

ВІДГУК

на дисертаційну роботу Забуги Оксани Геннадіївни "Вплив обмеження харчування в період розвитку на параметри життєздатності та тривалість життя *Drosophila melanogaster*", поданої на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.13 – фізіологія людини і тварин

Актуальність теми. Протягом останнього сторіччя накопичено значну кількість наукових даних по біології старіння. Проте проблемі подовження тривалості життя людини і тварин присвячено менше 1% робіт. Серед факторів, які суттєво впливають на параметри життєздатності та тривалість життя особливе місце займає харчування. На даний час всебічно вивчено вплив 40-50% калорійно обмеженого раціону на організм. В більшості подібних досліджень використовували дрібних лабораторних тварин: щурів, мишей, морських свинок. Вони мають відносно короткі терміни вагітності та тривалість життя, а також майже повністю вивчені їх геноми. В експериментах, зосереджених переважно на ембріональному періоді з безпосереднім аналізом фізіологічного стану плода і плаценти, використовували крупніші види тварин, наприклад, овець і нижчих приматів.

Незважаючи на багаторічні дослідження, механізми, які лежать в основі впливу аліментарної депривації на темпи старіння недостатньо вивчені. Дослідження тривалості життя з використанням хребетних – дещо незручне через довговічність цих тварин, їхні розміри, певні етичні аспекти та порівняно високу вартість їхнього утримання. Альтернативою стали експерименти із вивченням параметрів життєздатності за різного ступеню обмеження харчування, із подальшими молекулярними дослідженнями з використанням короткоживучих модельних організмів, таких як безхребетні. Хребетні та безхребетні тварини значно відрізняються за своєю морфологією та особливостями метаболізму, але більшість механізмів старіння є еволюційно консервативними, а гени та сигнальні шляхи, пов'язані з тривалістю життя, філогенетично зберігаються. Все вищеведене зумовило актуальність проведеного у роботі експерименту, який полягає у дослідженні обмеження харчування в період розвитку на параметри життєздатності та тривалість життя *Drosophila melanogaster* та формує базис для вивчення гомологічних процесів у ссавців.

Дисертаційна робота виконана у межах наукової теми Інституту геронтології НАМН України: "Вплив голодування в ранньому онтогенезі на

темпи старіння та смертність (експериментальні та демографічні дослідження)" (2011-2013 рр., номер державної реєстрації 0111U001488).

Наукова новизна та ступінь обґрунтованості висновків дисертації.

Отримані в дисертаційній роботі результати та їх інтерпретація мають фундаментальне значення, оскільки демонструють довгострокові епігенетичні модифікації, які виникають внаслідок обмеження харчування на стадії розвитку та сприяють подовженню тривалості життя імаго *Drosophila melanogaster*. Дисертаційна робота Забуги О.Г. є закінченим науковим дослідженням, що базується на власних експериментальних даних і аналізі літератури. Експериментальна частина дисертаційної роботи виконана з використанням апробованих методів дослідження, які відповідають поставленим завданням.

За отриманими Забугою О.Г. результатами дослідження та його аналізу показано, що обмеження поживних компонентів у харчуванні тільки на стадії личинки дрозофіли може збільшити тривалість життя самців. У самиць показано відсутність прямої залежності тривалості життя від репродуктивної активності за умов обмеження харчування.

Показано наявність негативного впливу на життєві характеристики харчування впродовж розвитку, якщо воно не відповідає дієті у дорослому віці. Виявлено також вплив аліментарної депривації під час прекоцепційного періоду предків комах I покоління (матерів, а не батьків) на тривалість життя їхніх нащадків. Вперше визначено, що дорослі самці після недостатнього харчування впродовж розвитку мають збільшення експресії гену *InR* та підвищення активності антиоксидантних ферментів СОД і каталази.

Загалом, наукові положення та висновки, представлені у дисертації, базуються на достатньому експериментальному матеріалі та забезпечені методичними підходами, які неодноразово перевірені в дослідженнях інших авторів. Достовірність результатів роботи зумовлено значною кількістю зібраних даних та застосуванням сучасних методів математичного аналізу.

Структура і обсяг дисертації. Дисертація складається зі вступу, основної частини (огляд літератури, матеріали і методи досліджень, три розділи із результатами досліджень та їх обговорення), висновків та списку використаних джерел (252 найменування). Роботу викладено на 140 сторінках машинописного тексту та вона містить 13 рисунків і 13 таблиць.

Зміст роботи. Ознайомлення із текстом дисертації О. Г. Забуги дає підстави стверджувати, що експериментальні дослідження відзначаються фундаментальністю та ґрунтовністю. Варто відзначити добру

структурованість роботи, послідовне і логічне викладення, якісне оформлення тексту.

У **вступній частині** тексту дисертації чітко обґрунтовано актуальність теми дослідження та необхідність вивчення наслідків обмеження харчування в період розвитку для параметрів життєздатності модельного організму *D. melanogaster*. Відповідно сформульована загальна мета дослідження та поставлено шість основних конкретних задач для її реалізації.

Огляд літератури включає 24 сторінки, на яких автор аналізує наукові видання, що свідчить про ґрунтовне опрацювання проблеми і високий рівень наукової підготовки авторки, її наукову зрілість. Зміст даного розділу безпосередньо стосується мети і завдань дисертації. Аналіз літературних джерел проведено якісно та глибоко, що надає читачу досить повне уявлення про стан проблеми. Справляє позитивне враження джерельна база роботи, що включає видання, вітчизняної (17 посилань) та зарубіжної літератури (235 посилань).

У розділі 2 "**Матеріали та методи**" детально описано принципи утримання лабораторної популяції *Drosophila melanogaster*. Тут порівнюються різні варіанти маніпуляцій харчуванням у цього виду та чітко обґрунтовано вибір методики дієтичної рестрикції, застосованої у даній роботі. Автор роботи вдало використовує різноманітні сучасні методи біологічних досліджень, наводить детальний опис молекулярно-генетичного та біохімічного аналізів. Всі викладені у дисертаційній роботі результати були належним чином статистично оброблені та проаналізовані за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) із подальшими апостеріорними співставленнями (Tukey HSD post hoc test) груп.

Результати досліджень представлено у трьох розділах. Розділ 3 присвячено дослідженню залежності тривалості життя та інших фізіологічних параметрів від зміни концентрації харчових компонентів на стадії личинки. У розділі 4 описано експериментальні серії із вивченням наслідків невідповідності дієтичних умов на різних стадіях онтогенезу та впливу прекоцепційної харчової депривації батьківського покоління на тривалість життя нащадків. У 5 – продемонстровано проведення молекулярно-генетичного та біохімічного аналізів.

Аналіз та узагальнення результатів досліджень подано у 6 розділі дисертаційної роботи. Тут автор підсумовує отримані дані, детально і глибоко аналізує матеріали дослідів, проводить кореляцію результатів, дає власну інтерпретацію механізмів процесів, які досліджувала та порівнює їх із сучасними даними літератури, дає їм теоретичне обґрунтування. Обговорення отриманих результатів проведено автором змістовно та

об'єктивно: дисертант порівнює їх із даними інших авторів, дає їм критичну оцінку.

Робота завершується вісьмома досить розгорнутими висновками, які відповідають меті й завданням дослідження, є обґрунтованими, логічними, конкретними та відображають всі аспекти виконаної роботи. Список літератури подано згідно вимог до оформлення відповідного розділу дисертаційної роботи.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті. Основний зміст дисертації опубліковано у 7 наукових працях, серед яких 5 статей у вітчизняних наукових фахових виданнях, рекомендованих Департаментом акредитації кадрів України, 2 – в іноземних журналах, а також 5 тез доповідей наукових конференцій і симпозіумів.

Дискусійні питання та зауваження, що виникли при аналізі дисертації та автореферату:

1. На мою думку в кінці розділу “Огляд літератури” (с.36) не потрібно повторювати завдання, адже вони вже були представлені на с.10.
2. Текст огляду літератури варіантів обмеженого харчування у *Drosophila melanogaster* (с.41-43 розділ 2 “Матеріали і методи”) необхідно було розмістити в розділі 1 “Огляд літератури”.
3. В розділі 2 “Матеріали і методи” відсутнє обґрунтування 18-годинної харчової депривації і 13-годинної харчової депривації під час прекоцепційного періоду життєвого циклу мушок на тривалість життя їхніх нащадків.
4. В розділі 2 “Матеріали і методи” не вірно вказано посилання на літературу (122-список літератури) по статистичній обробці даних.
5. В розділі 2 “Матеріали і методи” відсутні відомості про ступінь контролю за кількістю спожитого поживного середовища.
6. Як Ви вважаєте, чи стандартне поживне середовище, застосоване у даних експериментах, не є занадто калорійним, тобто, наскільки воно відповідає калорійності харчування популяції дрозофіл у природних умовах?
7. Які у Вас існували підстави, щоб зробити висновок, що виявлені в експерименті зміни мають епігенетичний характер?

Зроблені зауваження не знижують теоретичної та практичної цінності дисертації. Автореферат відображає основний зміст дисертації. Наукові та практичні результати проведених досліджень можна кваліфікувати як нове рішення актуального наукового завдання.


ЗАГАЛЬНИЙ ВИСНОВОК ПО ДИСЕРТАЦІЙНІЙ РОБОТІ

Дисертаційна робота Забуги О. Г. "Вплив обмеження харчування в період розвитку на параметри життєздатності та тривалість життя *Drosophila melanogaster*" присвячена вивченню важливої наукової проблеми. Значущість дисертаційного дослідження пов'язана із виявленням наслідків дієтичної рестрикції в період розвитку для тривалості життя модельного організму *Drosophila melanogaster*. Якість виконання експериментів, правильна статистична обробка, об'єктивний аналіз одержаних результатів, співставлення із сучасними літературними даними дозволяють високо оцінити дисертаційну роботу Забуги О. Г. Застосування системного підходу при вивченні залежності параметрів життєздатності від обмеження харчування на стадії розвитку дрозофіли, визначення експресії певних асоційованих із тривалістю життя генів та активності антиоксидантних ферментів представляє суттєве теоретичне і практичне значення.

За критеріями актуальності, новизни, науково-методичного рівня, аргументованості висновків, повноти викладення результатів у наукових публікаціях, дисертаційна робота Забуги Оксани Геннадіївни "Вплив обмеження харчування в період розвитку на параметри життєздатності та тривалість життя *Drosophila melanogaster*" є закінченим науковим дослідженням, яке відповідає всім вимогам пункту 11 "Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника", затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 № 567, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 – фізіологія людини і тварин.

Офіційний опонент,
провідний науковий співробітник відділу клінічної патофізіології
Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України,
доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник

І. Г. Літовка



ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ ім. О.О. Богомольця
НАН України

Підпис І. Г. Літовка

Засвідчую.

Офіційний секретар Л. С. Кучер