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

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора біологічних наук, професора, професорки кафедри молекулярної біотехнології та біоінформатики Київського національного університету імені Тараса Шевченка **Цимбалюк Ольги Володимирівни** на дисертацію **Мороз Анни Андріївни** на тему «**Біохімічні ефекти екстрактів плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) за експериментального цукрового діабету**», подану до захисту на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія»

Актуальність теми дисертації. Цукровий діабет (ЦД) є групою метаболічних розладів організму, які характеризуються гіперглікемією, спричиненою недостатньою секрецією інсуліну β-клітинами острівців Лангерганса підшлункової залози та/або порушенням сприйнятливості до інсуліну тканин (інсулінорезистентності).

Загальносвітова поширеність ЦД натепер оцінюється як близько 10% від загальної кількості населення; переважно це випадки захворювання на ЦД 2 типу, головною характеристикою якого є інсулінорезистентність. Значно менш поширеним вважать ЦД 1 типу, який найчастіше спричиняється автоімунним руйнуванням β-клітин. Індукція ЦД 1 типу визначається генетичною схильністю – специфічними гаплотипами II класу лейкоцитарного антигену людини, а також в значній мірі факторами навколишнього середовища, серед яких найбільш значущими є різноманітні вірусні інфекції, зокрема і SARS-CoV-2. Втім, натепер не викликає сумніву, що прогресування одного типу ЦД часто набуває властивостей іншого типу, так що високоймовірним є сукупність дисфункційних порушень – інсулінорезистентність на тлі недостатності секреції інсуліну β-клітинами підшлункової залози. Також важливо зауважити, що за прогресії патології в випадку обох типів ЦД спостерігаються спільні ускладнення, як то оксидативний стрес, запалення, дисфункція мітохондрій з надмірним продукуванням вільних радикалів, анаболічна резистентність.

Сучасна фармакотерапія ЦД 2 типу передбачає застосування таких препаратів як метформін, інгібітори α-глюкозидази, глітазони, агоністи рецепторів глюкагоноподібного пептиду та інші. Разом з тим, тривале застосування зазначених сполук має суттєві недоліки, оскільки часто спричиняє побічні ефекти і ускладнення в організмі пацієнтів. Тож розробка і впровадження нових стратегій лікування і профілактики ЦД на основі природних сполук, які позбавлені багатьох недоліків сучасних медичних препаратів, є вкрай необхідною і залишається надзвичайно актуальною. Саме на вирішення цього завдання спрямоване дисертаційне дослідження Мороз Анни Андріївни «Біохімічні ефекти екстрактів плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) за експериментального цукрового діабету».

Отже, **мета** дисертаційного дослідження Мороз Анни Андріївни «Біохімічні ефекти екстрактів плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) за експериментального цукрового діабету» є надзвичайно актуальною. **Завдання** дослідження сформульовані коректно.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано на кафедрі біохімії біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка в межах наукових тем «Дослідження дії біологічно активних речовин природного походження з метою корекції патологій, що супроводжуються гіперглікемією», «Корекція метаболічних порушень фітопрепаратами та біологічно активними речовинами лікарських грибів за гіперглікемічних станів», а також за кошти індивідуальних ґрантів Польського національного агентства академічного обміну.

Структура роботи. Дисертаційна робота А. А. Мороз «Біохімічні ефекти екстрактів плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) за експериментального цукрового діабету» містить такі розділи: «Вступ», «Огляд літератури», «Матеріали та методи досліджень», «Результати досліджень», «Аналіз та узагальнення результатів досліджень», «Висновки», «Список використаних джерел» та «Додатки». Дисертацію викладено на 254 сторінках друкованого тексту і проілюстровано 30 рисунками та 4 таблицями. Список літератури сформовано з 283 найменувань.

Вступ до дисертації написано послідовно і лаконічно. У ньому автор розкрила суть проблеми, обґрунтувала актуальність теми, окреслила мету і завдання дослідження, висвітлила наукову новизну і власний внесок, а також навела об'єкт, предмет і методи дослідження, вказала публікації та апробацію результатів дисертаційного дослідження.

У першому розділі **«Огляд літератури»** автором на надзвичайно високому рівні проаналізовано дані сучасної наукової літератури щодо кількох аспектів, які мають безпосереднє відношення до проблеми дисертаційного дослідження.

По-перше, наведено ґрунтовний аналіз інформації щодо особливостей етіології та патогенезу ЦД 1 типу, особливостей метаболізму вуглеводів і ліпідів за даної патології, зокрема розкрито біохімічні механізми альтернативних процесів асиміляції глюкози. По-друге, автором проаналізовано структурно-функціональні характеристики еритроцитів у нормі та за ЦД 1 типу. По-третє, розкрито склад біологічно-активних речовин, які містяться у екстрактах плодів різних сортів дерену справжнього і дерену лікарського, які культивуються в Україні, а також обґрунтовано ймовірну перспективність терапевтичного застосування цих екстрактів. Підсумовуючи наведену інформацію, Анна Андріївна акцентує увагу на необхідності дослідження біологічних ефектів і їх біохімічних механізмів при застосуванні екстрактів дерену як дуже перспективної основи створення ліків з антидіабетичною активністю.

Другий розділ дисертаційної роботи **«Матеріали та методи досліджень»** містить детальний опис рослинних матеріалів і приготування екстрактів із плодів дерену, а також методів досліджень. Зокрема, детально описано методику створення і валідації стану ЦД у щурів, отримання крові і її складників. Також надано детальний опис методичних підходів для визначення клітинного складу і інших гематологічних параметрів крові, глюкозозалежних показників крові, біохімічних характеристик інгібування α-глюкозидази екстрактами плодів дерену, показників функціонального стану еритроцитів, анаеробного метаболізму глюкози, стану антиоксидантної системи у еритроцитах і плазмі крові, окисної модифікації протеїнів і ліпідів, параметрів рівня нітритивного стресу, обміну ліпідів і атерогенності плазми крові. Таким чином, автор передбачила максимально комплексне, із залученням декількох десятків методів, дослідження біохімічних механізмів антидіабетичної активності екстрактів плодів дерену.

Наступний розділ «**Результати досліджень**» автор присвячує поетапному і логічно структурованому викладенню результатів власних досліджень. Так, у першому підрозділі **«Характеристика екстрактів плодів різних сортів *Cornus mas* L.»** наведено інформацію щодо кількісних характеристик біологічно-активних речовин у плодах дерену різних сортів та аргументовано дослідження окремих біохімічних і гематологічних показників за моделі стрептозотоцин-індукованого діабету щурів.

У другому підрозділі «**Антигіперглікемічний ефект екстрактів плодів різних сортів дерену справжнього**» наведено результати досліджень автора щодо антиглікемічної дії (концентрацію глюкози в крові натще, результати тестів на толерантність до глюкози і крохмалю та інгібіторні властивості щодо α-глюкозидази плодів різних сортів *Cornus mas* L. та їх гібридів); встановлено, що всі рослинні препарати є ефективними, але за сукупністю параметрів

найкращу антиглікемічну активність має екстракт плодів гібридів *C. mas* × *C. officinalis* сортів `Jerzy´ та `Tomasz´.

Третій підрозділ «**Характеристика гематологічних показників і приросту маси тіла тварин з експериментальним цукровим діабетом за введення екстрактів плодів різних сортів *Cornus mas* L.**» містить результати досліджень щодо ефективності нормалізації екстрактами плодів дерену гематологічних характеристик (кількості ретикулоцитів, еритроцитів, концентрації гемоглобіну в еритроцитах) та приросту маси тіла щурів з індукованим діабетом; доведено найвищу ефективність нормалізації гематологічних показників екстрактом плодів сорту `Koralovyi´.

У четвертому підрозділі «**Аналіз впливу екстрактів плодів різних сортів дерену справжнього на функціональний стан еритроцитів щурів з діабетом**» автор наводить результати вивчення структурно-функціонального стану мембран еритроцитів (їх стійкість до гемолізу, вміст сіалових кислот, агрегаційну здатність клітин), а також кисень-транспортувальної здатності і вмісту метгемоглобіну в еритроцитах при застосуванні екстрактів плодів дерену в умовах стрептозотоцин-індукованого діабету щурів; важливо відмітити, що, як і у випадку найкращої здатності нормалізації гематологічних показників крові, найбільшу ефективність відновлення функціонального стану еритроцитів за діабету мав екстракт плодів дерену сорту `Koralovyi´.

П’ятий підрозділ «**Вплив екстрактів плодів різних сортів *Cornus mas* L. на вміст кінцевих метаболітів катаболізму глюкози в еритроцитах і плазмі крові тварин із експериментальним діабетом**» містить результати дослідження особливостей катаболізму глюкози у щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом та його нормалізацію (за параметрами концентрацій пірувату, лактату і їх співвідношення, а також активності ензиму лактатдегідрогенази, в еритроцитах і плазмі крові). Автором аргументовано доведено, що усі екстракти плодів *Cornus mas* L. здатні за ЦД нормалізувати метаболізм глюкози як в еритроцитах, так і загалом в організмі. Найбільшу ефективність в даному аспекті проявили екстракти з плодів сортів `Podolski´ та `Uholok´.

У шостому підрозділі «**Антиоксидантні властивості екстрактів плодів різних сортів дерену**» автор виклала результати досліджень активностей ензимів антиоксидантної системи (супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази), а також рівнів відновленого глутатіону, окисно-модифікованих протеїнів та показників нітритивного стресу, в еритроцитах і плазмі крові тварин з ЦД при застосуванні екстрактів плодів дерену. Автор довела, що усі досліджені в роботі екстракти здатні ефективно пригнічувати оксидативний стрес (з найвищою ефективністю екстрактів плодів гібридів

C. mas × *C. officinalis* сортів `Jerzy´ та `Tomasz´), але антинітративну активність мають лише екстракти плодів *Cornus mas* L. сорту `Podolski´ та гібридів *C. mas* × *C. officinalis*.

Сьомий підрозділ «**Вплив екстрактів плодів різних сортів *Cornus mas* L. на показники ліпідного профілю плазми крові діабетичних тварин**» містить систематизацію результатів щодо ефективності екстрактів плодів дерену та окремо складової екстрактів – логанової кислоти, нормалізувати ліпідний профіль плазми крові щурів за стрептозотоцин-індукованого діабету та знижувати ризик розвитку атеросклерозу за даної патології. Доведено, що усі досліджені екстракти плодів терену проявляють активність щодо нормалізації ліпідного профілю, але найбільш ефективною є саме активний компонент екстрактів логанова кислота.

Варто відзначити, що кожен підрозділ експериментальної частини дисертаційної роботи А. А. Мороз закінчується короткими висновками та посиланнями на публікації автора. Загалом, результати наукової експертизи методичного та експериментального розділів роботи беззаперечно вказують на те, що А. А. Мороз є надзвичайно кваліфікованим вченим-експериментатором і вона цілком здатна вирішувати складні наукові проблеми біології та біохімії.

Четвертий розділ розділ дисертаційної роботи **«Аналіз та узагальнення результатів досліджень»** авторка детально аналізує отримані у роботі результати, аргументовано та посилаючись на найсучасніші дані інших вчених обговорює механізми реалізації окремих антидіабетичних ефектів екстрактів плодів дерену. Особливо варто відзначити, що у даному розділі містяться розроблені автором на основі власних досліджень декілька узагальнюючих схем і підсумкових таблиць, що узагальнюють і графічно підсумовують висновки роботи та візуалізуючи, зокрема, механізми гіпоглікемічної і протекторної щодо серцево-судинної системи дії екстрактів плодів *Cornus mas* L.

Висновки дисертаційної роботи А. А. Мороз «Біохімічні ефекти екстрактів плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) за експериментального цукрового діабету» відповідають її змісту та поставленій меті, співставні з поставленими завданнями та висвітлюють головні наукові здобутки.

Обґрунтованість та достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Дисертація А. А. Мороз «Біохімічні ефекти екстрактів плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) за експериментального цукрового діабету» є закінченою кваліфікаційною роботою, в якій отримано нові наукові результати, що мають велику теоретичну і практичну цінність. Дослідження проведено з використанням достатньої кількості експериментального матеріалу і повторюваності дослідів. Аналіз одержаних результатів проведено із використанням комплексу максимально

адекватних і сучасних методів та підходів. Залучення найбільш нових вітчизняних і закордонних наукових публікацій з досліджуваної тематики дало змогу автору всебічно проаналізувати та обговорити отримані результати досліджень. Подані у кінці кожного підрозділу висновки обґрунтовані результатами власних експериментальних досліджень, які належним чином проаналізовані статистично. Виклад основного матеріалу дисертації є коректним та відзначається високим науково-теоретичним рівнем.

Наукова новизна одержаних результатів. Розглядаючи основні питання наукової новизни представленої дисертації, необхідно відзначити, що А. А. Мороз вперше здійснила комплексне дослідження гіпоглікемічних властивостей та біохімічних механізмів антидіабетичної дії екстрактів плодів дерену декількох сортів і гібридів.

Також у цьому дослідженні із використанням низки методів вперше встановлено здатність екстрактів плодів дерену окремих видів спричиняти коригування гематологічних показників та покращувати функціональний стан еритроцитів за патології діабету.

Варто відзначити також вперше виявлені А. А. Мороз антиатерогенні і антиоксидантні властивості екстрактів плодів окремих видів і гібридів дерену, а також здатність пригнічувати окисну модифікацію протеїнів в умовах цукрового діабету.

Практичне значення роботи. Варто відзначити, що дисертаційне дослідження А. А. Мороз «Біохімічні ефекти екстрактів плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) за експериментального цукрового діабету» має велике практичне значення, оскільки в ньому детально досліджено у порівняльному аспекті антидіабетичні, антиатерогенні та антиоксидантні властивості (сумарно понад сорок біохімічних і гематологічних показників) плодів *Cornus mas* L., гібридів *C. mas* × *C. officinalis* і логанової кислоти. Таким чином, у роботі міститься великий масив даних, які безпосередньо можуть бути використані для створення новітніх лікарських засобів нового покоління (та підбору найбільш оптимального їх дозування) для лікування і профілактики цукрового діабету та метаболічних порушень.

Також, результати дисертаційної роботи мають суттєве практичне значення з точки зору їх впровадження в педагогічний процес закладів вищої освіти хімічного, біологічного та медичного спрямування.

Повнота викладу результатів дисертації в опублікованих працях. Дисертація А. А. Мороз «Біохімічні ефекти екстрактів плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) за експериментального цукрового діабету» виконана на достатньому експериментальному матеріалі за допомогою групи найбільш адекватних сучасних методик відповідно до мети та завдань

дисертаційної роботи. Усі наукові положення і висновки цілком обґрунтовані, випливають зі змісту дисертаційної роботи, мають теоретичне і практичне значення.

Матеріали дисертаційної роботи повністю відображені в 27 друкованих працях, з яких 5 – статті у фахових наукових виданнях (зокрема 2 статті у міжнародних виданнях, що належать до Q1, та 2 статті у фаховому виданні України, що належить до Q4).

Матеріали дисертації апробовані на 22 закордонних, міжнародних і всеукраїнських наукових конференціях і конгресі.

Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності. У дисертації А. А. Мороз «Біохімічні ефекти екстрактів плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) за експериментального цукрового діабету» не виявлено ознак академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації та інших порушень, що могли б поставити під сумнів самостійний характер виконання дисертаційного дослідження.

Дискусійні положення та зауваження щодо змісту та оформлення дисертації.

Зауважень по суті до роботи не маю.

У процесі ознайомлення з матеріалами дисертаційної роботи у мене виникли наступні дискусійні моменти і запитання:

1. При проведенні тестів на глюкозотолерантність терапевтична ефективність екстрактів плодів дерену у випадку навантаження крохмалем не мала такого вираженого ефекту як у випадку навантаження глюкозою. З яких можливих причин, на Вашу думку, виникла така відмінність ефективності? Також, як Ви вважаєте, чому у випадку різних джерел вуглеводного навантаження (глюкоза і крохмаль) відрізняються найбільш ефективні екстракти плодів?

2. Чому, на Вашу думку, екстракти плодів дерену мають властивість інгібувати α-глюкозидазу? З чим може бути пов’язаний різний тип інгібування цього ензиму окремими екстрактами?

3. Як можна пояснити, що екстракти плодів дерену різних сортів мали найкращу ефективність щодо зниження активності лактатдегідрогенази в еритроцитах (сорту `Uholok´ та логанова кислота) і плазмі крові (сорту `Koralovyi´, сортів `Yantarnyi´ & `Flava´) щурів із стрептозотоцин-індукованим ЦД?

4. У роботі трапляються окремі опечатки і неточності.

Загальний висновок про відповідність роботи встановленим вимогам. Аналіз дисертації та опублікованих праць дає підстави для висновку про те, що дослідження Анни Андріївни Мороз є завершеним, цілісним та самостійним. Вважаю, що дисертаційна робота **Анни Андріївни Мороз «Біохімічні ефекти екстрактів плодів дерену справжнього (*Cornus mas* L.) за експериментального цукрового діабету»** за обсягом і рівнем виконаних досліджень, отриманими результатами, оформленням та ілюстрованістю дисертаційна робота заслуговує позитивної оцінки і відповідає вимогам, передбаченим п.п. 6, 7, 8 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. No 44 (із змінами, внесеними згідно з Постановами КМ No 341 від 21.03.2022, No 502 від 19.05.2023 та No 507 від 03.05.2024). Вважаю, що Анна Андріївна Мороз заслуговує на присудження ступеня доктора філософії зі спеціальності 091 «Біологія» (галузь знань 09 «Біологія»).

Офіційний опонент:
професорка кафедри молекулярної
біотехнології та біоінформатики
Навчально-наукового інституту високих технологій
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка МОН України,
доктор біологічних наук, професор **Ольга ЦИМБАЛЮК**