До разової спеціалізованої ради
ДФ 35.051.303
Львівського національного
університету імені Івана Франка
м. Львів, вул. Університетська, 1

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу Мороз Анни Андріївни
за темою: «Біохімічні ефекти екстрактів плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) за експериментального цукрового діабету»,
яка представлена на здобуття ступеня доктора філософії
з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія

Актуальність теми дисертації

Цукровий діабет (ЦД) є одним із найпоширеніших ендокринних захворювань, що суттєво знижує якість життя пацієнтів і часто призводить до передчасної інвалідизації та підвищеної смертності. Для цієї патології характерна хронічна гіперглікемія, яка зумовлює порушення вуглеводного та ліпідного обміну, сприяє розвитку оксидативно-нітративного стресу та підвищує ризик виникнення серцево-судинних ускладнень. Водночас дефіцит інсуліну та стійке підвищення рівня глюкози в крові негативно впливають на функціонування різних клітин і систем організму.

Попри значні досягнення сучасної медицини у вивченні цієї патології, цукровий діабет і надалі залишається складним для ефективного лікування захворюванням. Використання інсулінотерапії як основного методу лікування супроводжується низкою проблем, пов’язаних із фармакокінетичними особливостями препарату, його абсорбцією та недостатньою тривалістю дії для стабільного підтримання фізіологічного рівня глюкози в крові. У зв’язку з цим актуальним є пошук нових терапевтичних підходів, які могли б бути альтернативою інсулінотерапії або застосовуватися в комбінації з нею. Одним із перспективних напрямів є розроблення лікарських засобів на основі рослинної сировини, спрямованих на корекцію проявів і ускладнень діабету.

Рослини роду Cornus здавна використовуються з лікувальною метою. Серед них особливий інтерес становлять дерен справжній (*Cornus mas* L.) та дерен лікарський (*Cornus officinalis* Siebold & Zucc). Упродовж останніх років досягнення селекції дерену сприяли створенню нових сортів, що відрізняються фенотиповими характеристиками плодів (розміром, кольором, формою), а також якісним і кількісним складом біологічно активних речовин

порівняно з раніше культивованими формами *Cornus mas* L. Це зумовлює необхідність детального дослідження плодів нових сортів дерену з метою відбору тих, що можуть найбільш ефективно коригувати ендокринно-метаболічні порушення при діабеті.

Вивчення гіпоглікемічної та антиоксидантної активності екстрактів плодів різних сортів *Cornus mas* L., а також визначення серед них найбільш ефективних зразків створює наукове підґрунтя для обґрунтування їх використання як потенційних антидіабетичних засобів.

Вважаю, що вибір теми дослідження, актуальність роботи, її важливе теоретичне та практичне значення є безсумнівними, а сама дисертаційна робота є актуальною науковою працею.

Зв'язок дисертаційної роботи з державними чи галузевими науковими програмами

Дисертаційну роботу виконано на кафедрі біохімії біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка згідно плану науково-дослідної роботи в рамках теми, що виконується в межах робочого часу викладачів, аспірантів, студентів «Дослідження дії біологічно активних речовин природного походження з метою корекції патологій, що супроводжуються гіперглікемією» впродовж 2022–2024 років (державний реєстраційний номер теми: 0120U101780) та «Корекція метаболічних порушень фітопрепаратами та біологічно активними речовинами лікарських грибів за гіперглікемічних станів» впродовж 2025–2026 років (державний реєстраційний номер теми: 0125U001474).

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих в дисертації

Дисертаційна робота Мороз Анни має чітко сформульовану мету та окреслені основні завдання для досягнення цієї мети. Одержані результати дисертаційної роботи є науково обґрунтованими і достовірними, виконані з використанням сучасних експериментальних методів досліджень й узгоджуються з актуальними літературними даними. Задля виконання поставлених завдань використано комплекс сучасних біохімічних, цитологічних, фізико-хімічних та статистичних методів аналізу даних.

Основні наукові положення та висновки дисертаційної роботи базуються на експериментальних даних, отриманих у процесі дослідження. Результати, викладені в дисертації та опубліковані у наукових працях, неодноразово проходили апробацію у формі доповідей на міжнародних і всеукраїнських конференціях, наукових семінарах кафедри біохімії, щорічних звітних конференціях біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка, а також були перевірені під час рецензування

у фахових виданнях. Усі наведені результати належать авторці та становлять її особистий науковий доробок. Основні наукові положення та висновки, сформульовані в дисертації, логічно випливають із одержаних результатів, ґрунтуються на глибокому аналізі та узагальненні одержаних результатів. Вони повністю відповідають поставленій меті та завданням роботи.

Основні наукові результати, одержані автором, та їхня новизна

На основі зниження концентрації глюкози крові натще, відсоткового вмісту глікованого гемоглобіну та покращення толерантності до глюкози після глюкозного та крохмального навантаження вперше встановлено гіпоглікемічний ефект екстрактів плодів різних сортів дерену (сорту `Uholok´, сорту `Koralovyi´, гібридів *C. mas* × *C. officinalis* сортів `Jerzy´ та `Tomasz´) за стрептозотоцин-індукованого ЦД у щурів. Виявлено, що екстракти плодів різних сортів дерену справжнього є ефективними інгібіторами α-глюкозидази.

Вперше досліджено, що екстракти плодів *Cornus mas* L. сорту `Uholok´ та плодів гібридів *Cornus mas* × *Cornus officinalis* сортів `Jerzy´ та `Tomasz´ є конкурентними інгібіторами α-глюкозидази, а екстракт плодів дерену справжнього сорту `Koralovyi´ проявляє неконкурентний тип інгібування цього ензиму.

Вперше виявлено, що екстракти плодів різних сортів дерену справжнього чинять коригуючий вплив на гематологічний профіль, зокрема знижують кількість ретикулоцитів, їхню добову продукцію та підвищують концентрацію гемоглобіну. Пероральне введення тваринам з ЦД екстракту плодів дерену сорту `Uholok´ та екстракту плодів гібридів зумовлювало зростання кількості еритроцитів, а екстракт плодів дерену сорту `Koralovyi´ спричиняв підвищення середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті та кольорового показника.

Виявлено приріст маси тіла тварин з діабетом за введення досліджуваних екстрактів.

З’ясовано здатність екстрактів плодів різних сортів *Cornus mas* L. впливати на функціональний стан еритроцитів за цієї ендокринної патології. На основі аналізу кисень транспортної функції еритроцитів за кривими дисоціації оксигемоглобіну вперше встановлено, що екстракти плодів сортів `Uholok´, `Koralovyi´ та гібридів зміщують криві дисоціації оксигемоглобіну праворуч і підвищують величину P_{50}, знижують вміст метгемоглобіну, посилюють стійкість еритроцитів до дії кислотного гемолітика, а також зменшують здатність еритроцитів до агрегації та підвищують вміст сіалових кислот у складі поверхневих гліканів.

Експериментально встановлено, що екстракти плодів дерену справжнього сортів `Uholok´, `Koralovyi´, `Podolski´, `Yantarnyi´, `Flava´, плодів гібридів *Cornus mas* × *Cornus officinalis* та логанова кислота

проявляють позитивний вплив на показники, які характеризують катаболізм глюкози в еритроцитах: знижують активність лактатдегідрогенази і концентрацію піруват та L-лактату, а також знижують концентрації цих метаболітів у плазмі щурів із діабетом.

Підтверджено антиоксидантну активність екстрактів плодів різних сортів дерену справжнього на основі нормалізації ключових біомаркерних показників, що характеризують розвиток оксидативно-нітративного стресу в еритроцитах й плазмі крові за експериментального діабету. Встановлено, що в еритроцитах діабетичних щурів за введення екстрактів плодів підвищувалася концентрація відновленого глутатіону й активність антиоксидантних ензимів (супероксиддисмутази – за введення екстрактів плодів сорту `Uholok′, `Podolski′, гібридів та логанової кислоти; каталази – за введення екстрактів плодів сорту `Uholok′, `Podolski′, `Yantarnyi′, `Flava′, логанової кислоти, гібридів; глутатіонпероксидази – за введення усіх екстрактів). Екстракти плодів дерену знижують рівень окисно модифікованих білків, вміст кінцевих продуктів оксидації білків і ТБК-позитивних продуктів, а також активність індуцибельної та конститутивної ізоформ NO-синтази та вміст нітрит- і нітрат-аніонів.

Продемонстровано, що за ЦД ліпідний профіль плазми крові зазнає змін, однак введення екстрактів плодів *Cornus mas* L. сортів `Uholok′, `Podolski′, `Yantarnyi′, `Flava′, плодів гібридів *Cornus mas* × *Cornus officinalis* сортів `Jerzy′ та `Tomasz′ і логанової кислоти тваринам з ЦД нівелювало прояви дисліпідемії, проявляючи антиатерогенний потенціал.

Теоретичне та практичне значення отриманих результатів дослідження

Дисертаційна робота описує зміни основних маркерних показників біохімічного профілю плазми й еритроцитів крові тварин зі стрептозотоцин-індукованим ЦД за перорального введення шістьох екстрактів плодів різних сортів дерену справжнього (*Cornus mas* L). Теоретична та практична цінність наукових результатів представленої дисертаційної роботи полягає у встановленні якісного та кількісного складу досліджуваних екстрактів, а також виявленні їхньої гіпоглікемічної, антиоксидантної та антиатерогенної дії. Одержані результати вказують на те, що екстракти плодів різних сортів дерену справжнього є перспективними джерелами біоактивних сполук. Проведені експериментальні дослідження сприяють практичному застосуванню екстрактів як основи для розробки потенційних препаратів для лікування діабету.

Варто зазначити, що результати наукових досліджень, які представлені у дисертації, впроваджено у навчальний процес кафедри біохімії біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка, зокрема вони використовуються під час викладання навчальних дисциплін:

«Біохімія», Біохімія крові» та «Функціональні харчові продукти та їхнє значення для здоров'я людини», що підтверджено відповідною довідкою про впровадження.

Апробація результатів дисертації, повнота викладу основних положень, висновків і рекомендацій

Основні наукові результати та положення дисертації пройшли апробацію на наукових семінарах кафедри біохімії, щорічних звітних наукових конференціях біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка (2023–2026 рр.), а також на 18 наукових конференціях, зокрема міжнародних (Львів, 2023, 2024, 2025; Харків, 2024; Тернопіль, 2024, 2025; Київ, 2024, 2025; Березоточа, 2025; Чернівці, 2025), всеукраїнських (Львів, 2023, 2024; Березоточа, 2024), закордонних (Нітра, 2024) та науково-практичних (Київ, 2024).

За результатами дисертаційного дослідження опубліковано 5 статей: 2 статті у міжнародних виданнях першого квартилю Q1 «*Biomedicine & Pharmacotherapy*» і «*Food and Function*», що індексуються наукометричними базами даних *Scopus* та *Web of Science*, 2 статті в українському фаховому журналі четвертого квартилю Q4 «*Studia Biologica*», що входить до наукометричної бази даних *Scopus* та 1 стаття у фаховому виданні України категорії Б, а також 22 тези доповідей на закордонних, міжнародних, всеукраїнських наукових конференціях та конгресі.

Сукупність усіх публікацій відображає викладені в дисертації результати дослідження, що відповідає вимогам п. 8, 9 вимог до присудження ступеня доктора філософії «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44 (із змінами).

Відомості про дотримання академічної доброчесності

За результатами перевірки дисертаційної роботи Мороз Анни на тему «Біохімічні ефекти екстрактів плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) за експериментального цукрового діабету» на академічну доброчесність встановлено, що загальний відсоток текстових збігів становить 6,32%, що відповідає встановленим вимогам. У наукових публікаціях і дисертаційній роботі Мороз Анни не виявлено ознак академічного плагіату, фальсифікації чи інших порушень, що могли б поставити під сумнів самостійний характер виконання дисертанткою представленого наукового дослідження. Текст є оригінальним, всі цитати коректно позначені та вказані в списку використаних джерел.

Структура та зміст дисертації

Дисертаційна робота відповідає вимогам щодо оформлення дисертацій, які були затверджені наказом Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 р. № 40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації».

Дисертацію викладено українською мовою на 254 сторінках друкованого тексту та проілюстровано 30 рисунками та 4 таблицями. Дисертація складається з анотації українською й англійською мовами та розділів: «Вступ», «Огляд літератури», «Матеріали та методи досліджень», «Результати досліджень», «Аналіз та узагальнення результатів досліджень», «Висновки», «Список використаних джерел» і «Додатки». До списку літератури входять 283 найменування.

Дисертаційна робота розпочинається з анотації дисертації, які написані державною та англійською мовами. В анотації стисло представлені основні результати дослідження із зазначенням наукової новизни і практичного значення. У «Вступі» обґрунтовано актуальність обраної теми дослідження, наведено об’єкт і предмет дослідження, сформульовано мету та завдання дослідження, розкрито наукову новизну та практичне значення отриманих результатів, описані методи досліджень, висвітлено особистий внесок здобувачки, а також наведено коротку інформацію про публікації, схарактеризовано структуру й обсяг дисертації.

У розділі дисертації «Огляд літератури» проаналізовано наукові публікації, що характеризують етіологію цукрового діабету першого типу та зміни структурно-функціонального стану еритроцитів за даного захворювання. У підрозділі 1.5 детально охарактеризовано екстракти плодів дерену як перспективні терапевтичні засоби. Проведений дисертанткою ґрунтовний аналіз значної кількості літературних джерел дав змогу здобувачці зробити висновок про пріоритетність обраної теми наукової роботи.

Розділ «Матеріали та методи дослідження» містить 20 підрозділів, де достатньо детально описані методи досліджень, які відповідають меті та завданням дисертаційної роботи. Починаючи з підрозділу 2.3 наведено інформацію про умови проведення дослідів *in vivo* на білих щурах-самцях лінії Wistar, зокрема метод індукції ЦД введенням стрептозотоцину, спосіб і дозу введення тваринам екстрактів плодів дерену; визначення концентрації глюкози у периферичній крові, толерантності до глюкози та крохмалю у щурів усіх досліджуваних груп. Описано забір крові та виділення плазми, отримання гемолізатів еритроцитів. Наведено методики дослідження системи еритрону (кількості ретикулоцитів і еритроцитів, концентрації гемоглобіну, вмісту глікованого гемоглобіну). Підрозділ 2.12 присвячений дослідженню функціонального стану еритроцитів (стійкість еритроцитів до кислотного гемолітика, альціан-індукована агрегація еритроцитів, визначення концентрації сіалових кислот, дослідження спорідненості гемоглобіну до

кисню). Задля характеристики оксидативнонітративного стресу описано методики визначення активності ензимів антиоксидантної системи (супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази), рівня продуктів окисної модифікації білків, перекисного окиснення ліпідів і вмісту відновленого глутатіону; дослідження стану системи L-аргінін/нітроген оксид (сумарної активності NO-синтази та її індуцибельної ізоформи, вмісту нітрит- і нітрат-аніонів). У підрозділі 2.18 наведено визначення показників ліпідного профілю плазми крові (вмісту холестеролу, тригліцеридів, холестеролу ліпопротеїнів високої та низької щільності), а також у підрозділі 2.19 наведено методи розрахунку індексів атерогенності плазми крові.

У третьому розділі «Результати досліджень» представлені результати досліджень біологічних ефектів екстрактів плодів дерену за перорального введення тваринам з експериментальним ЦД. Проаналізовано гіпоглікемічний ефект, а також вплив екстрактів на гематологічні показники. Починаючи з підрозділу 3.4 наведено вплив екстрактів плодів дерену на морфофункціональний стан еритроцитів, показники енергетичного забезпечення клітин, ліпідний профіль плазми крові у нормі та за діабету. Результати роботи про антиоксидантну активність екстрактів плодів дерену *in vivo* наведено у підрозділі 3.6, зокрема вплив досліджуваних екстрактів на ензиматичну ланку системи антиоксидантного захисту, рівень продуктів окисної модифікації білків і перекисного окиснення ліпідів. Отримані результати досліджень наведено у 4 таблицях та представлено на 24 рисунках. Усі підрозділи третього розділу містять підсумки, які узагальнюють проведену експериментальну роботу та є критичним висвітленням новизни, яку вона вносить у дослідження проблеми.

Четвертий розділ «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» містить детальний аналіз одержаних результатів з обговоренням виявлених змін основних досліджуваних показників. Розділ проілюстровано підсумковими схемами, які підсумовують біологічні ефекти екстрактів плодів різних сортів *Cornus mas* L. на основі біомаркерних показників.

Аналіз та узагальнення результатів досліджень, одержаних дисертанткою, свідчить про повноту вирішення нею поставлених завдань, їхню наукову новизну та практичну цінність.

Шість висновків, що наведені у дисертації, узагальнюють і достатньо повно висвітлюють одержані результати та основні положення дисертації. Список використаних джерел оформлений за встановленим стандартом, містить 283 публікації. У Додатку представлено список праць здобувачки за темою дисертації, а також кількісний та якісний склад екстрактів плодів різних сортів дерену, використаних у дослідженні.

Дискусійні положення та зауваження до дисертації

Детальний аналіз дисертаційної роботи Мороз Анни Андріївни свідчить, що наукова робота за своїм змістом і формою є завершеним самостійним науковим дослідженням. Висловлюючи позитивну оцінку дисертаційної роботи в цілому, слід вказати, що суттєвих зауважень до роботи немає, проте у тексті дисертації трапляються деякі технічні помилки та неточності. Водночас варто зазначити наявність окремих запитань дискусійного характеру.

1. Чи проводилась стандартизація отриманих екстрактів (за вмістом біологічно активних речовин, маркерних сполук або іншими показниками)?

2. З огляду на встановлену здатність досліджуваних екстрактів інгібувати активність α-глюкозидази, яким чином можна пояснити вищий рівень глюкози в крові піддослідних тварин при крохмальному навантаженні порівняно з результатами глюкозотолерантного тесту?

3. Як можна пояснити той факт, що при введенні екстракт плодів *Cornus mas* L. сорту `Uholok´ тваринам з експериментальним цукровим діабетом спостерігається зростання кількості еритроцитів при одночасному зниженні кількості ретикулоцитів та їхньої добової продукції?

4. Чи досліджувався вплив екстрактів на показники, представлені в дисертації, у здорових тварин? Якщо так, чи зафіксовано відхилення від фізіологічної норми?

5. У підрозділах 3.2–3.4 досліджено вплив трьох екстрактів, тоді як у наступних експериментах використано вже шість сполук. Чим обґрунтоване розширення переліку досліджуваних об’єктів?

6. На с. 115 зазначено, що екстракт плодів *Cornus mas* L. сорту `Uholok´ сприяв збільшенню популяції еритроцитів зі зниженою резистентністю (ретикулоцитів та «старих» еритроцитів). Водночас у подальших дослідженнях показано зменшення кількості ретикулоцитів при введенні цього екстракту. Як можна пояснити таку невідповідність? Крім того, на рис. 4.5 продемонстровано виражений позитивний ефект екстракту плодів *Cornus mas* L. сорту `Uholok´ на стійкість еритроцитів до гемолізу. Чим обумовлений такий висновок?

7. На с. 115 зазначено, що введення екстрактів плодів *Cornus mas* L. сорту `Uholok´ та гібридів *C. mas* × *C. officinalis* сортів `Jerzy´ та `Tomasz´ щурам із цукровим діабетом призводило до пригнічення утворення агрегатів і зниження ступеня агрегації за світлопропусканням на 17% та 31% відповідно. Водночас у другій частині табл. 3.4 (показник розміру агрегатів) спостерігається збільшення ступеня агрегації після введення цих екстрактів. Чим, на Вашу думку, можна пояснити такі розбіжності результатів?

8. Чим, на Вашу думку, можна пояснити той факт, що введення екстракту *плодів Cornus mas* L. сорту `Koralovyi´ не впливає на активність супероксиддисмутази, водночас виявляючи позитивний ефект щодо підвищення активності каталази та глутатіонпероксидази? Що у даному випадку є джерелом пероксиду водню?

Однак, виявлені незначні упущення, що були виявленні в процесі рецензування роботи суттєво не впливають на науковий і методичний рівень дисертації, а тому не зменшують науко-практичної цінності роботи, яка є актуальним, завершеним дослідженням, що виконано на високому науковому та методичному рівні.

Висновки про відповідність дисертації встановленим вимогам

Дисертаційна робота Мороз Анни Андріївни «Біохімічні ефекти екстрактів плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) за експериментального цукрового діабету» є завершеною науковою працею. Вважаю, що за актуальністю і новизною теми методичними підходами, обсягом, ґрунтовністю аналізу та інтерпретацією отриманих даних, повнотою викладу принципових наукових положень, науково-теоретичним і практичним значенням та кількістю публікацій повністю відповідає вимогам Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 року № 44 (із змінами, внесеними згідно з постановами Кабінету Міністрів України № 341 від 21 березня 2022 р., № 502 від 19 травня 2023 р. та № 507 від 3 травня 2024 р.), а дисертантка Мороз Анна Андріївна, з урахуванням виконання у повному обсязі освітньої складової освітньо-наукової програми та індивідуального плану наукової роботи, заслуговує присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Рецензент:
кандидат біологічних наук,
доцентка кафедри біохімії
Львівського національного університету
імені Івана Франка **Олена КАНЮКА**