

Голові разової 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, в.о. завідувача кафедри біохімії та фізіології Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара МОН України Ушакової Галини Олександрівни на дисертаційну роботу Ватащук Мирослави Володимирівни «Енергетичні та вільнорадикальні процеси у мишей за споживання висококалорійної їжі та альфа-кетоглутарату», подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія, за спеціальністю 091 – Біологія.

Актуальність обраної теми. Дисертація присвячена дослідженню біохімічних механізмів енергетичних та вільнорадикальних процесів у мишей за споживання висококалорійної їжі та впливу альфа-кетоглутарату. Актуальні проблеми застосування висококалорійної їжі (особливо в умовах сучасного способу життя) охоплюють багато питань як медичних, соціальних, так і економічних. Надмірне споживання калорій веде до накопичення жирової тканини, що викликає ожиріння. Це призводить до розвитку серцево-судинних захворювань. Доведено, що висококалорійна їжа часто багата насиченими жирами, трансжирами і цукром підвищує ризик гіпертонії, інфаркту, інсульту. Раціон, бідний на мікроелементи, але багатий на калорії, послаблює захисні сили організму та знижує імунітет. Усі названі проблеми безпосередньо впливають на поведінкові реакції та психологічний стан, що в свою чергу тягне за собою соціальні виклики. Зростання витрат на охорону здоров'я за ускладнення, пов'язані з ожирінням і метаболічними захворюваннями, зниження працездатності через хронічну втому, проблеми з серцем, суглобами тощо. Проведення ґрунтовного дослідження спрямовано на вирішення практичних питань: впливу альфа-кетоглутарату (АКГ) на фоні базової та висококалорійної їжі (ВКЇ) з високим вмістом жирів та фруктози на морфометричні та гематологічні показники, параметри енергетичного обміну, маркери оксидативного стресу, параметри антиоксидантного захисту та запальні процеси у тканинах мишей середнього віку лінії C57BL/6J.

За головну мету було поставлено оцінку впливу альфа-кетоглутарату на морфометричні, метаболічні та запальні показники у мишей лінії C57BL/6J за споживання базової їжі та висококалорійної їжі з високим вмістом жирів та фруктози.

Для досягнення мети бути поставлені наступні завдання:

1) Визначити динаміку маси тіла та споживання питної води, вміст вісцерального жиру та індекси маси тіла у синхронізованій за віком популяції мишей (5-тимісячні самці) лінії C57BL/6J за утримування на чотирьох експериментальних режимах: базовій їжі (контрольна група), базовій їжі з додаванням альфа-кетоглутарату до питної води (група АКГ), висококалорійній їжі з високим вмістом жирів (смальцю) та фруктози окремо (група ВКІ) та з додавання альфа-кетоглутарату до питної води (група ВКІАКГ) протягом 8 тижнів.

2) Здійснити забір крові у дослідних мишей та провести її біохімічний та гематологічний аналіз з визначенням лейкоцитарної формули.

3) Відібрати зразки тканин – печінку, жирову тканину, серце та скелетні м'язи для біохімічного та гістологічного аналізів та визначити в них вміст метаболітів, показники ліпідного обміну, активність ключових ферментів шляхів катаболізму глюкози та фруктози;

4) Визначити маркери оксидативного стресу та активність антиоксидантних та асоційованих з ними ферментів у тканинах мишей;

5) Провести гістологічний аналіз зрізів печінки та жирової тканини мишей.

Об'єкт дослідження – вільнорадикальні та енергетичні процеси у лабораторних мишей.

Предмет дослідження – вплив АКГ на фоні споживання базових та висококалорійних продуктів на показники ліпідного обміну, оксидативного стресу, імунної відповіді та енергетичного метаболізму.

Зв'язок теми дисертації роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано протягом 2020 до 2024 рр. 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). Дисертантка була співвиконавицею та проводила частину досліджень.

Наукова новизна одержаних результатів.

Здобувачка оцінила здатність доданого в їжу АКГ відігравати захисну роль при споживанні висококалорійної їжі з високим вмістом жиру (смальцю) та фруктози, враховуючи його широкий спектр біологічної активності включно з антиоксидантними, прооксидантними та імуномодуючими властивостями.

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. Досліджено тканиноспецифічні ефекти АКГ, які можуть бути зумовлені різними механізмами його дії, включаючи антиоксидантні, прооксидантні та імуномодуючі ефекти. Результати дослідження розширюють розуміння про індукування їжею метаболічного синдрому та з'ясовує потенційну роль АКГ як метаболічного регулятора

Практичне значення одержаних результатів. Дослідження наслідків споживання їжі з високим вмістом жирів і вуглеводів допомагає краще зрозуміти причини поширення метаболічного синдрому та пов'язаних з ним захворювань у сучасному суспільстві. Використання модельних тварин, які споживають висококалорійну їжу, дозволяє вивчати механізми розвитку метаболічного синдрому в контрольованих умовах. Вивчення властивостей АКГ як харчового додатку на фоні висококалорійної їжі відкриває перспективи для створення нових підходів у профілактиці метаболічного синдрому. Отримані результати впроваджені у наукову діяльність кафедри біохімії та біотехнології та використовуються при плануванні експериментів на модельних організмах.

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 даних у відповідності з первинною документацією. Рівень обґрунтованості результатів проведених досліджень достатній, використані сучасні біохімічні, гематологічні методи досліджень, результати статистично опрацьовані та отримані вірогідні дані. Кількість варіантів у вибірках відповідає критеріям варіаційної статистики і кореляційного аналізу, що дозволило зробити обґрунтовані висновки та практичні рекомендації. 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. Усі отримані результати опрацьовані статистично за допомогою відповідних методів математичної статистики. 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: вступ, огляд літератури, матеріали та методи досліджень, результати та їх обговорення, аналіз та узагальнення результатів, висновки, список використаних джерел. Робота викладена на 166 сторінках, та містить 22 рисунки і 2 таблиці.

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 «Огляд літератури» включає 9 підрозділів, що викладені на 26 сторінках, де авторка приводить і узагальнює дані іноземної та вітчизняної літератури за тематикою дисертаційної роботи, а саме:

- 1.1. Миша *Mus musculus* як модельний організм для вивчення метаболічного синдрому
- 1.2. Індукція метаболічного синдрому у модельних тварин
- 1.3. Метаболічний синдром
- 1.4. Стратегії запобігання розвитку та профілактики метаболічного синдрому
- 1.5. Характеристики альфа-кетоглутарату
- 1.6. Вплив АКГ на тривалість життя
- 1.7. Антиоксидантна функція АКГ
- 1.8. Прооксидантні властивості АКГ
- 1.9. Роль альфа-кетоглутарату в метаболічному синдромі

Розділ 2 «Матеріали і методи дослідження» характеризує етапи досліджень, об'єкти та передумови, матеріал, 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. Статистична обробка матеріалів проводилась з використанням сучасного програмного забезпечення, зроблена коректно і доказово.

У розділі 3 *«Результати дослідження та їх обговорення»*, що складається з 4-х підрозділів, дисертантка детально представила та проаналізувала власно отримані експериментальні результати.

Зокрема, у підрозділі 3.1 *«Їжа з високим вмістом жиру і фруктози та альфа-кетоглутарат незначно впливають на морфометричні та гематологічні показники мишей»* наведено результати про аналіз розрахунків індексу маси тіла, індексу ожиріння та індексу Лі, які продемонстрували відсутність відмінностей у мишей, які споживали ВКЇ, АКГ чи їх комбінацію, порівняно з контролем. Отримані

результати показали, що ВКІ не спричинила значних змін у окисно-відновних параметрах крові, але модулювала гематологічні параметри у самців мишей C57BL/6J.

У підрозділі 3.2 наведено результати про результат застосування їжі з високим вмістом жиру та фруктози, що викликає слабкий оксидативний стрес і впливає на метаболізм у печінці мишей: детально визначені ефекти альфа-кетоглутарату.

Підрозділ 3.3. демонструє як додавання альфа-кетоглутарату по-різному модифікує оксидативний стрес у тканинах мишей, які споживали стандартну та висококалорійну їжу.

У підрозділі 3.4. презентовані власні результати, які вказують на те, що у м'язах мишей альфа-кетоглутарат частково послаблює негативний вплив їжі з високим вмістом жиру та фруктози.

У розділі 4 «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» проведено стислий аналіз результатів власних досліджень. Цей розділ написаний професійно, треба відмітити лаконічно презентовані узагальнюючі схеми, що характеризує дисертантку як висококваліфікованого самостійного науковця, котрий добре розуміється на біохімічних механізмах енергетичного обміну та антиоксидантного захисту у тварин.

Висновки дисертації ґрунтуються на результатах власних експериментальних досліджень, всього сформульовано 6 ключових висновків, які мають практичне спрямування. Отримані в роботі результати демонструють здатність альфа-кетоглутарату коригувати метаболічні порушення, викликані короткостроковим споживанням їжі, яка багата на тваринні жири та фруктозу. Захисний ефект альфа-кетоглутарату проявляється у зменшенні інтенсивності оксидативного стресу, посиленні антиоксидантного захисту та нормалізації енергетичного метаболізму в тканинах мишей. Як харчовий додаток на тлі базової їжі альфа-кетоглутарат модулює ефекти на рівні імунних клітин у крові та антиоксидантному захисті у тканинах мишей.

Відомості щодо проведення біоетичної експертизи дисертації.

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 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.

Оцінка мови і стилю викладення матеріалу дисертації.

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

Відсутність порушень академічного плагіату. За результатами перевірки та аналізу матеріалів дисертаційної роботи Ватащук Мирослави Володимирівни «Енергетичні та вільнорадикальні процеси у мишей за споживання висококалорійної їжі та альфа-кетоглутарату», не виявлено ознак академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації та фальсифікації.

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 9 публікацій, 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

Зауваження та запитання, які виникли при аналізі дисертаційної роботи.

1. Текст дисертації грамотно презентований, але забагато використаних скорочень. Фахівцю біохіміку все добре зрозуміло, але не фахівцям важко буде розібратися.
2. Чому за предмет дослідження обраний вплив саме АКГ на фоні споживання базових та висококалорійних продуктів, а не інші складові циклу трикарбонових кислот? Чи має аналогічний ефект бурштинова кислота?
3. Чим обґрунтований термін експерименту – 8 тижнів, та доза АКГ?
4. Які специфічні особливості сприйняття високо жирової та високо вуглеводної їжі у гризунів та людей? Чи є сезони відмінності?
5. Чому застосовували односторонній тест ANOVA?
6. На фото гістологічних результатів (наприклад рис.3.3.2) бажано б було застосувати більше збільшення та застосувати стрілочки для демонстрації отриманих результатів.
7. Чи є акти впровадження ваших оригінальних результатів або патенти?

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

Висновок

Дисертаційна робота Ватащук Мирослави Володимирівни «Енергетичні та вільнорадикальні процеси у мишей за споживання висококалорійної їжі та альфа-кетоглутарату» 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 Ватащук Мирослави 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 МОН України «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» № 40 від 12.01.2017 року (зі змінами) та «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