

Голові спеціалізованої вченої ради

ДФ 20.051.116

Прикарпатського національного
університету імені Василя Стефаника

доктору біологічних наук,

професору Семчишин Галині Миколаївні

(76018, м. Івано-Франківськ,

вул. Шевченка, 57)

РЕЦЕНЗІЯ

офіційного рецензента

кандидата біологічних наук, доцента,

доцента кафедри біохімії та біотехнології

Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника

Гусака Віктора Васильовича

на дисертацію Дем'янчука Олега Ігоровича

**“Вплив альфа-кетоглутарату на дрозофіл та мишей: параметри поведінки,
оксидативного стресу та енергетичного обміну”**,

подану на здобуття ступеня доктора філософії

в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія

1. Актуальність обраної теми

Альфа-кетоглутарат (АКГ) є важливим проміжним метаболітом циклу трикарбонових кислот, який бере участь у регуляції енергетичного обміну, антиоксидантного захисту та сигнальних шляхів, пов'язаних зі старінням і нейродегенерацією. Вивчення його впливу на організми модельних біологічних систем – плодової мушки *Drosophila melanogaster* та миші *Mus musculus* – має важливе значення для розуміння механізмів старіння, оксидативного стресу та когнітивних функцій.

На сьогодні існує нагальна потреба у пошуку та вивченні молекулярних механізмів, які дозволяють покращити стійкість організму до стресових

факторів, знизити рівень оксидативного пошкодження та модулювати когнітивні функції. АКГ може відігравати ключову роль у цих процесах, проте його вплив на довготривалість життя, поведінку та біохімічні параметри в різних організмах досліджений недостатньо.

Особливо актуальним є вивчення впливу АКГ на когнітивні функції та метаболічний стан мозку у контексті споживання висококалорійної їжі, що має важливе значення для досліджень механізмів розвитку нейродегенеративних захворювань, пов'язаних із дієтою та способом життя. Аналіз антиоксидантної відповіді, автофагії та енергетичних процесів у відповідь на споживання АКГ дозволяє виявити потенційні мішені для розробки нових стратегій продовження життя та покращення когнітивного здоров'я.

Таким чином, результати цього дослідження сприятимуть розширенню знань про регуляторну роль АКГ у фізіологічних і біохімічних процесах, що має важливе значення як для фундаментальної біології, так і для біомедичних досліджень, зокрема у галузі геронтології та нейробиології.

Роботу проводили з 2021 до 2025 р. на кафедрі біохімії та біотехнології Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника, і вона є частиною наукової тематики кафедри «Інтермедіати фенілпропаноїдного шляху як речовини для продовження тривалості і якості життя» (№ держреєстрації – 0120U104755, 2020-2023). Дисертант був співвиконавцем проекту та проводив частину досліджень.

2. Ступінь обґрунтованості наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації

Сформульовані Олегом Дем'янчуком основні положення, заключення і висновки ґрунтуються на достатній кількості проведених дослідів і на відповідному експериментальному матеріалі. Використані в роботі методи досліджень адекватні поставленим завданням.

Вказане вище дозволяє оцінити отримані результати досліджень, основні наукові положення та висновки, сформульовані в дисертації О.І. Дем'янчука, як обґрунтовані.

3. Достовірність основних наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації

Наведене вище дозволяє оцінити отримані результати проведених експериментальних досліджень, їх аналіз, узагальнення і сформульовані наукові положення та висновки як достовірні і такі, що не викликають сумнівів.

4. Новизна основних наукових положень та висновків, сформульованих у дисертації

Вперше було продемонстровано, що екзогенний АКГ не впливає на тривалість життя, функціональне старіння та показники енергетичного метаболізму та показники про-/антиоксидантного статусу у довгоживучих мух. Також в цьому дослідженні вперше показано, що АКГ викликає тривожність у мишей, а також спричиняє зменшення активності антиоксидантних ферментів й активацію автофагії у корі головного мозку мишей на фоні їжі з надлишком калорій. Це дослідження розширює розуміння механізмів дії АКГ на про-/антиоксидантні процеси та захисні механізми у мозку.

5. Повнота викладу основних наукових положень та висновків в опублікованих наукових працях

Основні наукові положення та висновки дисертації Дем'янчука Олега Ігоровича викладені в трьох публікаціях у провідних журналах. Матеріали роботи апробовані на шести вітчизняних та міжнародних конференціях.

6. Структура дисертації

Дисертація складається з традиційних розділів – вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, результатів дослідження, обговорення та узагальнення результатів, висновків і списку літератури.

У вступі логічно висвітлені актуальність теми, зв'язок роботи з науковими темами, мета, задачі і об'єкт дослідження. Тут же знайшли своє місце наукова новизна отриманих результатів, їх практичне значення, особистий внесок здобувача, апробація результатів і загальна кількість публікацій.

Як на мене, у цьому розділі недостатньо висвітлено **практичне значення отриманих результатів. Не зрозумілий сенс речення: «Отримані результати допоможуть зрозуміти те, що деякі препарати можуть по різному діяти на різні модельні об'єкти».**

В огляді літератури наведено загальну інформацію щодо об'єктів дослідження, сигнальні шляхи, що впливають на тривалість життя, геропротектори, вплив альфа-кетоглютарату на регуляторні шляхи, вплив висококалорійної їжі на мозок, оксидативний стрес спричинений надлишком калорій. **Як на мене є зайва інформація щодо історії використання цих об'єктів для досліджень.** Так, на ст. 17 читаємо: *«Ранні дослідження кінця 1800-х – початку 1900-х років були зосереджені на їхній репродуктивній біології та генетиці. Однією з основоположних праць у ранньому використанні мишей як модельних організмів є робота Люсьєна Кюєно, опублікована в 1902 році».* До такого розділу як **«Альфа-кетоглютарат»** не зайвим було б додати схематичні рисунки щодо впливу альфа-кетоглютарату на регуляторні шляхи чи впливу альфа-кетоглютарату на про-/антиоксидантний статус. Виявлені деякі неточності і друкарські огріхи. **Також немає загальних висновків до цього розділу, в яких автор логічно б підводив читача до експериментальної частини.** Втім варто відзначити, що огляд літератури добре узгоджений логічно і містить всю інформацію, необхідну для подальшого розуміння роботи, зокрема інтерпретації експериментальних даних. З тексту видно, що дисертант детально ознайомився з кожним літературним джерелом, обробивши великий об'єм інформації, викладеної іноземною мовою.

Розділ “Матеріали і методи досліджень” досить повно висвітлює використані експериментальні підходи. Автор використовував сучасні апробовані методи біохімічних досліджень, адекватні поставленим завданням. **Зауваження до цього розділу зводяться до наступного:**

1. Автор у пункті 2.1 наводить такі вислови, як: **«культур *D. melanogaster*», «культур *Mus musculus*».** Як на мене, вони є неточними.

2. Є неузгодженість у використанні понять **«поживне середовище»** і **«живильне середовище».**

3. Не зрозумілим є «Лабораторні миші розведені в умовах нашої установи».

4. Не зрозумілим є також **«Регулярно проводився моніторинг стану здоров'я тварин, включаючи перевірку на патогени та візуальне оцінювання. Усі процедури були затверджені локальним етичним комітетом та відповідали етичним стандартам проведення експериментів на тваринах.»**

Цей аспект є важливим, але потребує уточнення: Чи йдеться про бактеріальні, вірусні, грибкові або паразитарні патогени? Які методи перевірки використовувалися (ПЛР, мікроскопія, серологія)? Як часто проводилися тести та які патогени входили до переліку? **Рекомендація:** Деталізувати методику перевірки на патогени, а також вказати частоту і перелік патогенів, які тестувалися. **Візуальне оцінювання є суб'єктивним і часто недостатнім для виявлення прихованих патологій або ранніх ознак захворювань.** Що саме враховувалося під час оцінювання? Наприклад: Стан шерсті, очей, шкіри. Поведінка тварини (активність, апетит, реакція на подразники). Втрата ваги або зовнішні ознаки захворювань. **Рекомендація:** Використовувати стандартизовані шкали для оцінки стану здоров'я (наприклад, шкала BCS – Body Condition Score). **Інші аспекти моніторингу здоров'я:** Для повноцінної оцінки стану здоров'я тварин можуть бути додатково включені: **регулярні фізіологічні вимірювання** (Температура тіла, частота серцевих скорочень, дихання), **лабораторні дослідження** (аналіз крові, аналіз сечі та калу), **спостереження за метаболізмом** (Оцінка приросту ваги, конверсії корму (для лабораторних тварин), **поведінковий аналіз** (Оцінка змін у поведінці - агресія, апатія, стереотипії). **Частота моніторингу:** Важливо зазначити, як часто проводився моніторинг (щодня, щотижня, щомісяця). Регулярність має залежати від типу експерименту, умов утримання та видів тварин.

5. Виникають також запитання до таблиці 2.1. Склад кафетерійного раціону (КР) харчування мишей. Чи потрібно вказувати марки продуктів? Чи не потрібно у них брати дозвіл? Чи зможуть інші дослідники повторити дослідження якщо таких марок не буде? Чи можуть мати вплив на результати досліджень різні

додаткові речовини у продуктах. Наприклад, у сухариках «Флінт»: E170, E270, E300, E327, E341, E472c, E551, E621, E627, E631, E160c і т.п.

6. Підрозділ 2.16. Статистичний аналіз потрібно переписати.

В третьому розділі викладені результати власних досліджень.

Підрозділ 3.1 присвячений оцінці ефектів екзогенного альфа-кетоглутарату на фізіологічні та біохімічні показники в тілі довгоживучої сублінії *D. melanogaster*. До рисунку 3.1 виникає наступне запитання: чи не вплинув розмір вибірки на отримані результати, оскільки є значна розбіжність між розмірами вибірки для обчислення медіани тривалості життя батьківської популяції мух (473) та довгоживучої популяції мух (143). Чи коректно тут вживати термін «популяція»? Також незрозумілим є вислови: «антиоксидантних та споріднених ферментів» (с.76), «активність мішеней АМФК у мух ДЖ-CS вже була встановлена на максимумі» (с. 77), «У кожному повторі використовували близько 100 мух» (с.77), «За певних умов АКГ може індукувати утворення АФК» (с.78), «було залучено лабораторних мишей» (с.81).

В підрозділі 3.2 показаний вплив екзогенного альфа-кетоглутарату на когнітивні функції та біохімічні показники у корі головного мозку мишей на фоні висококалорійної їжі з високим вмістом жирів і фруктози. Слід зауважити, що дані цього підрозділу добре доповнюють результати, відображені в попередньому підрозділі. Текстовий матеріал поданий доступно.

Серед несуттєвих зауважень є зауваження щодо використання слова «достовірно». Потрібно замінити на «значимо відрізняються» (більш точне формулювання в науково-статистичному контексті, оскільки воно прямо вказує на статистичну значущість результату ($p < 0,05$). Цей термін краще відображає стандарти міжнародної наукової літератури, де використовується слово "statistically significant". Тому краще використовувати "значимо відрізняються", оскільки цей термін є більш точним у науковій мові, особливо якщо ви хочете акцентувати увагу на статистичній значущості).

В підрозділі 3.3 досліджений вплив альфа-кетоглютарату на активність афтофагії та про-/антиоксидантний статус у корі головного мозку мишей на фоні кафетерійного раціону.

У Розділі **Обговорення та узагальнення результатів** матеріал подано коректно, а обговорення отриманих результатів проведено на високому науковому рівні, власні дані співставлено з даними інших дослідників. Всі отримані результати, інтерпретовано на високому науковому рівні. Не зрозумілою є схема на рис. 4.1, обговорення якої немає в тексті розділу. Також гарним доповненням до цього розділу були б узагальнюючі схеми як для дрозофіли, так і для мишей за результатами досліджень.

Зроблені висновки логічно витікають з отриманих експериментальних результатів.

Список цитованих джерел містить 302 посилання. В оформленні джерел є певні неточності. Також вважаю, що його потрібно скоротити.

Як і кожна велика і серйозна робота, дисертаційна праця О.І. Дем'янчука містить певні недоліки та упущення, які подавалися вище, але вони не носять принципового характеру і не стосуються суті проведених експериментів. Вони не знижують загальної позитивної оцінки тривалої важкої наукової праці автора, а також розроблених ним основних наукових положень та висновків.

7. Висновок

Базуючись на сказаному вище, можна дійти висновку, що дисертаційна робота Дем'янчука Олега Ігоровича на тему “Вплив альфа-кетоглютарату на дрозофіл та мишей: параметри поведінки, оксидативного стресу та енергетичного обміну” є завершеною науковою працею, в якій отримані нові науково обґрунтовані результати, що у сукупності вирішують поставлену наукову проблему. За актуальністю, ступенем наукової новизни, обґрунтованістю, науковою значущістю здобутих дисертантом результатів, дисертація відповідає спеціальності 091 Біологія, 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 р. № 44 (зі змінами) та Вимогам до оформлення дисертації, затвердженими наказом МОН України від 12.01.2017 р. № 40 (зі змінами), а її автор – Дем'янчук Олег Ігорович заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

Рецензент:

доцент, кандидат біологічних наук,

доцент кафедри біохімії та біотехнології

Прикарпатського національного університету

імені Василя Стефаника (м. Івано-Франківськ)

Віктор ГУСАК