

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

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”, подану на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія

Актуальність теми дисертаційної роботи. Враховуючи високий рівень захворюваності на цукровий діабет як у світі, так і в Україні, актуальною медико-соціальною проблемою є удосконалення підходів лікування та профілактики цього захворювання, а також створення нових ефективних препаратів з антидіабетичною дією. Головними засобами лікування цукрового діабету на даний час є інсулінотерапія та пероральні гіпоглікемічні препарати. Проте, застосування синтетичних пероральних препаратів супроводжується виникненням багатьох побічних ефектів. Відтак, важливим етапом у вирішенні цієї проблеми є вивчення ефективності та механізмів дії біологічно активних речовин (БАР) рослинного походження та фітопрепаратів, які завдяки багатому компонентному складу виявляють широкий спектр біологічної дії та мають набагато менше побічних ефектів. За останні роки накопичено багато інформації про те, що механізми дії БАР природного походження відповідають сучасним підходам до терапії цукрового діабету та профілактики його ускладнень, що дає підстави розглядати БАР, як високоспецифічні засоби впливу на метаболічні, структурні і функціональні порушення, які розвиваються при захворюванні на цукровий діабет.

Таким чином, тема дисертаційної роботи Гачкової Г. Я., яка присвячена розробці нових антидіабетичних препаратів на основі рослин *Galega officinalis* та *Smallanthus sonchifolius* та вивченню основних механізмів коригуючого впливу таких фітопрепаратів за умов цукрового діабету не викликає сумнівів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано на кафедрі біохімії біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка згідно плану науково-дослідної роботи кафедри за темами: “Розробка цукрознижувальних 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 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. Наукові положення дисертаційної роботи Гачкової Г. Я. ґрунтуються на достатньому обсязі отриманих експериментальних даних та їхньому детальному аналізі. Дослідження виконані на сучасному науковому рівні з використанням відповідних експериментальних моделей та клітинно-біологічних методів. Достовірність результатів не викликає сумнівів. Висновки роботи достатньо чітко сформульовані, узгоджені з метою та завданнями роботи, а також логічно впливають з аналізу отриманих експериментальних даних.

Наукова новизна одержаних результатів. Гачковою Г. Я. вперше розроблено спосіб стабілізації позбавленого від алкалоїдів екстракту *Galega officinalis* та суспензії, отриманої з порошку кореневих бульб *Smallanthus sonchifolius*, за допомогою біосурфактанту PS-17.

Встановлено виражений гіпоглікемічний ефект безалкалоїдного екстракту *Galega officinalis* у дозі 600 мг/кг та екстрактів листя, кореневих бульб та суспензій кореневих бульб *Smallanthus sonchifolius* у дозі 500 мг/кг. Гістологічно підтверджено протекторний вплив безалкалоїдного екстракту *Galega officinalis* на інкреторний апарат підшлункової залози за умов експериментально змодельованого цукрового діабету.

Вперше з’ясовано здатність біологічно активних речовин, які містяться у складі безалкалоїдного екстракту, знижувати вміст активних форм кисню у лейкоцитах за досліджуваної патології.

Встановлено пригнічення проявів оксидативно-нітративного стресу у клітинах підшлункової залози, лейкоцитах, еритроцитах, клітинах кісткового мозку при введенні діабетичним тваринам фітопрепаратів на основі *Galega officinalis* та *Smallanthus sonchifolius*.

Дисертанткою вперше показано, що застосування фітопрепаратів, отриманих на основі *Galega officinalis* та *Smallanthus sonchifolius*, призводить до пригнічення процесу апоптозу, відновлення локомоторної функції лейкоцитів, що реалізується шляхом реорганізації актинового цитоскелету, відновлення проліферативної активності нейтрофільних гранулоцитів і лімфобластів кісткового мозку, пригнічення запального процесу, а також підвищення ефективності неспецифічних механізмів захисту організму за умов експериментального цукрового діабету.

Практичне значення одержаних результатів. Дисертанткою вперше розроблено способи отримання седиментаційно стійких фітопрепаратів, а саме: екстракту *Galega officinalis*, позбавленого від алкалоїдів, та суспензії на основі порошку, отриманого з корневих бульб *Smallanthus sonchifolius*, стабілізованих за допомогою рамноліпідних біоПАР, що синтезуються штамом *Pseudomonas* sp. PS-17 (сурфактант PS-17). На розроблені способи отримання біологічно активних речовин з лікарських рослин *Galega officinalis* і *Smallanthus sonchifolius* та їхньої стабілізації за допомогою біосурфактанту PS-17 отримано два патенти України на корисну модель (UA 96839, UA 101202 (2015)).

Поєднання гіпоглікемічного, антиоксидантного та імуномодулюючого ефектів безалкалоїдного екстракту *Galega officinalis* та екстрактів і суспензій *Smallanthus sonchifolius*, а також їхня здатність відновлювати і підтримувати функціональний стан β -клітин підшлункової залози та клітин крові за умов цукрового діабету обґрунтовує доцільність їхнього використання як основи для створення комерційних фітопрепаратів та функціональних харчових продуктів антидіабетичної дії.

Дисертантка є співавтором новоствореного сорту козлятника лікарського (*Galega officinalis* L.) “Чародій” (частка участі Гачкової Г.Я. становить 25 % – аналіз компонентного складу).

Структура та основний зміст дисертації. Необхідно відмітити, що дисертаційна роботи є добре структурованою, написана гарною мовою, її мета і завдання чітко визначені та добре співставлені з отриманими результатами та сформульованими висновками.

Робота містить всі необхідні розділи і складається зі вступу, огляду літератури (Розділ 1), розділу «Матеріали і методи досліджень» та 2-х розділів, присвячених викладенню результатів власних досліджень та їх обговоренню, а також аналізу та узагальнення отриманих даних (Розділ 4), висновків та списку використаних джерел (311 посилань). Дисертація ілюстрована 27 таблицями і 60 рисунками. Структура та обсяг рукопису відповідають вимогам МОН України до докторських дисертацій.

Вступ містить усі положення, передбачені для цієї частини дисертації.

В **Огляді літератури** проаналізовано роль стресу ендоплазматичного ретикулуму, мітохондріальної дисфункції та оксидативно-нітративного стресу у дисфункції β -клітин острівців Лангерганса підшлункової залози та підкреслено тісний взаємозв'язок між цими чинниками. Охарактеризовано антиоксидантний потенціал β -клітин, а також нові підходи, орієнтовані на збереження β -клітин за умов оксидативно-нітративного стресу. На підставі аналізу сучасних літературних джерел, які висвітлюють роль лейкоцитів у патогенезі цукрового діабету 1 типу зроблено акцент на важливій ролі у механізмах розвитку цієї патології не лише Т-клітин адаптивного імунітету, а й нейтрофілів – клітинних елементів природного імунітету.

Також охарактеризовано механізми дії окремих БАР природного походження з огляду на те, що біологічні ефекти фітопрепаратів визначаються їхнім компонентним складом. Узагальнено відомості про об'єкти дослідження – козлятник лікарський та якон, а саме, компонентний склад та відому інформацію про гіпоглікемічний та антиоксидантний ефекти.

У розділі **Матеріали і методи досліджень** схематично представлено дизайн дослідження, описано умови створення моделі експериментального цукрового діабету, способи отримання екстрактів і суспензій *Smallanthus sonchifolius* та безалкалоїдного екстракту *Galega officinalis*, а також їхньої стабілізації за допомогою біогенних поверхнево активних речовин, які синтезуються штамом *Pseudomonas sp.-17*. Наведено характеристики методів, які були використані дисертанткою в роботі. Використані методи дослідження є сучасними, адекватними поставленій меті та завданням.

Розділ **Результати досліджень** викладено у восьми об'ємних підрозділах, в яких представлено логічний виклад отриманих даних. Кожен підрозділ присвячений певному блоку проблем, вирішення яких підтверджено відповідними висновками. Дисертантка проаналізувала надзвичайно широкий спектр показників, що свідчить про глибину і системність роботи. Проведене комплексне дослідження гіпоглікемічного, антиоксидантного та імуномодулюючого ефектів дало змогу з'ясувати молекулярно-клітинні механізми коригуючого впливу біологічно активних речовин *Galega officinalis* та *Smallanthus sonchifolius* на метаболічні, структурні і функціональні порушення, які спостерігаються при цукровому діабеті.

Отримані результати доповнюють існуючі відомості щодо впливу БАР з лікарських рослин на метаболічні та функціональні порушення в організмі, що є актуальним як у теоретичному, так і в практичному значенні та сприяють поглибленому розумінню механізмів дії цих фітокомпонентів.

У розділі **Аналіз та узагальнення результатів досліджень** дисертанткою викладено ґрунтовний аналіз та узагальнення отриманих даних. Логічно наведено підсумок проведеної нею роботи.

Робота завершується **Висновками**, які відповідають поставленій меті і завданням дослідження.

Список літературних джерел оформлений згідно з вимогами і відображає широке опрацювання дисертанткою даних наукової літератури.

Повнота викладу наукових положень дисертації у наукових працях. За матеріалами дисертації опубліковано **61** наукову працю, з них **25** статей у фахових виданнях та журналах, що індексуються у міжнародних наукометричних базах даних Scopus та WoS (2 статі у виданнях **Q1** і **Q2** та

2 статті – у журналах **Q4**), 1 розділ монографії (у закордонному виданні), 2 патенти України на корисну модель, 33 тез доповідей у матеріалах конференцій та з'їздів. Сумарний імпакт-фактор публікацій за темою дисертації – **8,94**.

Зауваження, пропозиції та запитання. Позитивно оцінюючи дисертаційну роботу в цілому, під час її аналізу виникли деякі зауваження, пропозиції та запитання, зокрема:

1. Для отримання безалкалоїдного екстракту *Galega officinalis* Ви використовували етиловий спирт, підкислений хлоридною кислотою, і таким чином отримували екстракт з кислим значенням рН. Чи допустимим є застосування фітопрепарату з таким значенням рН?
2. Чи наявна в Україні сировинна база козлятника лікарського і якона є достатньою для впровадження у виробництво фітопрепаратів на їхній основі?
3. Для більшої достовірності уявлень про зміни вмісту протеїнів – регуляторів апоптозу – p53 та Bcl-2, а також вмісту кінцевих продуктів глікації та їхніх рецепторів, які було досліджено у роботі імуноцитохімічним методом, варто було б також використати Вестерн-блоттинг гібридизацію.
4. Чи вбачаєте Ви перспективи застосування фітопрепаратів на основі *Galega officinalis* та *Smallanthus sonchifolius* як монопрепарати, чи лише у комплексі з іншими гіпоглікемічними засобами? Якими саме?
5. У роботі варто було б використати референс-препарат для оцінки ефективності антидіабетичної дії досліджуваних фітопрепаратів.

Водночас, зроблені зауваження не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи. Сформульовані у ній наукові узагальнення та висновки ґрунтуються на великому обсязі експериментального матеріалу, отриманого з використанням комплексу сучасних клітинно-біологічних методів дослідження, та відповідають поставленій меті і завданням роботи.

Висновок

Таким чином, за актуальністю, науково-методичним рівнем, обсягом проведених досліджень, новизною та достовірністю, науковим та практичним значенням одержаних результатів, вважаю, що 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 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:

Завідувач відділу клітинної біології
та біотехнології ДУ «Інститут харчової
біотехнології та геноміки НАН України»,
доктор біологічних наук, професор,
член-кореспондент НАН України



Алла ЄМЕЦЬ

Підпис чл.-кор. НАН України А. Ємець засвідчую:

Вчений секретар ДУ «Інститут харчової
біотехнології та геноміки НАН України»,
д.б.н., с.н.с.



Ярослав ПІРКО