

ВІДГУК
офіційного опонента

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

Drosophila melanogaster є одним із загально визнаних модельних організмів. В свою чергу сьогодні широко відомим є той факт, що багатоклітинним організмам притаманний еволюційний консерватизм багатьох сигнальних шляхів та їх окремих компонентів. Ці дві передумови дозволили використання дрозофіли, як модельного об'єкту, для дослідження механізмів старіння. Відомо, що обмеження харчування впливає на тривалість життя і репродуктивну функцію багатьох організмів. Показано, що результати такого впливу можуть залежати від того, на якому етапі життєвого циклу організм зазнає вищезгаданих впливів. Результати попередніх досліджень впливу обмеженого харчування на тривалість життя дрозофіли не дають однозначної відповіді стосовно взаємозв'язку між особливостями харчування та фізіологічними процесами у плодових мух. Молекулярні механізми, які опосередковують вплив обмеженого харчування на тривалість життя потребують подальших досліджень.

Таким чином, тематика дисертаційної роботи Забуги О.Г., присвяченої дослідженню впливів обмеження харчування в період розвитку на параметри життєздатності та тривалість життя *Drosophila melanogaster* є **актуальною**.

Робота виконана у рамках науково-дослідної роботи, яка проходила у межах наукової тематики Інституту геронтології НАМН України: «Вплив голодування в ранньому онтогенезі на темп старіння та смертність (експериментальні та демографічні дослідження)» (2011-2013 рр., номер державної реєстрації 0111U001488).

Роботу побудовано за загальноприйнятою схемою, викладено на 140 сторінках, добре ілюстровано (13 рисунків та 13 таблиць), перелік використаних джерел містить

252 посилання, серед яких переважно представлені роботи останніх років. Загалом, робота добре оформлена, хоча є і дрібні недоліки:

- у тексті зустрічаються не зовсім коректні вирази, наприклад, «*chico* – ген *CG5686*, субстрат інсулінового рецептору», стр. 4, «...кількість мРНК білку HSP-70...» на стр. 30, «...ген може бути посередником адаптаційної реакції на "голод"» на стр. 31, «Для ПЛР-аналізу підібрали специфічні для вивчених генів дрозофіли праймери (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>)» на стр. 47; **Структура і обсяг дисертації**, обумовлені метою та завданнями дослідження, демонструють епігенетичні прояви впливу недостатнього харчування впродовж розвитку на життєздатність та тривалість життя *D. melanogaster*, стр. 4 (автореферат) та ін.

- іноді автор застосовує написання генетичних символів некоректно, так вираз «У такому випадку реакцію на "голод" модулює надекспресія dFOXO у жировому тілі плодових мушок», очевидно стосується експресії гена, а запис наведений як для білка, стр. 31.; «нейрон-специфічна трансгенна надекспресія dCBS», та ж помилка, стр 32;

- подекуди відсутні розшифровки скорочень, наприклад *GADD45*, стр. 32;

- автор вважає, що «Пік репродуктивної здатності починається у віці 15 діб і триває близько 10 днів» у *Drosophila melanogaster*. Ці дані наведені без посилання та не відповідають літературним (стр. 40).

- розділ «Матеріали і методи» містить детальний опис умов культивування та циклу розвитку у дрозофіли, які є загальновідомими, тобто достатньо було би наведення посилання у такому випадку, стр. 38, 39.

Робота містить і інші мілкі недоліки, перелік яких можна продовжувати.

В той же час робота Забуги О.Г. виконана на високому експериментальному рівні з використанням фізіологічних (визначення тривалості розвитку та преімагінальної виживаності у личинок; визначення репродуктивної активності та фертильності самиць; маси тіла, стресостійкості, тривалості життя в імаго); молекулярно-біологічних (виділення РНК, зворотна транскрипція, кількісний ПЛР-аналіз у реальному часі); біохімічних (колориметричний метод), а також статистичних методів аналізу отриманих результатів.

Робота Забуги О.Г. є новим важливим внеском у вивчення впливу особливостей харчування у період розвитку на параметри життєздатності та тривалість життя у *D. melanogaster*, з можливим подальшим застосуванням отриманих результатів у інших дослідженнях. У першій частині розділу «Результати досліджень» (підрозділ 3.1) представлено дані про зміни тривалості розвитку та преімагінальної виживаності внаслідок обмеження харчування. Показано, що зі зменшенням вмісту харчових компонентів у поживному середовищі показник тривалості розвитку поступово зростає, виживаність на преімагінальній стадії, навпаки зменшується. У другій та третій частинах розділу «Результати досліджень» (підрозділи 3.2 та 3.3.) досліджували вплив обмеження харчування у період розвитку на вагу імаго, стійкість до харчової деривації та температурного шоку, а також на репродуктивну здатність самиць та тривалість життя. У четвертому розділі «Результати досліджень» автор викладає дані по впливу обмеження харчування імаго на тривалість життя, тривалість розвитку і виживаність на преімагінальній стадії їх нащадків. П'ятий розділ «Результатів досліджень» присвячений вивченню впливу обмеження харчування на стадії личинки на експресію генів *InR* та *dSir2* та активність ферментів антиоксидантної системи захисту у *D. melanogaster*. Остання частина розділу «Результати досліджень» (розділ 6) стосується аналізу та узагальнення отриманих результатів.

Таким чином, сумуючи вищевказане, **наукова і практична цінність** дисертаційної роботи Забуги О.Г. полягає у тому, що встановлено деякі особливості та певні механізми впливу обмеженого харчування у період розвитку на імаго дрозофіли, а також їх нащадків, що має як загально біологічний характер так і важливе практичне і теоретичне значення. Отримані результати можуть бути враховані при розробці методів попередження негативних для стану здоров'я наслідків недостатнього харчування у ранньому віці.

Наведені у дисертації результати і висновки знайдуть застосування перш за все в наукових дослідженнях факторів, які впливають на тривалість життя, а також в генетиці старіння та в медичній генетиці, які проводяться в академічних, освітніх та інших галузевих установах.

Використання сучасних експериментальних методів, достатня кількість проведених експериментів, узгодження отриманих результатів з існуючими експериментальними даними і висновками інших авторів дозволяють говорити про

достовірність теоретичних та експериментальних результатів та обґрунтованість наукових висновків.

Проведені автором експериментальні дослідження повністю відповідають меті дисертаційної роботи, а отримані дані дозволяють вирішити поставлені у роботі задачі. Разом з тим виникають наступні **зауваження та запитання.**

1) У розділі «Матеріали і методи» є підрозділ 2.2. Варіанти обмеження харчування у *D. melanogaster*, в рамках якого викладено застосовані молекулярно-біологічні та біохімічні методики, без розбиття на відповідні підрозділи, а далі наведено підрозділи 2.2.1, 2.2.2 і далі, які не мають назв і повідомляють про умови постановки різних експериментів стосовно обмеження харчування. Таке викладення матеріалу видається нелогічним та ускладнює його сприйняття.

2) У розділі 3.2 досліджувався вплив обмеження харчування у період розвитку в 50% від контролю на масу тіла імаго. Не зрозуміло чому вибрали лише одну концентрацію, а не дослідили залежність маси тіла від обмеження харчування у всіх використаних загалом у роботі діапазонах.

3) Формулювання висновку №5 вважаю невдалим, оскільки отриманий результат підтверджує гіпотезу, тому варто було саме результат акцентувати.

4) В роботі декілька раз звучить, що «продемонстровано епігенетичні ефекти», однак суто епігенетичні механізми в роботі не досліджувались, тому коректно лише передбачати, що описані ефекти можуть обумовлюватись епігенетичними процесами.

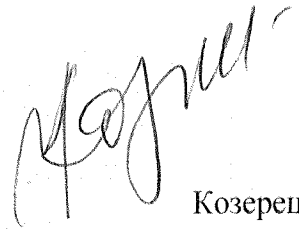
Вказані зауваження не знижують загальної високої оцінки розглянутої роботи.

Оцінюючи роботу в цілому, можна констатувати, що дисертація Забуги О.Г. є завершеним дослідженням в актуальній області впливу обмеженого харчування в період розвитку на параметри життєздатності та тривалість життя дорослих особин у *Drosophila melanogaster* і містить низку важливих наукових і практичних результатів. Основні наукові положення, висновки і рекомендації дисертаційної роботи повністю викладено в опублікованих працях здобувача, які налічують 12 публікацій, в тому числі 7 статей у фахових наукових журналах.

Автореферат адекватно і в повній мірі передає зміст дисертаційної роботи.

Враховуючи актуальність та обсяг проведених досліджень, наукову новизну отриманих результатів, обґрунтованість висновків, перспективи наукового застосування, вважаю, що дисертаційна робота "Вплив обмеження харчування в період розвитку на параметри життєздатності та тривалість життя *Drosophila melanogaster*" відповідає 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 **Забуга Оксана Геннадіївна** заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.1 – фізіологія людини і тварин.

Офіційний опонент,
доктор біологічних наук,
доцент кафедри загальної та молекулярної генетики
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка



Козерецька І.А.

Підпис Козерецької І.А. засвідчую

