Голові спеціалізованої
вченої ради ДФ 20 051.143
Прикарпатського національного
університету імені Василя Стефаника,
доктору медичних наук,
професору Шереметі Лідії Миколаївні

ВІДГУК
офіційного опонента,
доктора біологічних наук, професора,
професора кафедри фізіології людини і тварин
Львівського національного університету імені Івана Франка
Іскри Руслани Ярославівни
на дисертаційну роботу **Ватащук Мирослави Володимирівни**
«Енергетичні та вільнорадикальні процеси у мишей за споживання висококалорійної їжі та альфа-кетоглютарату»,
подану на здобуття ступеня доктора філософії
в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія

1. Актуальність теми дисертаційної роботи.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню впливу альфа-кетоглютарату на метаболічні процеси в організмі мишей лінії C57BL/6J за споживання висококалорійної їжі. Відомо, що висококалорійна їжа може здійснювати негативний вплив на здоров'я людей, зумовлювати дисбаланс у системах окисно-відновної регуляції, спричиняти підвищення рівня оксидативного стресу та активацію запальних процесів.

Зацікавленість альфа-кетоглютаратом, як проміжного продукту циклу трикарбонових кислот, зумовлено його антиоксидантними властивостями. Він володіє здатністю запобігати ожирінню, сприяти уповільненню процесів старіння організму. Незважаючи на значну кількість харчових додатків для корекції певних фізіологічних відхилень, не встановлена роль альфа-кетоглютарату у регуляції метаболічного синдрому за умов споживанням висококалорійної їжі. Тому метою роботи було оцінити його вплив на морфометричні, метаболічні та запальні показники у мишей лінії C57BL/6J за

споживання базової їжі та висококалорійної їжі з високим вмістом жирів та фруктози.

Мета і завдання дисертаційних досліджень сформульовані методично грамотно, що дозволило автору визначити для дослідження пріоритетні напрями.

2. Зміст роботи, ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій.

Дисертаційна робота викладена на 166 сторінках тексту відповідно до поставленої мети і завдань. Загальна структура роботи побудована згідно вимог МОН України і містить усі необхідні розділи: «Вступ», «Огляд літератури», «Матеріали і методи досліджень», «Результати та їх обговорення», «Аналіз та узагальнення отриманих результатів», «Висновки», «Список використаних джерел» та «Додаток 1». Робота містить 22 рисунків і 2 таблиці, які добре підтверджують експериментальні дані, доповнюють текстовий матеріал дисертаційної роботи.

На початку роботи представлена ***анотація*** на українській (2-6) та англійській мовах (6-11), де стисло викладені основні результати досліджень, новизна та практичне значення роботи також наводиться список публікацій дисертантки.

У ***вступній частині*** (18-24 ст.) дисертації авторка дає науковий аналіз та обґрунтування вибраної теми, її актуальності, наводить зв'язок роботи з державною науковою тематикою, ставить мету і завдання досліджень, розкриває наукову новизну одержаних результатів, їх практичне значення, висвітлює особистий внесок здобувача та апробацію результатів, їх публікацію, обсяг і структуру дисертації.

У розділі 1. «Огляд літератури» (с. 25-50) представлено інформацію про сучасні аспекти досліджуваної теми. Зокрема, розглянуті основні механізми виникнення метаболічного синдрому та стратегії запобігання його розвитку та профілактики. Розкрито основні шляхи метаболізму в організмі альфа-кетоглютарату, як проміжного продукту у циклі Кребса. Показано його прооксидантні властивості та антиоксидантну функцію, а також вплив на

тривалість життя. Висвітлено роль альфа-кетоглютарату в корекції метаболічного синдрому.

У ***розділі 2*** «Матеріали та методи досліджень» (с. 51-67) вказано, що у роботі дисертанткою були використані реактиви виробництва «Sigma-Aldrich» (США), «Carl Roth» (Німеччина), «Fluka» (Німеччина), «Merck» (США). Реактиви вітчизняного виробництва були не нижче класу ч.д.а.

У роботі використовували лабораторних мишей лінії C57BL/6J. П'ятимісячні тварини були розділені на чотири групи: контрольну та три дослідні по 12-14 мишей у кожній групі. Контрольних тварин годували стандартною їжею для мишей. Експериментальні групи мали різні режими годування. Мишей першої експериментальної групи годували їжею з високим вмістом жиру та фруктози (ВКЇ), яку оновлювали тваринам щодня. Друга група мишей отримувала стандартну їжу, але вони замість води пили 1% альфа-кетоглютарату натрію (АКГ), а третя група – споживала ВКЇ з 1% розчином АКГ замість питної води (ВКЇАКГ). Мишей утримували на відповідних режимах харчування упродовж восьми тижнів. По завершенню експерименту проводили забір крові та органів у мишей для досліджень. Усі експериментальні протоколи були розглянуті та схвалені комісією з біоетики Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника.

Поводили гематологічний аналіз крові, визначали активність каталази, глютатіонпероксидази, глютатіонредуктаз, глютатіон-S-трансферази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, НАД(Ф)Н-залежної хіноноксидоредуктази 1, гексокінази, фосфофруктокінази фруктокінази, піруваткінази, парооксонази, мієлопероксидази, вміст пероксидів ліпідів, загального глютатіону, карбонільних груп білків, вільного холестерину, глюкози та глікогену, триацилгліцеролів, вільного альфа-кетоглютарату, IL-1β, проводили гістологічний аналіз зразків тканин. Отримані результати досліджень були опрацьовані сучасними статистичними програмами.

У ***розділі 3***. «Результати досліджень та їх обговорення» (с. 68-113) висвітлені результати досліджень автора, які вдало ним інтерпретуються.

Здобувача встановила, що восьмитижневий курс споживання висококалорійної їжі суттєво не впливав на динаміку маси тіла та індекси ожиріння, проте призводив до вищого вмісту вісцерального жиру у самців мишей середнього віку. Споживання висококалорійної їжі призводило до вищого вмісту триацилгліцеридів та незначно впливало на гематологічні показники крові мишей. Додавання альфа-кетоглютарату до висококалорійної їжі сприяло вищому вмісту глюкози в плазмі крові та спричиняло незначні зміни у диференційному складі лейкоцитів. Натомість споживання розчину альфа-кетоглютарату і стандартного раціону не впливало на біохмічні показники плазми крові мишей та викликало збільшення загальної кількості лейкоцитів зі змінами у відсотковому співвідношенні їх видів у крові мишей. Восьмитижневе годування висококалорійною їжею викликає метаболічні зміни в печінці – вища активність ферменту фруктолізу, та скелетних м'язах мишей – накопичення триацилгліцеридів, зниження рівня глікогену та загального білку, а також вищі активності ключових ферментів гліколізу. Додавання альфа-кетоглютарату до висококалорійної їжі запобігало метаболічним змінам у скелетних м'язах мишей та призводило до вищих активностей ферментів гліколізу у печінці. Споживання висококалорійної їжі призводило до розвитку оксидативного стресу різної інтенсивності у печінці, вісцеральній жировій тканині, серці та скелетних м'язах мишей. Додавання альфа-кетоглютарату до висококалорійної їжі зменшувало інтенсивність оксидативного стресу у тканинах мишей завдяки антиоксидантному механізму альфа-кетоглютарату. Гістологічний аналіз печінки мишей на висококалорійній їжі та висококалорійній їжі з альфа-кетоглютаратом виявив ознаки неспецифічного запалення, а в жировій тканині – збільшені адипоцити. Загалом, альфа-кетоглютарат проявляв тканиноспецифічні ефекти через різні механізми його дії – антиоксидантний, прооксидантний та імуномодулюючий.

Розділ 4 «Аналіз та узагальнення отриманих результатів» (с.114-124) містить аналіз одержаних результатів власних досліджень з обговоренням виявлених змін основних показників. Слід відзначити наукову глибину

проведеного дисертанткою аналізу отриманих даних. На основі обговорених результатів дисертантка робить висновок, що альфа-кетоглютарова кислота як харчовий додаток виявляє позитивний вплив і послаблює окислювальне пошкодження у мишей, які отримували як висококалорійну їжу, тому може бути перспективним і корисним харчовим додатком, який можна використовувати для запобігання метаболічногог синдрому.

Проведений аналіз результатів власних досліджень та їх узагальнення у цьому розділі дало можливість дисертантці зробити науково обґрунтовані висновки.

Шість висновків (с.125-126), що приведені у дисертації достатньо повно висвітлюють одержані результати та основні положення дисертації. Висновки відповідають завданням дисертаційного дослідження та мають наукову цінність.

Список використаних джерел (с.127-162) налічує 307 джерел на англійській мові. Майже 60 % з яких – це література за останні 5 років.

Додатки А і Б (с.163-166) – це список публікацій автора за темою дисертації та довідка про впровадження результатів досліджень.

3. Наукова новизна досліджень.

Автором вперше показано, що АКГ запобігає метаболічним змінам, які спричинені короткотривалим споживанням висококалорійної їжі з високим вмістом тваринних жирів та фруктози у лабораторних мишей середнього віку. Захисний вплив АКГ проявлявся у зниженні інтенсивності оксидативного стресу зі зростанням потужності антиоксидантного захисту та нормалізацією енергетичного обміну у тканинах мишей. Встановлено, що на тлі стандартної їжі у тканинах мишей АКГ активує окремі ланки антиоксидантного захисту. Дисертанткою досліджено тканиноспецифічні ефекти АКГ, які можуть бути зумовлені різними механізмами його дії, включаючи антиоксидантні, прооксидантні та імуномодулюючі ефекти. Ці дослідження розширюють розуміння про індукування їжею метаболічного синдрому та з'ясовують потенційну роль АКГ як метаболічного регулятора.

4. Повнота відображення в опублікованих роботах наукових положень, висновків та результатів.

Результати наукової роботи Мирослави Володимирівни є підсумком завершених досліджень, які впродовж періоду їх виконання всебічно аналізувалися і висвітлені у 9 публікаціях, з них три статті у міжнародних наукових виданнях, які індексуються наукометричними базами даних Scopus та Web of Science та віднесені до квартилю Q1-Q2 за рейтингом Scimago, одна стаття опублікована у науковому фаховому виданні категорії "Б" та п'ять тез доповідей наукових конференцій.

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

Дисертаційна робота Ватащук М.В. виконана в межах наукової тематики «Інтермедіати фенілпропаноїдного шляху як речовини для продовження тривалості і якості життя» (№ держреєстрації – 0120U104755) кафедри біохімії та біотехнології Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника.

6. Відомості про дотримання академічної доброчесності.

У тексті дисертації та наукових публікаціях Ватащук Мирослави відсутні порушення академічної доброчесності.

7. Оцінка мови і стилю викладення матеріалу дисертації.

Мова і стиль викладення матеріалу дисертації Ватащук М.В. відповідають вимогам академічного письма. Використовується фахова термінологія з біохімії та фізіології, що забезпечує коректність подачі матеріалу. Робота структурована послідовно – від теоретичних основ до експериментальних досліджень і висновків, що сприяє легшому сприйняттю інформації. Виклад є обґрунтованим, адже всі твердження підкріплюються результатами експериментів, статистичними даними та посиланнями на наукові джерела. Висновки базуються на кількісних даних, що забезпечує об'єктивність аналізу та виключає суб'єктивні трактування. Матеріал поданий без публіцистичних елементів або емоційних оцінок, що повністю відповідає вимогам академічного стилю.

8. Зауваження до змісту та тексту дисертації

Загальна оцінка роботи є позитивною, біохімічні механізми процесів, які вивчалися є детально викладені, однак слід зупинитися на деяких дискусійних питаннях. Слід відзначити незначні технічні помилки, зокрема таких як повтор речення на ст. 94 – «У мишей, які отримували ВКЇАКГ, маса жирової тканини не відрізнялася від контрольних значень (Рис. 3.3.2А)».

Обговорення деяких запитань допоможе глибшому розумінню проведеної роботи. Зокрема:

- Чим Ви можете пояснити, що дія АКГ зі стандартною їжею зумовлювала зниження кількості еритроцитів, але підвищення рівня гемоглобіну в крові мишей?
- Поясніть будь ласка, як АКГ може запобігти внутрішньом'язовому накопиченню ліпідів, при висококалорійній їжі, шляхом стимуляції проліферації бурої жирової тканини?
- На вашу думку, чому саме у серці спостерігаються найбільш виражені захисні ефекти АКГ, що додається при висококалорійній їжі?
- Чим АКГ відрізняються від уже існуючих препаратів, які використовують для регулювання стану при метаболічному синдромі? Чи здійснює АКГ негативну дію на організм людини чи тварин?

9. Загальний висновок.

Дисертаційна робота Ватащук Мирослави Володимирівни «Енергетичні та вільнорадикальні процеси у мишей за споживання висококалорійної їжі та альфа-кетоглютарату» є самостійним, завершеним науковим дослідженням. Актуальність обраної теми дослідження, достовірність та наукова новизна одержаних результатів, повнота викладу в опублікованих працях, обґрунтованість наукових положень та висновків, свідчать про високий науковий рівень авторки. За структурою та змістом, новизною і практичним значенням вищезазначена дисертація повністю відповідає спеціальності 091 Біологія та вимогам наказу МОН України №40 від 12.01.2017 р. (зі змінами) «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», а також 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 №44 (зі змінами), а її автор, Ватащук Мирослава Володимирівна, заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія зі спеціальності 091 Біологія.

Офіційний опонент:

Професор кафедри фізіології людини і тварин
Львівського національного університету імені Івана Франка,
доктор біологічних наук, професор Руслана ІСКРА