



ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу
Гачкової Галини Ярославівни на тему: «**Молекулярні основи антидіабетичної дії біологічно активних речовин, виділених з лікарських рослин *Galega officinalis* L. та *Smallanthus sonchifolius* (Poerpp. et Endl.) H. Robinson»,**
подану на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія

Актуальність теми. Дисертаційна робота Галини ГАЧКОВОЇ, присвячена з'ясуванню молекулярно-клітинних механізмів коригуючого впливу рослинних продуктів, отриманих з *Galega officinalis* L. (козлятник лікарський) та *Smallanthus sonchifolius* (Poerpp. & Endl.) H. Robinson (якон) при цукровому діабеті, - це підсумок системної багаторічної праці автора, спрямованої на розробку ефективних щодо корекції цукрового діабету препаратів рослинного походження, з'ясування клітинно-біохімічних механізмів їх дії та виокремлення біомаркерів ефекту. Представлені результати є органічною складовою багаторічної наукової діяльності кафедри біохімії ЛНУ під керівництвом проф Наталії СИБІРНОЇ і переконливо відображає досягнення цієї наукової школи.

Цукровий діабет (ЦД) є визначальною хворобою ХХІ ст, тому науковий пошук, спрямований на корекцію цього захворювання та розуміння його етиології, заслуговує на особливу увагу. Останні опубліковані оцінки свідчать про те, що до 2050 року більше 1,31 мільярда людей у всьому світі можуть жити з цією хворобою, що змінює якість життя, посилює ризик смертності, взаємодіє з багатьма іншими хворобами та загострює їх. Хоча близько 90% усіх випадків діабету (з 529 мільйонів у 2021 р) припадало на цукровий діабет II типу, тоді як створена дисертантною модель стосується діабету I типу, гіперглікемія та, як наслідок окисний стрес, є спільним діабетичним ускладненням, на шляхи корекції якого спрямовані зусилля науковців, у тому числі і згаданої наукової школи. Більше того, гіперглікемія має ширший діапазон чинників (стрес, численні захворювання), ніж ЦД. Робота, що виноситься на захист, продовжує серію досліджень, послідовно спрямованих на пошуки коректорів гіперглікемічного стану засобами рослинного походження, які мають переваги над синтетичними засобами завдяки полівалентності та багатофакторності. Відтак, пошук зваженої схеми фітотерапії на основі рослинної сировини та біохімічних критеріїв її ефективності має велику теоретичну вагу та практичну актуальність.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана у рамках п'яти науково-дослідних робіт кафедри біохімії Львівського національного університету імені Івана Франка де авторка є співвиконавцем («Розробка цукрознижуvalьних препаратів на основі біологічно активних речовин окремих лікарських рослин» (№ держреєстрації 0110U003147); «Молекулярні механізми антидіабетичної дії екстракту галеги лікарської» (№ держреєстрації 0110U003147); «Створення

і дослідження біологічного впливу функціонального продукту харчування на основі фітопрепаратів, що мають антиоксидантну та цукрознижувальну дію» (№ держреєстрації 0116U001674); «Дослідження дії біологічно активних речовин природного походження з метою корекції патологій, що супроводжуються гіперглікемією» (№ держреєстрації 0116U001674). Робота також була виконана в рамках гранту від Державного фонду фундаментальних досліджень «Молекулярні механізми антидіабетичної дії препаратів рослинного походження» (№ держреєстрації 0113U005313) та за фінансової підтримки Західно-Українського центру біомедичних досліджень (West-Ukrainian BioMedical Research Center – WUBMRC) «The study of molecular mechanisms of leukocytes structural and functional state changes under the conditions of experimental diabetes mellitus type 1 and its correction by admission of *Galega officinalis* extract»).

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Дисертаційна робота Гачкової Г. Я. має чітко сформульовану мету та окреслені основні завдання роботи для досягнення цієї мети. Усі експериментальні результати, наукові положення і висновки дисертаційної роботи побудовані на матеріалах власних досліджень. Робота виконана з використанням сучасних експериментальних методів досліджень, які є науково обґрунтованими і достовірними, та із дотриманням біоетичних вимог. Отримані результати опрацьовано статистично. Представлена дисертація є оригінальною науковою працею, яка виконана на належному методичному та теоретичному рівнях. Робота має послідовну та логічну структуру і є комплексним та завершеним науковим дослідженням. Аргументований аналіз результатів власних досліджень свідчить про високий рівень наукової компетентності автора.

Наукова новизна одержаних результатів полягає у отриманні нових даних щодо біохімічних і клітинних патологічних змін при діабеті, зокрема з'ясовано механізми зниження локомоторної функції лейкоцитів за умов ЕЦД на рівні реорганізації актинового цитоскелету, що зумовлює неефективну роботу імунокомпетентних клітин крові і є основою незавершеного фагоцитозу та хронічного запалення. Показано, що інтенсифікація апоптозу лейкоцитів за досліджуваної патології є клітинним механізмом зниження кількості імунокомпетентних клітин крові. Дисертантою встановлено велику доказову базу корегуючого впливу безалкалойдних препаратів рослинного походження на організм за ЦД, включно з клітинно-біохімічними характеристиками клітин крові та β-клітин острівців Лангерганса підшлункової залози щурів. Позитивний ефект корекції доведено на рівні оцінки вмісту інсуліну та С-пептиду у плазмі крові та цитопротекторного впливу на підшлункову залозу щурів. Встановлено, що фітопрепарати на основі безалкалойдного екстракту козлятника лікарського та порошку кореневих бульб якона володіють вираженою антиоксидантною дією.

Коригуюча дія безалкалойдного екстракту козлятника лікарського на функціональний стан лейкоцитів реалізується шляхом впливу на процеси формування елементів актинового цитоскелету та завдяки кількісному перерозподілу глікокон'югатів мембрани лейкоцитів з різною структурою

вуглеводних детермінант. Вперше встановлено здатність досліджуваних фітопрепаратів пригнічувати процес апоптозу лейкоцитів за ЦД.

Практичне значення і перспектива роботи полягають у створенні методологічних зasad для розробки нових підходів у корекції гіперглікемії, що ґрунтуються на використанні препаратів козлятника та якону. Обрані показники можуть бути використані як нові біомаркери рівня гіперглікемічної патології.. Практичну цінність отриманих результатів засвідчують два отримані патенти на винахід. Для подальшого використання препаратів якона та козлятника важливе значення мають результати визначення хімічного складу безалкалоїдного екстракту козлятника лікарського методами газової хромато-мас-спектрометрії та високоефективної рідинної хроматографії, поєднаної з мас-спектрометрією та оцінка їх антиоксидантного потенціалу, а також розробка технології використання поверхнево-активних речовин біологічного походження та доведення відсутності токсичного ефекту отриманого продукту.

Структура та основний зміст дисертації. Дисертація Галини ГАЧКОВОЇ написана з дотриманням вимог МОН України до структури та співвідношення обсягу складових. Обсяг дисертаційної роботи становить 294 сторінки друкованого тексту. Дисертація ілюстрована 27 таблицями, 60 рисунками. Список використаних джерел складає 311 найменувань, з них – 15 кирилицею та 296 латиницею. Структура та обсяг роботи відповідають вимогам МОН України.

В **Огляді літератури**, на який припадає 15 % основної частини, розглянуто сучасні уявлення про механізми, які залучені у розвитку дисфункції β-клітин підшлункової залози при ЦД, а саме розглянуто роль стресу ендоплазматичного ретикулуму, мітохондріальної дисфункції та оксидативно-нітративного стресу. Цей розділ виконано у кращих традиціях аналітичних оглядів і засвідчує наукову ерудицію автора. При цьому у аргументації використовуються сучасні джерела інформації, встановлюються логічні взаємозв'язки між досліджуваними характеристиками. Особливо імпонує аналіз стресу ендоплазматичного ретикулуму.

Авторка розглянула компонентний склад козлятника лікарського та якона, як потенційних джерел біологічно активних речовин з антидіабетичною дією та проаналізувала відомі механізми дії біологічно активних речовин, наявних у їхньому складі. Усе це визначає актуальність проведених досліджень.

У розділі **Матеріали та методи досліджень** дисерантка представила дизайн експерименту у вигляді схем, що добре унаочнює та значно полегшує сприйняття наведеної інформації. У цьому розділі описано **сучасні методи**, які було використано у роботі. Варто наголосити, що дисеранткою було застосовано достатній набір адекватних і сучасних методів, завдяки чому вдалося вирішити поставлені завдання. Крім того, при описі методів оцінки антиоксидантного потенціалу сировини подано інформацію, важливу для інтерпретації результатів щодо методу DPPH. Проте для методів ABTS та FRAP не вказано, які саме донори протонів вони використовують, позаяк це важливо при дослідженні впливу рослинних препаратів.

У розділі **Результати дослідження** представлено результати коригуючого впливу біологічно активних речовин козлятника лікарського та якона на метаболічні, структурні і функціональні порушення клітин крові (еритроцити і лейкоцити) та підшлункової залози за умов ЕЦД.

У розділі **Аналіз отриманих результатів** авторка слушно аргументує, що з огляду на багатофакторну етіологію ЦД, лікування цього захворювання вимагає різностороннього розуміння та багатоцільових підходів, які і були реалізовані у представлений дисертациї. Дисерантка узагальнює результати, які були отримані протягом виконання досліджень, а також обґрунтovує основні положення дисертації з використанням узагальнюючої схеми молекулярних ефектів фітопрепаратів на основі *G. officinalis* та *S. sonchifolius* за умов ЕЦД, на якій зазначено можливі мішені впливу компонентів цих фітопрепаратів. Ця схема відбиває системність і масштабність проведеного дослідження.

Робота завершується вісма **Висновками**, які є коректними та відповідають поставленим завданням. Якість викладення та аналізу матеріалу вказує на належний рівень фахової підготовки дисерантки та системне мислення. Робота написана філологічно та науково грамотно.

Зauważення, які стосуються оформлення та змісту дисертації.

Принципових недоліків у роботі мною не виявлено, але є низка питань дискусійного характеру та зауважень до термінології і подання цифрового матеріалу.

1. Вплив рослинної сировиниaprіорі визначається як коригуючий, хоча у завданні 2 «Дослідити гіпоглікемічний ефект» (краще: «**встановити, довести, пересвідчитися**»), а у тексті послиється на попередні **результати, які доводять корегуючий вплив**, проте не обґрунтovують його детальним аналізом.
2. У завданнях 6, 8 та по тексту роботи слід чіткіше розрізняти поняття – «комpleksi біологічно активних речовин, речовини» – адже досліджувалися безалкалойдні екстракти та суспензії рослинної сировини, тобто суміші, а не комплекси.
3. У розділі 2 «Матеріали і методи дослідження» наявна занадто розлога деталізація тривіальних лабораторних методів. Натомість не знайдено опису процедури евтаназії, відбору і умов збереження тканини підшлункової залози.
4. У Матеріалах і методах слід було уточнити, що рослинні препарати вводили протягом 14 діб (ця інформація є лише у схемах) (С. 70).
5. С 71. – слід було вказати, чи погоджувала комісія з **етики та біоетики** університету ці дослідження?
6. С 71. варто було згадати науковців, які забезпечили рослинним матеріалом для дослідження.
7. Щодо авторства методів варто указувати авторство оригінальне, або: як описано у (*Сибірна, Маєвська, et al., 2006*).

8. Не завжди вказано, у якій саме тканині визначали показники (СОД, ТБК-РП) та які зразки брали для аналізу (10% гомогенат, супернатант, тощо, як інгібували протеази).
 9. Аналітична цінність визначення глутатіону посилилась би, якщо би використали ензиматичний метод визначення редокс-індексу глутатіону.
 10. Трапляються некоректні вирази, недбалості у пунктуації. Наприклад, С 98, підрозділ 2.33.1. Оцінка кисень-залежної бактерицидної активності нейтрофілів в реакції відновлення нітросинього тетразолію – насправді: А1243,0001 Нітротетразолій синій хлорид.
 11. С 100. «Різницю показників оцінювали» (невдалий вираз).

Висловлені зауваження і рекомендації не впливають на високу оцінку дисертації Галини ГАЧКОВОЇ, яка є завершеною грунтовною науковою роботою.

Висновок

Вважаю, що за актуальністю та новизною тематики, об'ємом і грунтовністю аналізу й інтерпретацією результатів проведеного дослідження, а також науково-теоретичним і практичним значенням дисертаційна робота Гачкової Галини Ярославівни “Молекулярні основи антидіабетичної дії біологічно активних речовин, виділених з лікарських рослин *Galega officinalis* L. та *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. et Endl.) H. Robinson”, подана на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія є завершеною науковою працею, оформлена відповідно до вимог Міністерства і науки України № 40 від 12 січня 2017 року “Про затвердження вимог до оформлення дисертацій” та відповідає вимогам Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора біологічних наук, затвердженого постановою Кабінету міністрів України від 17 листопада 2021 року № 1197, а її авторка Гачкова Галина Ярославівна заслуговує на присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія.

Офіційний опонент

доктор біологічних наук, професор,
професор хімії та методики її навчання
Тернопільського національного
педагогічного університету
імені Володимира Гнатюка.

Оксана СТОЛЯР

22 січня 2024 р.

