

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора біологічних наук, завідувача кафедри фармації факультету післядипломної освіти Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, професора Фіри Людмили Степанівни на дисертаційну роботу Яворської Наталки Йонівни «БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ РЕЧОВИНИ ПАГОНІВ ЛОХИНИ ВИСОКОРОСЛОЇ (VACCINIUM CORYMBOSUM L.) І ЇХ ВПЛИВ НА МІКРОБІОТУ ТА ІМУННУ СИСТЕМУ», представлена до захисту у спеціалізовану вчену раду ДФ 35.368.002 Інституту біології тварин НААН України, що утворена відповідно до наказу Міністерства освіти та науки України № 965 від 03.09.2021 р. з правом прийняття для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 – «Біологія»

Актуальність теми. В останні роки рослинні препарати набувають все більшої популярності при лікуванні багатьох захворювань. За статистикою ВООЗ, до 80 % населення планети віддають перевагу препаратам природного походження. Інтерес до застосування лікарських рослин і ліків, отриманих на їхній основі, обумовлений тим, що при правильному дозуванні вони практично нетоксичні, нешкідливі, відносно доступні, ефективні та у деяких випадках завдяки комплексній дії не мають конкурентів. Значні ресурси, доступність сировини, можливість культивування роблять рослинну сировину перспективним об'єктом дослідження з метою розробки нових лікарських засобів рослинного походження. Значна увага науковців приділяється дослідженню лікарських рослин з метою створення на їх основі препаратів та біологічно активних добавок, що знайшли б своє застосування в офіциальний медицині.

До складу лікарських рослин входять природні речовини, необхідні організму для нормальної життєдіяльності: вітаміни, вуглеводи, макро- та мікроелементи, ферменти, гормони тощо. Комплекс речовин, які містяться в рослинах, діє полівалентно, стимулюючи різні системи організму чи компенсиуючи їх недостатню функцію.

З дикорослих ягідних рослин особливою популярністю серед населення користуються представники роду *Vaccinium L.*, в тому числі лохина зичайна.

Підвищений інтерес до вирощування цієї рослини пояснюється не тільки її харчовою, але і також лікарською цінністю. За відомостями традиційної медицини європейських країн, її ягоди проявляють різноманітні ефекти, зокрема, загальнозмінюючу дію, стимулюють обмінні процеси і продовжують життя людині. За сучасними даними, діючі речовини ягід і листя лохини сприяють зниженню рівня цукру в крові. У народній та науковій медицині лохина звичайна використовується як протицинготний та протидизентерійний засіб.

Дана дисертаційна робота присвячено вивченю біологічно активних речовин пагонів трьох сортів (Блуджей, Блукроп та Еліот) лохини високорослої, які продемонстрували високу стійкість при вирощуванні в умовах Західної України. Усі три зазначені сорти районовані в Україні і зафіксовані в Державному реєстрі сортів рослин, придатних для поширення в Україні (2017-2021). Оскільки проходження росту і розвитку інтродуцентів залежить від факторів генетичних та кліматичних факторів, то дослідження проводили на основних чотирьох стадіях фізіологічного розвитку.

Метою даної роботи було з'ясувати особливості накопичення різних груп БАР у пагонах трьох сортів лохини високорослої *Vaccinium corymbosum* L., які відрізняються термінами проходження фенологічних фаз в умовах лісостепу України (Львівської області), їх вплив на деякі ланки імунітету та деякі умовно-патогенні штами бактерій та грибів.

Для досягнення поставленої мети авторкою було поставлено 6 завдань, які успішно вирішені у процесі виконання роботи.

Об'єкт дослідження у даній роботі – зміни біохімічних показників пагонів лохини високорослої протягом вегетаційного періоду; механізми дії екстрактів пагонів *Vaccinium corymbosum* на мікробіоту; процеси в імунній системі мурчаків під впливом екстрактів пагонів *Vaccinium corymbosum*.

При виконанні роботи використані біотехнологічні, біохімічні (спектрофотометричні та титриметричні для визначення вмісту БАР), мікробіологічні, імунологічні (для вмісту циркулюючих імунних комплексів, клітинної та гуморальної ланок імунітету) та статистичні (для статистичної обробки цифрових даних) методи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота є фрагментом планових науково-дослідних тем Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького «Синтез та перетворення нових фізіологічно активних речовин – похідних неконденсованих і конденсованих сульфур- та нітрогеномісних гетероциклічних систем, з використанням методів моделювання, вивчення фізико-хімічних властивостей та проведення фармакологічного скринінгу одержаних сполук, дослідження різних видів дикорослих та культивованих рослин західного регіону України з метою одержання нових лікарських засобів, розробка технології лікарських засобів нових складів та опрацювання сучасних методик фармацевтичного та токсикологічного аналізу» (№ державної реєстрації 0116U 004500) та Інституту біології тварин НААН України “З’ясувати біохімічні механізми формування імунної відповіді у тварин за умов зміни клімату та розробити способи підвищення адаптаційного потенціалу організму (№ державної реєстрації 43.00.01.03. Ф.)”.

Наукова новизна одержаних результатів полягає у проведенні комплексного дослідження біохімічних показників пагонів трьох сортів лохини високорослої. Авторкою вперше досліджено особливості накопичення основних груп БАР у лохині різних екологічних груп у різних фазах онтогенезу; встановлено закономірності та рівень накопичення БАР. Вперше проведено виготовлення витяжок з пагонів лохини високорослої та встановлено їх антимікробні властивості щодо умовно-патогенних штамів ряду бактерій та кандід. Вперше проведено дослідження впливу екстрактів з лохини на імунну систему мурчаків, зокрема на показники її гуморальної ланки.

Практичне значення одержаних результатів. Дисеранткою розроблено методику мікроклонального розмноження лохини високорослої різних сортів як спосіб швидкого отримання великої кількості безвірусного, генетично однорідного посадкового матеріалу для інтродукції. За результатами досліджень отримано патент України на корисну модель № 142261 (№ заяви и 201911512 від 28.11.2019. Опубл. 25.05.2020 Бюл. 10.) “Спосіб мікроклонального розмноження лохини високорослої (*Vaccinium corymbosum L.*)”.

Одержані результати дослідень антиоксидантної, антибактерійної, антиканцерозної та імунорегуляторної активностей екстрактів *V. corymbosum* L. роблять доцільним подальше дослідження пагонів лохини високорослої як джерела лікарської рослинної сировини. Встановлені зміни у клітинній та гуморальній ланках імунітету мурчаків за впливу екстрактів пагонів *V. corymbosum* L. доповнюють наявні в літературі дані щодо дії рослинних засобів на імунну систему, що робить перспективним дану сировину для створення нових лікарських препаратів з імунорегуляторною дією. Результати дисертаційного дослідження впроваджено в навчальний процес та науково-дослідну роботу ряду профільних кафедр ВНЗ України.

Особистий внесок здобувача. Яворська Н.Й. самостійно провела патентний пошук, освоїла необхідні методики дослідження, особисто виконала експериментальну частину роботи, а також статистичну обробку даних. Планування досліджень, формування висновків і пропозицій, підготовка наукових праць до друку проведено спільно з науковим керівником д. б. н., проф. Воробець Н.М.

Повнота викладення матеріалів дослідження, а також їх апробації. За темою дисертації опубліковано 26 наукових праць, з них 2 статті у періодичних наукових виданнях інших держав, які входять до Організації економічного співробітництва та розвитку та Європейського Союзу, 7 статей у наукових фахових виданнях України, 16 тез доповідей та матеріалів конференцій (три з яких - за кордоном), один патент України на корисну модель.

Структура дисертаційної роботи та її відповідність вимогам. Дисертаційна робота побудована за класичною схемою та викладена на 202 сторінках машинописного тексту, складається з анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, розділу власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел та додатків. Робота ілюстрована 42 таблицями та 13 рисунками. Список використаних джерел містить 347 найменувань, з них 34 кирилицею та 313 латиницею. Структура та обсяг рукопису відповідають вимогам до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії. У вступі дисертантою чітко

окреслена мета та завдання, які мають вирішитись у ході виконання роботи. У цьому ж розділі Яворська Н.Й. акцентує на новизні отриманих результатів та їх практичному значенні. За результатами роботи отримані відповідні акти впровадження в навчальний процес.

На нашу думку можна більш детально описати новизну проведених досліджень.

Перший розділ – Огляд літератури (27 ст) - написаний грамотно, доступно, з використанням сучасної літератури. Зустрічаються деякі граматичні помилки та неточності, які легко усуваються при оформленні остаточного примірника дисертаційної роботи.

На нашу думку, у цьому розділі можна було б навести декілька рослин, для яких характерна імунорегуляторна активність.

У другому розділі "Матеріали та методи дослідження" (16 сторінок) авторка навела схему проведення експериментальної частини дисертаційної роботи, що включає проведення біотехнологічних, біохімічних та біологічних досліджень. Деякі методи дослідження, на нашу думку, описані занадто детально, адже авторка користувалась загальноприйнятими методиками (наприклад, дослідження мінерального складу ґрунту, визначення antimікробної активності екстрактів).

Розділ 3 присвячений власним експериментальним дослідженням. Розділ складається із 4-х підрозділів та займає 84 сторінки.

У першому підрозділі авторка наводить склад живильного середовища, збагаченого органічними сполуками, яке найбільш сприйнятливе для проліферації та культивування мікропагонів лохини високорослої, а також оптимальні умови стерилізації для отримання максимальної кількості життєздатних експлантів рослини. Тут же Яворська Н.Й. наводить діючі концентрації регулятора росту для трьох сортів лохини.

Результати наведені у даному підрозділі опубліковані у трьох наукових працях.

На нашу думку, цей підрозділ можна розширити, або об'єднати із наступним, так як він займає лише 3 сторінки.

Другий підрозділ (35 сторінок) включає фітохімічний скринінг екстрактів пагонів лохини високорослої, де наведені результати досліджень екстрактивних речовин в усіх трьох сортах досліджуваної рослини при застосуванні різних екстрагентів, а зокрема, води та етанолу в концентраціях від 20 % до 96 %.

У таблицях, де наведено вихід екстрактивних речовин необхідно пояснити значення вірогідних змін (що і по відношенню до чого порівнювалось). Таблицю 3.6 бажано винести у додатки, так як вона занадто громіздка і малоінформативна.

У цьому ж підрозділі авторка наводить результати вивчення антиоксидантної активності досліджуваних екстрактів із лохини. Встановлено, що найвищу антиоксидантну активність мали екстракти пагонів сорту Еліот з 40% BE під час цвітіння, з 80% BE під час плодоношення та з 50% BE у стані зимового спокою.

Більшу частину даного підрозділу займають дослідження з вивчення вмісту БАР у пагонах лохини різних сортів, а зокрема, поліфенольних сполук, флавоноїдів, проантоціанідинів, арбутину, дубильних сполук, гідроксикоричних кислот, органічних кислот, хлорофілів і каротиноїдів, пігментів, а також наведено елементний склад як у пагонах, так і в ґрунті, на якому зростали дані рослини.

Позитивним є той факт, що усі дослідження проведені в динаміці зростання (від фази цвітіння, плодоношення до стадії спокою після плодоношення і до зимового спокою). Це дає можливість віднайти найбільш активну стадію, у якій буде переважати високий вміст БАР. Для цього авторкою проведений корелятивний аналіз між вмістом рухомої форми елементів у ґрунті та у зразках рослин, що має практичне значення.

Встановлено, що сорти лохини Блукроп, Блуджей та Еліот мають низький вміст токсичних елементів, таких як Pb і Cd, і достатній рівень необхідних Mn, Zn та Cu у пагонах і у подальшому можуть бути використані для створення рослинних засобів для застосування при мінерально-дефіцитних станах у людини.

Експериментальний матеріал, наведений у даному підрозділі опублікований у 16 наукових працях.

У третьому підрозділі Яворська Н.Й. дослідила антибактерійну активність екстрактів з пагонів лохини та порівняла їх з відомими препаратами рослинного походження, такими як Ротокан, Хорофіліпт, Евкаліпта настойка, Декасан та Ципронекс. Антибактерійна активність досліджена для екстрактів з пагонів лохини на різних стадіях вегетації, що дозволило виявити найбільш активний з них по відношенню до певних штамів мікроорганізмів. Дослідження показали, що вплив на штами бактерій досліджених екстрактів був різним і залежав від типу екстрагента та стадії вегетації.

У даному підрозділі авторка наводить результати кореляційного зв'язку між вмістом БАР і антибактерійною активністю пагонів *V. Corymbosum*.

Деякі таблиці з цього підрозділу надто завантажені цифровим матеріалом, тому, на нашу думку, їх або треба уніфікувати, або винести у додатки (табл.3, 28; 3.30). Це стосується і таблиць 3.33, 3.35, 3.37, де наведені результати досліджень антикандідозної активності досліджуваних екстрактів. Вони затруднюють сприйняття матеріалу.

Дисертантка довела, що антикандідозна активність екстрактів пагонів лохини сортів Блукроп, Блуджей та Еліот щодо *Candida spp.* була різною і залежала від типу екстрагента, вмісту в екстрактах БАР та стадії збору рослинного матеріалу.

З результатів, наведених у даному підрозділі, Яворська Н.Й. зробила висновки, що антибактерійна активність екстрактів пагонів рослин різного сорту лохини залежить від стадії вегетації і вони вибірково впливають на різні досліджувані штами. Екстракти пагонів усіх сортів лохини високорослої, виготовлені з 60-80 % водним етанолом мають високу антибактерійну активність щодо усіх досліджених штамів.

Останній підрозділ присвячений вивченню імунного статусу мурчаків при впливі екстрактів пагонів *Vaccinium corymbosum*. Авторкою досліджено як клітинну ланку імунітету, так і гуморальну, що підтверджується змінами у вмісті ЦК та Ig E після застосування водних та водно-етанольних екстрактів, а також змінами лейкограми крові. Виявлені зсуви В-клітинної ланки імунітету, а також

гуморальної ланки свідчать про розвиток реакцій гіперчутливості 1 типу у тварин дослідних груп.

За результатами даних досліджень опубліковано 4 наукових праці.

Розділ 4 «Аналіз та обговорення результатів дослідження» викладений на 6 сторінках.

У ньому дисертантка дає аналіз розробленого способу мікроклонального розмноження лохини високорослої *Vaccinium corymbosum*, який забезпечує високий коефіцієнт розмноження рослин, можливість проведення робіт протягом року та економію площ, необхідних для вирощування.

Яворська Н.Й. стисло, конкретно подала узагальнення отриманих результатів і підтвердила це посиланнями на інших авторів, які займались дослідженнями вмісту БАР у рослинах різних видів. Дослідження, що стосуються виявлення antimікробільних та імунорегуляторних активностей досліджуваних екстрактів підтвердженні корелятивними взаємодіями в залежності від вмісту БАР та стадії вегетації. Таким чином, авторка довела ефективність застосування кожного із трьох сортів лохини, що може бути перспективним у подальших дослідженнях та розробках.

Порушень академічної добросесності не виявлено.

Зауваження та недоліки дисертації. Принципових зауважень до дисертаційної роботи немає. У тексті розділів зустрічаються деякі граматичні оргіхи та стилістичні неточності, однак вони не зменшують значимість роботи у цілому.

Є деякі незначні зауваження:

1. В анотації відсутня рубрика «Наукова новизна» та «Практичне значення отриманих результатів».
2. У вступі відсутня інформація, якою вчену радою затверджена тема дисертаційної роботи.
3. У розділі Експериментальні дослідження дуже багато таблиць, які перезавантажені цифровим матеріалом. Їх варто перенести у додатки.
4. На рисунках відсутні позначки вірогідних змін та їх пояснення.

5. У розділі Аналіз та обговорення результатів не варто посилатись на таблиці і рисунки з розділів.

6. На нашу думку зроблено багато висновків (11 при 6 завданнях), їх можна об'єднати. Наприклад, 2 і 3 та 5 і 6.

Після аналізу дисертаційної роботи хотілося б отримати відповіді на наступні запитання:

1. Як можна пояснити зростання вмісту окремих груп фенольних сполук (проантокіанідинів) у пагонах лохини високорослої на III і IV стадіях розвитку рослин?

2. Відомо, що спори, наприклад, *Bacillus subtilis* можуть утворювати прозорі інгібуючі зони (до 14 мм) і це не є показником антибактеріальної активності?

3.Чому імунологічні дослідження проводили саме на мурчаках?

3. На підставі чого зроблено висновок про розвиток реакцій гіперчутливості 1-го типу у тварин дослідних груп?

Ступінь обґрутованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність. На основі визначених завдань дисертаційної роботи, з використанням обраних методів дослідження та оцінки їх результатів, дисертантці вдалося досягти поставленої мети.

Аналізуючи дисертаційну роботу, необхідно відзначити, що експериментальна частина виконана на високому науковому рівні, має теоретичне обґрутування та практичний вихід. Висновки відповідають завданням досліджень, які сформульовані у вступі. Новизна і достовірність розроблених дисертанткою теоретичних положень і одержаних практичних результатів не викликає ніяких сумнівів.

Висновок про відповідність дисертації вимогам Положення. Таким чином, дисертаційна робота Яворської Наталки Йонівни на тему «Біологічно активні речовини пагонів лохини високорослої (*vaccinium corymbosum L.*) і їх вплив на мікробіоту та імунну систему» є самостійною роботою, завершеним науковим дослідженням, в якому отримано нові науково обґрутовані теоретичні

і експериментальні результати. За обсягом досліджень, новизною результатів, за рівнем виконання і впровадження представлена робота відповідає вимогам, що висуваються до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія, галузь знань 09 Біологія, а її авторка Яворська Наталка Йонівна заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю Біологія.

Офіційний опонент:

Завідувачка кафедри фармації
факультету післядипломної освіти,
професор кафедри медичної біохімії
Тернопільського національного
медичного університету
імені І.Я.Горбачевського МОЗ України,
доктор біологічних наук, професор

ЛЮДМИЛА ФІРА

