмного забезпечення підтверджує обґрутованість нових наукових положень. Особливо слід відзначити діапазон сучасних методів, якими дисерантка володіє: клінічні (визначення загальних гематологічних показників: кількість еритроцитів, лейкоцитів, лейкоцитарна формула, концентрація гемоглобіну);

біохімічні (дослідження антиоксидантних властивостей екстрактів на модельних ліпідних мембранах, визначення активності ензимів, типу інгібування альфа-глюкозидази, рівня маркерних показників оксидативного стресу в лейкоцитах та плазмі крові); сучасні методи молекулярно-клітинної біології (флюоресцентно-мікроскопічна оцінка рівня генерації АФО та поглинання клітинами флюоресцентно-міченого аналога глюкози, проведення вестерн-блот аналізу та протокової цитометрії, імуноцитохімічна детекція вмісту RAGE); статистичні (метод варіаційної статистики із використанням критерію Стьюдента, метод дисперсійного аналізу ANOVA). Це вказує на професійний підхід до реалізації дисертаційної роботи, є свідченням системного підходу до обрання теми, формулювання мети і завдань та висновків відповідно отриманим власним результатам наукової роботи.

Досліди з тваринами виконано відповідно до інструкцій з догляду та використання лабораторних тварин Львівського національного університету імені Івана Франка та схвалені Комітетом з контролю етичних норм поводження з тваринами кафедри біохімії біологічного факультету.

Новизна положень дисертаційного дослідження О. В. Дзидзан. Вперше виявлено в очищених екстрактах плодів дерену справжнього два ізомери логанової кислоти, секоксилоганін і корнузид 2. Встановлено антидіабетичну дію (зниження концентрації глюкози, глікозильованого гемоглобіну, інтегрального показника площин під глікемічними кривими) отриманих нами екстрактів червоних і жовтих плодів дерену справжнього на моделі стрептозотоцин-індукованого ЦД у шурів. Виявлено інгібувальний ефект екстрактів плодів дерену справжнього на активність α -глюкозидази *in vitro*, як можливий механізм їхньої гіпоглікемічної дії. Доведено, що екстракти жовтих і червоних плодів проявляли змішаний, а логанова кислота – неконкурентний тип інгібування α -глюкозидази.

Виявлено здатність екстрактів червоних і жовтих плодів *Cornus mas* L. захищати ліпідну мембрани від перекисного окиснення, індукованого хімічними та фізичними чинниками на моделі ліпосом з фосфатидилхоліну курячого яйця. Досліджувані екстракти ефективніше захищають модельні ліпідні мембрани від вільних радикалів, утворених за термічного розкладання

сполуки ААРН, ніж від окиснення, індукованого за впливу УФ-випромінювання типу В.

Вперше досліджено вплив екстрактів червоних і жовтих плодів *Cornus mas* L. та логанової кислоти на про/антиоксидантний статус лейкоцитів периферичної крові щурів за ЦД. Встановлено, що екстракт червоних плодів знижував концентрацію мембранозв'язаних receptorів до кінцевих продуктів глікації та їхніх розчинних у плазмі крові форм, що, разом із коригувальним впливом екстракту на вміст кінцевих продуктів глікації у плазмі крові та лейкоцитах, вказує на прояв інгібувальної дії екстракту на стрес-індуковані сигнальні шляхи.

Зміст роботи та опубліковані наукові праці О. В. Дзидзан дають підстави стверджувати, що мета та дослідницькі завдання вирішені нею у повному обсязі та відповідають підсумкам і висновкам дисертації.

Дисертаційну роботу побудовано за загальноприйнятою схемою. Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків та списку використаних джерел. Дисертацію викладено на 173 сторінках друкованого тексту і проілюстровано 25 рисунками та 6 таблицями. Список літератури включає 251 найменування.

Результати власних досліджень презентовані у 6-ти підрозділах:

- 3.1. Характеристика кількісного та якісного складу екстрактів плодів дерену справжнього.
- 3.2. Гіпоглікемічний потенціал екстрактів плодів *Cornus mas* L.
- 3.3. Вплив екстрактів плодів дерену справжнього на фізіологічні та гематологічні показники крові щурів зі стрептозотоцин-індукованим ЦД.
- 3.4. Антиоксидантний потенціал екстрактів плодів дерену справжнього.
- 3.5. Вплив екстрактів плодів дерену справжнього на рівень кінцевих продуктів глікації та receptorів до них – експонованих на мембрани лейкоцитів (RAGE) і розчинних у плазмі (sRAGE) крові щурів зі стрептозотоцин-індукованим ЦД.
- 3.6. Особливості поглинання флюоресцентного аналога глюкози лейкоцитами та вміст АТФ у цих клітинах крові за введення екстрактів *Cornus mas* L. тваринам з ЦД.

Найкраще характеризує підготовку дисертантки останній розділ “Узагальнення результатів досліджень”, де презентовані узагальнюючі схеми, що базуються на власних результатах, але чітко відповідають сучасним гіпотезам і припущенням.

Зміст наукового рукопису за всіма розділами відповідає напрямку спеціальності, за яким дисертант здобуває науковий ступінь. Рукопис за структурою і змістом розділів є впорядкованим згідно офіційних вимог та презентований матеріал логічно пов’язаний між собою. За результатами перевірки у програмі “Unicheck” матеріал дисертаційної роботи має 87,7% унікальності.

Здобувачем опубліковано три наукові статті, з яких дві – у міжнародних виданнях з квартиллями Q 1–2 (*Food & Function*: Scopus, IF 4,171, Q1; *Life: Scopus*, IF 3,817, Q2) та одна стаття в українському фаховому журналі категорії Б (*Studia Biologica*). У вказаних працях висвітлені основні положення дисертації, що становлять наукову новизну і внесені на захист. Усі результати кваліфікаційного дослідження отримано автором самостійно. Обґрунтованість наукових положень, висновків, сформульованих у роботі, також підтверджується їхньою апробацією на міжнародних та всеукраїнських науково-практичних конференціях, регіональних наукових симпозіумах, Українському біохімічному конгресі (15 тез доповідей). Якість, обсяг і кількість публікацій здобувача відповідає вимогам, встановленим для здобуття наукового ступеня доктора філософії.

Прикладна та наукова цінність дослідження О. В. Дзидзан включає доказу аргументацію щодо біологічних ефектів екстрактів плодів дерену. Отримані експериментальні дані вказують на доцільність використання досліджуваних екстрактів як складових комплексної терапії та розробки на їх основі нових фармакологічних препаратів для корекції порушень за діабету. Представленні у дисертаційній роботі дані 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.

Позитивно оцінюючи зміст, аргументи і результати дисертаційного дослідження О. В. Дзидзан, вважаю за необхідне висловити щодо них деякі запитання та рекомендації:

1. Чому пошук гіпоглікемічних речовин був спрямованим саме на екстракти плодів дерену справжнього?
2. Чи проводили стандартизацію ліпосом? Яка повторюваність результатів окиснення ліпосом із різних партій за різними методами?
3. За результатами інгібування а-глюкозидази екстракти червоних і жовтих плодів дерену мали більший ефект, ніж “Логанова кислота”. Завдяки яким складовим, окрім ізомерів логанової кислоти, це може відбуватися?
4. Чим можна пояснити, що логанова кислота збільшує активність каталази за експериментального цукрового діабету, але не впливає на активність СОД (рис. 3.9)?
5. Чому логанова кислота не впливає на рівень AGEs (рис. 3.15), хоча за результатами гістограми це не видно?
6. Чи можна пропонувати екстракти плодів дерену справжнього для функціонального харчування під час відновлення після COVID-19?
7. Чи запатентовані отримані нові дані щодо гіпоглікемічних властивостей досліджуваних екстрактів?
8. Чи проводився кореляційний аналіз досліджуваних параметрів?

Враховуючи актуальність теми, системність та обґрунтованість наведених аргументів, вважаю, що висловлені зауваження і рекомендації не впливають на високу оцінку дисертації О. В. Дзидзан, не знижують її теоретичної та прикладної цінності. Положення дисертації базуються на експериментально доведених даних, отриманих за допомогою різноманітних сучасних методів і технологій. Таким чином, дисертаційне дослідження Дзидзан Ольги Володимирівни “Антидіабетичний та антиоксидантний ефекти екстрактів плодів дерену справжнього (*Cornus mas L.*) за експериментального цукрового діабету” за своїм змістом, рівнем наукової новизни та характером висновків відповідає спеціальності 091 “Біологія” та вимогам постанови Кабінету Міністрів України № 167 від 06.03.2019 р. “Тимчасовий порядок присудження ступеня доктора філософії” (із змінами від 21.10.2020 р. № 979 та від 09.06.2021 р. № 608), не містить ознак порушення академічної

доброчесності та оформлене відповідно до вимог, затверджених наказом Міністерства освіти і науки України “Про затвердження Вимог до оформлення дисертації” від 12.01.2017 р. № 40, тому його автор, О. В. Дзидзан, заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 “Біологія”.

Офіційний опонент:

докторка біологічних наук, професорка,
завідувачка кафедри біохімії та фізіології
Дніпровського національного університету
імені Олеся Гончара

Г. О. УШАКОВА

