

Голові разової спеціалізованої
вченої ради ДФ 20.051.189
Карпатського національного
університету імені Василя Стефаника,
доктору біологічних наук,
професору Семчишин Галині Миколаївні
РЕЦЕНЗІЯ

офіційного рецензента, кандидата біологічних наук, доцента кафедри біохімії та біотехнології Карпатського національного університету імені Василя Стефаника Гусака Віктора Васильовича на дисертаційну роботу Іваночка Мар'яна Васильовича «Вплив препаратів броколі на антиоксидантні та енергетичні параметри мишей при споживанні кафетерійної їжі», подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія, за спеціальністю 091 – Біологія.

Актуальність обраної теми. Дисертація присвячена вивченню впливу споживання препаратів броколі (*Brassica oleracea var. italica*) на розвиток спричинених кафетерійною їжею метаболічних порушень та оксидативного стресу у лабораторних мишей *Mus musculus*. Здатність броколі чи її сполук (зокрема ізотіоціанату сульфорафану) усувати порушення обміну речовин та супутні до них захворювання у модельних організмів та пацієнтів досліджувалася й раніше. Проте більшість цих робіт не стандартизовані та уніфіковані, і саме вплив препаратів паростків і проростків броколі на масу тіла, накопичення запасних ліпідів, гіперглікемію у крові, обмін речовин, оксидативний стрес і запалення вивчені недостатньо.

Метою роботи було встановити вплив споживання препаратів броколі на обмін речовин і антиоксидантну систему у лабораторних мишей, які споживали кафетерійну їжу.

Для досягнення цієї мети були поставлені такі завдання:

1. Визначити вміст біологічно активних природних речовин та параметри загальної антиоксидантної активності у препаратах броколі.
2. Дослідити вплив паростків броколі на параметри лабораторних мишей при споживанні кафетерійної їжі.
3. Дослідити вплив проростків броколі на параметри лабораторних мишей при споживанні кафетерійної їжі.

Об'єктом дослідження були параметри тіла, антиоксидантна система, обмін речовин, транскрипція генів у лабораторних мишей *Mus musculus*.

Предметом дослідження були фізіологічні показники, поведінка мишей, показники обміну речовин, антиоксидантного захисту і запалення, відносний рівень транскрипту іРНК генів, гістологічні зрізи печінки лабораторних мишей, які споживали базову або кафетерійну їжу з, або без додавання зразків броколі.

Зв'язок теми дисертаційної роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу проводили з 2022 до 2025 р. на кафедрі біохімії та біотехнології Карпатського національного університету імені Василя Стефаника як частину наукової тематики кафедри. Робота фінансувалася у рамках проєкту Міністерства науки та освіти України «Корекція метаболічного синдрому збагаченими сульфорафаном препаратами з проростків броколі» (№ держреєстрації – 0122U000894, з 1 січня 2022 по 31 грудня 2024 року). Дисертант був співвиконавцем проєкту та проводив частину досліджень.

Наукова новизна отриманих результатів. У цій роботі вперше показано, що споживання мишами проростків та паростків броколі вплинуло на окремі показники обміну речовин та оксидативного стресу при споживанні кафетерійної їжі. Споживання кафетерійної їжі не викликало значного збільшення маси тіла мишей, проте сприяло зростанню маси вісцеральної жирової тканини у тілі мишей, накопиченню триацилгліцеролів та розвитку запальних процесів у печінці мишей. Паростки і проростки броколі усували накопичення триацилгліцеролів у печінці мишей. Проростки броколі усували накопичення глікогену у печінці, стимулювали залежні від глутатіону антиоксидантні ферменти у печінці та корі головного мозку мишей. Також проростки броколі сприяли детоксикації ксенобіотиків та протизапальним процесам при споживанні разом з базовою чи кафетерійною їжею. Споживання кафетерійної їжі підвищувало активність гліколітичних ферментів, а додавання проростків броколі нормалізувало ці параметри до показників групи з базовою їжею. При збільшенні вмісту проростків броколі у кафетерійній їжі було виявлено зниження споживання їжі мишами і зниження рівня триацилгліцеролів у плазмі крові мишей. Це дослідження демонструє вибірковий вплив споживання препаратів броколі на ознаки розвитку ожиріння, проте свідчить про стимулювання антиоксидантних, протизапальних та детоксикаційних систем організму миші.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані результати показують, що споживання препаратів броколі вибірково впливає на фізіологічні параметри, обмін речовин та антиоксидантний захист у мишей при споживанні кафетерійної їжі. Споживання саме проростків броколі покращувало захисні параметри печінки мишей проти оксидативного стресу і запалення, які виникали при порушенні обміну речовин внаслідок споживання кафетерійної їжі. Отримані нами дані разом з літературними дозволяють запропонувати проростки броколі як перспективні препарати для зменшення негативної дії їжі західного типу на здоров'я тварин та людей.

Зміст і результати дисертаційного дослідження Іваночка М.В. можуть використовуватись: науково-педагогічними працівниками в процесі викладання дисциплін «Біологічно активні природні речовини», «Молекулярна нейробіологія» та ін.; здійснення наукових досліджень; підготовки підручників і навчальних посібників для ЗВО; розробки навчальних планів, програм та посібників; науковцями, викладачами ЗВО, аспірантами, студентами в професійній діяльності.

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 молекулярно-біологічні, біохімічні, гематологічні, фізіологічні методи досліджень, результати статистично опрацьовані. Кількість варіантів у дослідних групах 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 дисертанту 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, висновків та списку використаних джерел (292 найменування). Робота включає 216 сторінок. До складу дисертації входить 45 рисунків та 15 додатків.

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 7 підрозділів, що викладенні на 19 сторінках, де автор приводить і узагальнює дані іноземної літератури за тематикою дисертаційної роботи, а саме:

- 1.1 Загальна характеристика ожиріння
- 1.2 Кафетерійна їжа як причина ожиріння
- 1.3 Зв'язок ожиріння з оксидативним стресом
- 1.4 Захисна дія Nrf2 при оксидативному стресі
- 1.5 Роль Nrf2 в обміні речовин та розвитку ожиріння
- 1.6 Використання броколі та її сполуки сульфорафану проти метаболічних порушень та ожиріння
- 1.7 Використання мишей для дослідження метаболічних порушень

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, маси тканин та органів, індексу ожиріння.

Фізіологічні – для визначення кількості спожитої їжі та води, кількості спожитих калорій.

Гематологічні – для дослідження параметрів крові.

Біохімічні – для визначення активності ферментів та вмісту метаболітів у препаратах броколі та органах мишей.

Молекулярно-біологічні – для визначення активності ферментів в гелі та рівня відносної транскрипції іРНК генів.

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 Карпатського 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.

У Розділі 3 «Результати та їх обговорення» дисертант детально представив та проаналізував власно отримані експериментальні результати.

3.1 Вміст сполук та загальна антиоксидантна активність препаратів броколі

3.2 Вплив споживання паростків броколі та кафетерійної їжі на фізіологічні та біохімічні показники мишей

3.3 Вплив різного вмісту проростків броколі у кафетерійній їжі на фізіологічні та біохімічні показники мишей

3.4 Вплив споживання проростків броколі та кафетерійної їжі на фізіологічні та біохімічні показники мишей

У Розділі 4 «Узагальнення» проведено стислий аналіз результатів:

4.1 Вміст сполук та загальна антиоксидантна активність препаратів броколі

4.2 Вплив споживання паростків броколі та кафетерійної їжі на фізіологічні та біохімічні показники мишей

4.3 Вплив споживання різного вмісту проростків броколі у кафетерійній їжі на фізіологічні та біохімічні показники мишей

4.4 Вплив споживання проростків броколі та кафетерійної їжі на фізіологічні та біохімічні показники мишей

4.5 Узагальнення впливу споживання препаратів броколі на мишей

Ці розділи написані професійно, обґрунтовано подано осмислення власних результатів експериментальної роботи, добре ілюстровано схемами, що характеризує дисертанта 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 5 ключових висновків, які мають практичне спрямування стосовно впливу висококалорійної кафетерійної їжі та препаратів броколі на морфометричні, фізіологічні та

біохімічні показники, зокрема на стан антиоксидантної системи і енергетичного обміну.

Відсутність порушень академічної доброчесності. За результатами перевірки та аналізу матеріалів дисертаційної роботи Іваночка Мар'яна Васильовича «Вплив препаратів броколі на антиоксидантні та енергетичні параметри мишей при споживанні кафетерійної їжі», не виявлено ознак академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації та фальсифікації.

Відомості щодо проведення біоетичної експертизи дисертації.

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

Оцінка мови і стилю викладення матеріалу дисертації.

Мова і стиль викладення матеріалу дисертації Іваночка М.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 опубліковано 24 праці, з них п'ять статей, з них три у міжнародних наукових журналах, які індексуються наукометричною базою даних SCOPUS та віднесені до квінтилів Q2 і Q4 за рейтингом Scimago, дві статті опубліковані у науковому фаховому виданні категорії "Б" та 19 тез доповідей наукових конференцій.

Зауваження та запитання, які виникли при аналізі дисертаційної роботи.

1. У різних серіях досліджень тривалість експериментів становила 14, 16 та 20 тижнів. Доцільно було б обґрунтувати:

- чому саме обрано різну тривалість;
- чи можна порівнювати результати між серіями без часової стандартизації.

2. Не до кінця зрозуміло, чи проводився перерахунок калорійності раціонів з урахуванням додавання 2,5–10% проростків. Можливо, зниження споживання їжі могло вплинути на метаболічні показники незалежно від біохімічної дії броколі.

3. Дисертація показує корекцію печінкових показників без впливу на масу тіла. Виникає запитання: чи можна інтерпретувати ці зміни як ефект проти ожиріння, чи радше як гепатопротекторний?

4. Чи були оцінені можливі токсикологічні ризики, пов'язані з тривалим споживанням раціону, що містить 10% проростків, зокрема потенційні небажані ефекти, вплив на функціональний стан нирок, а також можливий вплив гойтрогенів, характерних для хрестоцвітих культур?

5. Відсутність ефекту щодо маси тіла потребує глибшої інтерпретації, оскільки це центральний критерій ожиріння.

6. У роботі заявлено роль Nrf2, однак не наведено прямих доказів ядерної транслокації або специфічної активації цього шляху.

7. Практичні рекомендації потребують обережності через відмінності між модельними організмами і людиною.

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

Висновок

Дисертаційна робота Іваночка Мар'яна Васильовича «Вплив препаратів броколі на антиоксидантні та енергетичні параметри мишей при споживанні кафетерійної їжі» 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 Іваночка Мар'яна Васильовича 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 рецензент:

доцент кафедри біохімії та біотехнології
Карпатського національного університету
імені Василя Стефаника
кандидат біологічних наук

Віктор ГУСАК