

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, старшої наукової співробітниці

кафедри біохімії та біотехнології

Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника

Стрільбицької Ольги Михайлівни,

на дисертацію **Дем'янчука Олега Ігоровича**

«Вплив альфа-кетоглутарату на дрозоділ та мишей:

параметри поведінки, оксидативного стресу та енергетичного обміну»,

подану на здобуття ступеня доктора філософії

в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія

Актуальність теми. Альфа-кетоглутарат (АКГ) є важливим метаболітом циклу трикарбонових кислот, який відіграє ключову роль у клітинному енергетичному обміні, регуляції метаболізму амінокислот та контролі рівня оксидативного стресу. Останні дослідження свідчать про його потенційні геропротекторні властивості, зокрема здатність продовжувати тривалість життя та покращувати фізіологічний стан організму. Проте механізми цього впливу залишаються недостатньо вивченими, особливо щодо змін у поведінці, рівні оксидативного стресу та особливостей енергетичного обміну.

Дослідження ефектів АКГ на модельних організмах, таких як плодова мушка *Drosophila melanogaster* та миші, є важливим кроком для розуміння його

біологічної дії. Дрозофіла є зручним об'єктом для швидкого тестування метаболічних і поведінкових змін, тоді як досліди на мишах дозволяють оцінити потенційні перспективи застосування АКГ для ссавців, включно з людиною. Особливий інтерес становить вивчення впливу АКГ на оксидативний стрес, оскільки дисбаланс між утворенням активних форм кисню та антиоксидантним захистом відіграє ключову роль у розвитку багатьох вікових патологій. Крім того, АКГ може впливати на поведінкові реакції, такі як рівень активності, тривожності та когнітивні здібності, що робить його потенційним кандидатом для дослідження в контексті нейродегенеративних процесів. Дослідження цих процесів є актуальним як з точки зору фундаментальної науки, так і з позиції розробки нових стратегій для підтримки метаболічного здоров'я та продовження активного довголіття.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій та зв'язок роботи з іншими науковими програмами. Усі наукові положення, висновки, які були сформульовані аспірантом, є достовірними та обґрунтованими. Дисертаційне дослідження Олега Дем'янчука виконано на достатньо високому методичному рівні з використанням комплексу сучасних методів експериментального дослідження та аналізу даних. Основні наукові положення та висновки, сформульовані в дисертації, логічно випливають із одержаних результатів.

Дисертаційне дослідження виконувалось в межах наукової тематики кафедри «Інтермедіати фенілпропаноїдного шляху як речовини для продовження тривалості і якості життя» (№ держреєстрації – 0120U104755, 2020-2023 рр). Також робота частково виконувалась у рамках проєктів Міністерства науки та освіти України «Корекція метаболічного синдрому збагаченими сульфорафаном препаратами з проростків броколі» (№ держреєстрації – 0122U000894, 2022-2024 рр) та «Пошук маркерів посттравматичного стресового розладу на основі показників оксидативного стресу та запалення» (№ держреєстрації – 0123U101790, 2023-2025 рр.)

Результати роботи апробовані на достатньому рівні – на різних міжнародних та всеукраїнських конференціях.

Наукова новизна роботи. Всі отримані автором результати є новими, достовірними та належно обґрунтованими. У роботі вперше встановлено, що екзогенний АКГ не продовжує тривалість життя самок довгоживучої сублінії *Drosophila melanogaster* при стандартному харчуванні, однак позитивно впливає на виживаність за умов зниженої кількості білка та підвищеного вмісту сахарози в середовищі. Це свідчить про залежність ефектів АКГ від складу раціону та особливостей метаболічної адаптації організму. Вперше показано, що додавання 1% АКГ у раціон мишей спричиняє розвиток тривожної поведінки, особливо на фоні висококалорійної дієти, а також у самців при стандартному харчуванні, що проявлялося зменшеною дослідницькою активністю в тесті Відкрите поле. Важливим новим відкриттям є те, що АКГ стимулює експресію генів, які беруть участь у процесах автофагії у корі головного мозку мишей при стандартному харчуванні, тоді як на висококалорійній (кафетерійній) дієті цей ефект не спостерігався. Це вказує на можливу роль АКГ у підтримці механізмів оновлення клітин, проте ефективність цієї дії може залежати від харчових факторів.

Структура і зміст дисертації. Дисертація складається з анотації (українською та англійською мовами), переліку умовних скорочень, вступу, де визначено актуальність, новизну, мету і завдання дослідження, п'яти розділів – огляд літератури, матеріали та методи досліджень, результати та їх обговорення, аналіз та узагальнення результатів, загальних висновків, списку використаної літератури та додатків з науковими публікаціями, участі у конференціях дисертанта та довідки про впровадження наукових результатів. Загальний обсяг дисертації становить 173 сторінки, рисунки – 24, таблиці – 5, використані джерела – 303, додатки – 2, з яких акт впровадження – 1.

У Вступі автором дисертації аргументовано обґрунтовано актуальність теми дисертаційної роботи, показаний зв'язок з науковими програмами, планами, темами, сформовані мета, завдання, об'єкт та предмет дослідження, наведені методи досліджень, наукова новизна і практичне значення одержаних

результатів, зазначено особистий внесок здобувача та представлена інформація про публікації та апробацію результатів дисертації.

Огляд літератури присвячений аналізу сучасних літературних джерел, які містять дані щодо доцільності застосування тваринних моделей в експериментах, способи регуляції тривалості життя та роль АКГ у фізіолого-біохімічних процесах живих організмів. Заслуговують на увагу узагальнені автором опис речовин із геропротекторними властивостями. Розділ викладений на 36 сторінках і складається із семи підрозділів.

У другому розділі «Матеріали і методи» достатньо детально описано основні експериментальні методи, що використовувались при проведенні досліджень. Представлена узагальнена інформація про умови утримання модельних організмів та етапи дослідження. Описано особливості проведення поведінкових тестів: «Відкрите поле» у мишей, а також індуковану рухову активність та стійкість до стресів – у дрозофіл. Представлені детальні методики вимірювань рівня основних метаболітів, активності антиоксидантних та гліколітичних ензимів, рівня маркерів оксидативного стресу, а також методика полімеразної ланцюгової реакції. Також представлено опис статистичного аналізу експериментальних даних.

В третьому розділі представлені результати власних досліджень. Відображено результати вивчення впливу екзогенного АКГ на фізіологічні та біохімічні показники довгоживучої сублінії дрозофіл. Показано, що споживання АКГ з їжею не впливало на тривалість життя самок *D. melanogaster* на стандартному середовищі, але продовжувало тривалість життя на середовищах з низьким вмістом білку і високим вмістом сахарози. Зниження рівня запасних ліпідів та активності деяких антиоксидантних ферментів виявлено у тілі 25-денних самок дрозофіл. Проведені дослідження демонструють розвиток тривожної поведінки у самців і самок мишей на тлі споживання базової їжі та двох висококалорійних раціонів. Рівень транскриптів генів продукти експресії яких залучені до активації автофагії у корі головного мозку мишей свідчать про підвищення автофагії при споживанні 1% альфа-кетоглютарату.

Четвертий розділ роботи присвячений аналізу та узагальненню результатів. В цьому розділі дисертант обговорює отримані результати, а також дає узагальнену оцінку впливу АКГ на фізіолого-біохімічні показники у модельних організмів. Також подано власне бачення дисертанта щодо фізіологічних реакцій із запропонованими потенційними механізмами дії висококалорійних раціонів та АКГ.

П'ятий розділ узагальнює вплив АКГ на модельні організми: дрозофілу та мишей. Спільними шляхами впливу АКГ у мух і мишей автор вважає його здатність модулювати антиоксидантні процеси, енергетичний метаболізм та регуляцію ключових клітинних функцій.

Автором сформульовано шість висновків, які логічно випливають з одержаних результатів, науково обґрунтовані, відповідають меті та завданням дослідження.

Список використаних джерел сформовано за порядком згадування у тексті, містить достатню кількість актуальних наукових публікацій за останні 5 років, оформлений за встановленим стандартом.

Рукопис дисертації завершується додатками, які містять список опублікованих праць за темою дисертації, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації, а також довідку про впровадження наукових результатів.

Повнота вкладення результатів досліджень в опублікованих працях. Результати дисертаційної роботи опубліковано у 9 наукових працях, із них: 2 статті у журналах, що входять до міжнародної наукометричної бази SCOPUS, 1 стаття у фахових виданнях України (категорія Б), 6 – у доповідях і тезах науковопрактичних конференцій.

Загальна оцінка змісту дисертаційної роботи. Робота справляє дуже позитивне враження. Дисертантом виконано великий обсяг досліджень, що дозволило знайти нові ефекти АКГ на фізіологічні та біохімічні показники у тваринних моледей. Результати мають як фундаментальну наукову, так і практичну цінність. Сформульовані автором мета і завдання роботи успішно

реалізовані. Висновки обґрунтовані, анотація відповідає змісту і основним положенням дисертації.

Зауваження до дисертації.

1. У Вступі автор наводить практичне значення результатів роботи надто стисло. Вважаю, що дана робота має значно вагомніше практичне значення, яке і слід було висвітлити автором.

2. В матеріалах і методах виявлена неточність щодо анестезії та евтаназії мишей. Автор зазначає, що евтаназію проводили «...за допомогою вуглекислого газу та декапітації». Однак, вуглекислий газ використовується для анестезії, а перед декапітацією проводять евтаназію розривом шийного хребця.

3. Для покращення сприйняття інформації у Огляді літератури слід було подати більше ілюстрацій. Зокрема, варто було додати рисунок загального вигляду модельних організмів: дрозофіл та мишей. Також слід було додати схематичні рисунки сигнальних шляхів TOR та інсулінового сигнального шляху, а також місце та роль альфа-кетоглютарату у метаболічних шляхах.

4. По-різному позначена лінія мух. В одних випадках її позначено як Canton S, а в інших Canton-S. Відповідно до FlyBase слід позначати Canton-S

5. Робота написана гарною літературною мовою, але зрідка зустрічаються й граматично невдалі фрази. Наприклад, «Миша зробила безпрецедентний внесок у численні наукові відкриття...». Ймовірно, автор мав на увазі, що дослідження з використанням мишей як моделі призвели до наукових відкриттів.

Наведені зауваження жодним чином не впливають на її загальну високу оцінку.

Під час рецензування роботи до автора виникли такі запитання:

1. Чи зустрічали Ви в науковій літературі описані подібні ефекти АКГ на фізіологічні показники дрозофіл? Чи ці ефекти є характерні лише для змодельованої вами довгоживучої сублінії?

2. Які нейробиологічні механізми можуть пояснити розвиток тривожної поведінки під впливом АКГ?

3. Чи можуть інші сполуки циклу Кребса мати подібний ефект, і якщо так, то які саме?

Висновок. З огляду на вищевикладене вважаю, 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, що за актуальністю проблеми, методичними підходами, обсягом, ґрунтовністю аналізу та інтерпретацією отриманих даних, повнотою викладу принципів наукових положень, науково-теоретичним та практичним значенням повністю відповідає вимогам наказу Міністерства освіти і науки України № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» (зі змінами), «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), а її автор – Дем'янчук Олег Ігорович на підставі прилюдного захисту заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія зі спеціальності 091 Біологія.

Офіційний рецензент
кандидат біологічних наук,
старший науковий співробітник
кафедри біохімії та біотехнології
Прикарпатського національного університету
імені Василя Стефаника

Ольга СТРІЛЬБИЦЬКА