

Голові разової спеціалізованої
вченої ради ДФ 20 051.144
Прикарпатського національного
університету імені Василя Стефаника,
доктору біологічних наук,
професору Семчишин Галині Миколаївні

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора біологічних наук, професора, в.о. завідувача кафедри біохімії та фізіології Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара МОН України Ушакової Галини Олександрівни на дисертаційну роботу Гурзи Вікторії Володимирівни «Корекція дієтою спричинених віком та споживанням маргарину метаболічних порушень у мишей: енергетичний обмін та оксидативний стрес», подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія, за спеціальністю 091 – Біологія.

Актуальність обраної теми. Дисертація присвячена дослідженню біохімічних механізмів біоенергетики та оксидативного стресу. Актуальні питання біоенергетики у аеробів завжди пов'язані з біохімічними та фізіологічними властивостями мітохондрій, ключових органел, які відповідальні за вироблення енергії (АТФ). Порушення їх функцій може викликати оксидативний стрес через надмірне утворення вільних радикалів. Широко відомо, що оксидативний стрес виникає, коли баланс між вільними радикалами та антиоксидантами порушується. У тварин він спричиняє ушкодження клітинних структур: ліпідів, протеїнів, ДНК. Збалансована система забезпечення біоенергетикою й у той самий час контролю антиоксидантної системи є базова для регуляції фізіологічного стану у тварин. Порушення цього балансу призводить до зниження функцій різних органів та тканин, що знижує життєві можливості організму в цілому.

Дослідження, що представлені в даній дисертації, спрямовані на вирішення практичних питань: впливу різних варіантів дієти на розвиток метаболічних порушень та під час старіння.

За головну мету було поставлено дослідження впливу харчування з додаванням маргарину на розвиток метаболічних порушень у мишей, оцінка ефективності їхньої профілактики за допомогою відвару ромашки і періодичного голодування, а також впливу 30% калорійного обмеження у контексті вікових змін.

Для досягнення цієї мети були поставлені такі завдання:

1. Оцінити морфометричні показники (маса тіла, індекс маси тіла, індекс ожиріння Лі) у мишей, які споживали їжу з додаванням маргарину.

2. Дослідити фізіологічні показники (кількість спожитої їжі, води/відвару ромашки, отримані калорії) у мишей, які протягом чотирьох місяців споживали збагачену маргарином їжу.

3. Визначити лейкоцитарну формулу крові мишей, які споживали маргарин, пили відвар ромашки та зазнавали періодичного голодування.

4. Проаналізувати біохімічні показники плазми крові, печінки, нирок, жирової тканини, серця та кори головного мозку мишей після чотиримісячного споживання їжі з додаванням маргарину.

5. Оцінити біохімічні параметри плазми крові, печінки, нирок та кори головного мозку мишей середнього та старшого віку, які перебували на калорійному обмеженні протягом шести та дванадцяти місяців.

Об'єктом дослідження були лабораторні миші лінії C57BL/6J та C57BL/6N.

Предметом дослідження – морфометричні, фізіологічні та біохімічні зміни в органах та крові мишей, що виникли внаслідок перебування тварин на дослідних видах харчування.

Зв'язок теми дисертації роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано в межах грантових програм, які підтримані Міністерством освіти та науки України «Розробка нових немедикаментозних методів корекції метаболічного синдрому: нормалізація фізіолого-біохімічних показників у тварин» (#0118U003477, 2018-2020 рр.) та Німецькою Службою академічних обмінів (DAAD) у рамках програми «Ukraine digital: Ensuring academic success in times of crisis» (2022 р). Робота виконувалась на кафедрі біохімії та біотехнології Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника та частково на кафедрі нейрофізіології, Інституту фізіології Тюбінгенського університету імені Еберхарда Карла (Тюбінген, Німеччина).

Наукова новизна одержаних результатів.

Дисертанткою вперше виявлено, що вплив їжі з додаванням маргарину, водний відвар квітів ромашки (ВВР) та голодування через день (ГЧД) на організм мишей залежить від статі тварин. Встановлені сильніше метаболічні порушення в самок, які споживали маргарин протягом чотирьох місяців, ніж у самців. Виявлено, що ВВР та ГЧД проявляють протекторний ефект у самок, але не у самців, а ГЧД разом з маргарином взагалі може бути шкідливим для самців мишей.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати можуть бути корисними в медичній практиці, для розробки дієт з метою корегування проявів метаболічного синдрому з огляду на статеві особливості. Також результати, які були отримані в цьому дослідженні, будуть корисними для науковців біологічних та медичних галузей для розробки подальших експериментів.

Результати роботи впроваджені у навчальну та наукову діяльність кафедри біохімії та біотехнології, зокрема отримані дані використовуються для підготовки лекцій та практичних занять з дисциплін «Біологічно активні природні речовини», «Моделі біохімічних досліджень» та «Патофізіологія ожиріння», а також враховуються при постановці експериментів, які пов'язані з впливом висококалорійної дієти.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, які викладені у дисертаційній роботі.

Викладені у дисертації наукові положення та узагальнені на їх підставі висновки зроблені на основі отриманих власних експериментальних даних у відповідності з первинною документацією. Рівень обґрунтованості результатів проведених досліджень достатній, використані сучасні біохімічні, гематологічні, фізіологічні методи досліджень, результати статистично опрацьовані. Кількість варіантів у когортах відповідає критеріям варіаційної статистики, що дозволило зробити обґрунтовані висновки. Усі узагальнення та висновки, наведені у дисертаційній роботі, ґрунтуються на матеріалах власних досліджень і відображають закономірності, що виявлені шляхом аналізу отриманих авторських результатів. Робота виконана на високому методичному рівні із застосуванням сучасних методів досліджень, які є адекватними до поставленої мети та визначених завдань. Ретельний аналіз отриманих результатів дав змогу дисертантці їх узагальнити та зробити висновки. Усі висновки відповідають змісту роботи.

Аналіз дисертаційної роботи. Дисертація складається з традиційних розділів: вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, результатів та їх обговорення, узагальнення результатів, висновків та списку використаних джерел (292 найменування). Робота включає 196 сторінок. До складу дисертації входить 32 рисунки, 8 таблиць та додаток.

Загальна характеристика роботи. Дисертація містить усі розділи, передбачені вимогами до оформлення дисертації згідно з Наказом МОН України «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» № 40 від 12.01.2017 року (зі змінами), а також у відповідності з Постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 року (зі змінами).

У *анотації* детально викладені основні результати наукових досліджень, які отримані при виконанні дисертаційної роботи, а також подано список власних публікацій.

У *вступі* наведено актуальність обраної теми, мету, завдання роботи, наукову новизну, практичне значення одержаних результатів, особистий внесок здобувача у виконанні дисертаційної роботи, відображена апробація результатів роботи, основні положення дисертації та методи, які застосовані для вирішення поставлених завдань.

Розділ 1. «Вплив висококалорійного харчування, флавоноїдів та дієтичного обмеження на розвиток метаболічного синдрому» включає 5 підрозділів, що викладені на 29 сторінках, де авторка приводить і узагальнює дані іноземної та вітчизняної літератури за тематикою дисертаційної роботи, а саме:

- 1.1. Метаболічний синдром та його характеристика
- 1.2. Маргарин як потенційний фактор розвитку метаболічного синдрому
- 1.3. Флавоноїди та ромашка лікарська, як потенційні протектори при метаболічних порушеннях
- 1.4. Періодичне голодування як потенційний засіб захисту при метаболічних порушеннях
- 1.5. Обмеження калорійності як засіб захисту організму від пошкоджень викликаних старінням

Розділ 2 «Матеріали і методи дослідження» характеризує дизайн досліджень, об'єкти, матеріали, обладнання та методи досліджень. Дослідження проведені на достатній кількості експериментального матеріалу (модельні експерименти на мишах). Використані методи досліджень проводились на сучасному обладнанні, мають високий науковий та методичний рівень, відповідають меті та завданням роботи. У роботі застосовані:

Статистичні – для аналізу та підрахунку отриманих результатів.

Морфометричні – для визначення маси тіла, довжини тіла, індексу маси тіла, індексу ожиріння Лі.

Фізіологічні – для визначення кількості спожитої їжі та води (відвару ромашки), кількості спожитих калорій.

Гематологічні – для дослідження лейкоцитарної формули крові.

Біохімічні – для визначення активності ферментів та вмісту метаболітів.

Дисертаційна робота проведена з дотриманням вимог норм біоетики, біологічної безпеки та правил роботи з експериментальними тваринами. Всі експериментальні протоколи були схвалені Комісією з питань етики Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника (протокол №1 від 05.01.2021 року) і проведені відповідно до Директиви Європейського Парламенту і Ради 2010/63/ЄС від 22 вересня 2010 року про захист тварин, що використовуються для наукових досліджень.

У розділах 3-6 *«Результати дослідження та їх обговорення»* дисертантка детально представила та проаналізувала власно отримані експериментальні результати.

Розділ 3. Вплив маргарин-вмісної їжі на морфометричні та фізіологічні параметри мишей.

3.1. Зміна морфометричних показників мишей, які споживали маргарин з додаванням відвару ромашки та застосуванням голодування через день.

3.2. Зміна фізіологічних показників мишей, які споживали маргарин з додаванням відвару ромашки та застосуванням періодичного голодування.

Розділ 4. Вплив харчування з додаванням маргарину, відвару ромашки та періодичного голодування на лейкоцитарну формулу крові та маркери запалення.

4.1. Вплив маргарин-вмісної їжі разом з відваром ромашки та голодуванням через день на лейкоцитарну формулу крові дослідних тварин.

4.2. Маркери запалення у плазмі крові та в жировій тканині дослідних тварин.

Розділ 5. Вплив їжі з маргарином та додаванням відвару ромашки, або застосуванням періодичного голодування на систему антиоксидантного захисту мишей.

5.1. Маркери оксидативного стресу в різних органах мишей, які споживали маргарин-вмісну їжу окремо, з додаванням відвару ромашки чи застосуванням періодичного голодування.

5.2. Вплив відвару ромашки та голодування через день на фоні їжі з додаванням маргарину на антиоксидантну систему захисту мишей.

5.2.1. Вплив експериментальних видів харчування на антиоксидантну систему печінки.

5.2.2. Вплив маргарину, відвару ромашки та голодування через день на активність глутатіон-залежних ферментів у різних органах дослідних мишей.

Розділ 6. Вплив маргарин-вмісної їжі окремо та в поєднанні з відваром ромашки та періодичним голодуванням на енергетичний метаболізм мишей

6.1. Зміни рівня головних метаболітів у плазмі крові дослідних тварин.

6.2. Метаболічні зміни в печінці дослідних тварин.

6.3. Вплив дослідного харчування на рівень триацилгліцеридів у різних органах мишей.

У розділах 7-8 *«Аналіз та узагальнення результатів дослідження»* проведено стислий аналіз результатів власних досліджень.

Розділ 7. Узагальнення результатів експерименту з додаванням маргарину, відвару ромашки та застосуванням періодичного голодування.

Розділ 8. Результати експерименту із застосуванням калорійного обмеження та їх обговорення.

Ці розділи написані професійно, обґрунтовано подано осмислення власних результатів експериментальної роботи, добре ілюстровано схемами, що характеризує дисертантку як висококваліфікованого самостійного науковця, котрий може планувати, реалізовувати та аналізувати наукові дані, добре розуміється на біохімічних механізмах енергетичного обміну та оксидативного стресу у тварин.

Висновки дисертації ґрунтуються на результатах власних експериментальних досліджень, всього сформульовано 6 ключових висновків, які мають практичне спрямування стосовно впливу висококалорійних продуктів, зокрема маргарину, а також відвару ромашки та часткового голодування на морфометричні, фізіологічні та біохімічні показники, зокрема на стан про-/антиоксидантної системи і енергетичного обміну.

Відсутність порушень академічної доброчесності. За результатами перевірки та аналізу матеріалів дисертаційної роботи Гурзи Вікторії Володимирівни «Корекція дієтою спричинених віком та споживанням маргарину метаболічних порушень у мишей: енергетичний обмін та оксидативний стрес», не виявлено ознак академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації та фальсифікації.

Відомості щодо проведення біоетичної експертизи дисертації.

Дослідження було схвалено комісією з біоетики Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника.

Оцінка мови і стилю викладення матеріалу дисертації.

Мова і стиль викладення матеріалу дисертації Гурзи В.В. відповідають вимогам академічного письма.

Відповідність дисертації встановленим вимогам. Робота виконана на належному методичному рівні та відповідає 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 № 44 від 12 січня 2022 року (зі змінами) та Наказу МОН України «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» № 40 від 12.01.2017 року (зі змінами).

Повнота викладу основних положень дисертації в опублікованих працях. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковані 10 публікацій, з них три статті, з них 1 у міжнародному науковому журналі, який індексується наукометричними базами даних SCOPUS та Web of Science та віднесений до квартилю Q1 за рейтингом Scimago, дві статті опубліковані у науковому фаховому виданні категорії “Б” та сім тез доповідей наукових конференцій

Зауваження та запитання, які виникли при аналізі дисертаційної роботи.

1. У Вступі бажано було б ширше презентувати конкретні новітні результати, які отримані вперше, та обговорюються у дисертаційній роботі. Дисертанткою надано дуже скорочено цей пункт.
2. Також у Вступі відсутній підпункт «Публікації», надається інформація тільки про апробацію на конференціях.
3. У «Практичні результати» бажано б було додати номер акту впровадження, оскільки довідка про це надається у додатку.
4. У Висновках не вистачає узагальнюючого висновку.
5. Чому за основу висококалорійної дієти був обраний саме маргарин, а не олія? Які біохімічні особливості сприйняття екзогенних жирів у гризунів та людини?
6. Які еволюційно закладені механізми захисту за умов короточасного та тривалого голодування у гризунів та людей?

7. В яких одиницях презентований рівень ІЛ-1 β на рис. 4.2?
8. Чи проводились дослідження на мітохондріальній фракції за визначених умов експериментів?
9. Чи є дані поведінкової активності тварин та кореляція з отриманими біохімічними показниками за даних типів дієт?

Висловлені зауваження та запитання жодним чином не знижують позитивне загальне враження про дисертаційну роботу, її новизну та наукове-прикладне значення.

Висновок

Дисертаційна робота Гурзи Вікторії Володимирівни «Корекція дієтою спричинених віком та споживанням маргарину метаболічних порушень у мишей: енергетичний обмін та оксидативний стрес» є завершеною науковою працею, результати даної роботи широко презентовані у відкритому науковому просторі, обговорені на профільних наукових конференціях, не містять плагіату, не містять порушення авторського права та основ біоетики.

Вважаю, що дисертація Гурзи Вікторії Володимирівни містить авторське новітнє вирішення наукового завдання. Дисертаційна робота за своєю актуальністю, об'ємом отриманих результатів, новизною та науково-практичною значимістю отриманих результатів відповідає вимогам передбаченим наказом Міністерства освіти і науки України № 40 від 12.01.2017р. (зі змінами) «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», а також «Порядком 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 року № 44 (зі змінами), а її автор заслуговує на присвоєння наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія».

Офіційний опонент:

в.о. завідувача кафедри біохімії та фізіології
Дніпровського національного університету
імені Олеся Гончара МОН України
доктор біологічних наук,
професорка

Галина УШАКОВА