

ВИСНОВОК

**про наукову новизну, теоретичне та практичне значення
результатів дисертації**

**“Вплив амінокислот на енергетичне забезпечення ацинарних клітин
підшлункової залози” здобувача ступеня доктора філософії
з галузі знань 09 “Біологія” за спеціальністю 091 “Біологія”
Зуб Анастасії Миколаївни**

1. Актуальність теми дисертації

Гострий панкреатит – це гострий запальний стан підшлункової залози, що призводить до системного запалення, органної недостатності, інфекцій та смертності. Панкреатит є поширеною причиною госпіталізації та має високий рівень захворюваності (приблизно 34 випадки на 100 000 осіб щорічно в усьому світі). Гострий панкреатит є катаболічним станом, що супроводжується недостатнім харчуванням, яке швидко прогресує та асоціюється з поганим прогнозом. Все більше доказів свідчать про те, що раннє ентеральне або парентеральне харчування може допомогти зменшити мультисистемну органну недостатність, ускладнення панкреатичної інфекції та смертність.

Використання амінокислотних добавок може допомогти виправити негативний баланс азоту, зменшити запалення та покращити прогноз гострого панкреатиту. Однак високі дози деяких амінокислот можуть бути небезпечними для підшлункової залози. Основні амінокислоти у високій концентрації використовують для моделювання гострого панкреатиту у гризунів. Описані два клінічні випадки гострого панкреатиту зумовленого вживанням надмірної кількості аргініну. Крім цього, гострий панкреатит виникає як побічний ефект від лікування аспарагіназою, ферментом, що каталізує перетворення аспарагіну до аспарагінової кислоти.

Механізми впливу амінокислот на ацинарні клітини підшлункової залози недостатньо вивчені, але відомо, що ураження мітохондрій є головною ланкою патогенезу за амінокислот-індукованого панкреатиту. Дослідження ефектів амінокислот на енергозабезпечення та життєздатність панкреатичних ацинусів буде корисним для розуміння механізмів дії амінокислот у ацинарних клітинах і сприятиме вибору агентів для корекції патологічних станів підшлункової залози.

Тему дисертації затверджено на засіданні Вченої ради Львівського національного університету імені Івана Франка, протокол № 43/12 від 06.12.2017 року.

2. Зв'язок теми дисертації з державними програмами, науковими напрямами університету та кафедри

Дисертаційну роботу виконано на базі кафедри фізіології людини і тварин біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка в рамках держбюджетних тем «Ca²⁺-транспортувальні системи та регуляції клітинного дихання екзокринних залоз у нормі і за дії стресорних чинників» (2015–2017 рр., № держреєстрації 0115U003246), «Адаптаційний потенціал мітохондрій секреторних клітин підшлункової залози і печінки у нормі та за розвитку патології» (2018–2020 рр., № держреєстрації 0118U003604), «Функціональна оцінка мітохондрій: пайплайн для виявлення механізмів передпатологічних станів травних залоз» (2023–2025 рр., № держреєстрації 0123U101951), а також проєкту у межах робочого часу викладачів «Транскрипційна і функціональна адаптація мітохондрій підшлункової залози та печінки до дістарних чинників» (2021–2023 рр., № держреєстрації 0123U110302).

3. Особистий внесок здобувача в отриманні наукових результатів

Увесь обсяг експериментальних досліджень виконано автором самостійно, або за безпосередньої участі. Здобувачем самостійно здійснено підбір та опрацювання даних літератури. Автором виконано основну експериментальну частину дисертації і статистичну обробку результатів. Планування наукової роботи, аналіз та інтерпретацію одержаних результатів, підготовку рукописів статей виконано за участю наукового керівника і співавторів публікацій.

4. Достовірність та обґрунтованість отриманих результатів та запропонованих автором вирішень, висновків, рекомендацій

Одержані результати є науково-обґрунтованими і достовірними, повністю підтверджуються сучасними та взаємодоповнюючими експериментальними методами досліджень і узгоджуються з літературними даними.

У роботі використано такі методи дослідження: фізіологічні – моделювання гострого панкреатиту введенням L-аргініну *in vivo*, дослідження терапевтично впливу за введення натрій пірувату *in vivo*, біохімічні – кількісна оцінка фрагментації ДНК, оцінка активності амілази, фізико-хімічні – полярографічний метод дослідження швидкості поглинання кисню, флуоресцентна і електронна мікроскопія, гель-електрофорез ДНК, високоефективна рідинна хроматографія; кінетичні – кінетичний аналіз швидкості дихання від концентрації субстрату окиснення; статистичні – описова статистика, t-тест Стюдента, двофакторний дисперсійний аналіз ANOVA з повтореннями з подальшими *post-hoc* t-тестами коригованими за методом Голм-Бонферроні.

Наукові положення та висновки, сформульовані у дисертації, ґрунтуються саме на отриманих в ході роботи експериментальних даних. Результати досліджень, які наведені у дисертаційній роботі та опубліковані у наукових публікаціях багаторазово апробовані у вигляді доповідей на вітчизняних та міжнародних конференціях і симпозіумах, належать автору та є його науковим доробком.

5. Ступінь новизни основних результатів дисертації порівняно з відомими дослідженнями аналогічного характеру

Вперше показано вплив амінокислот на енергетичне забезпечення ацинарних клітин підшлункової залози. Досліджено зміну швидкості роз'єданого дихання за впливу амінокислот. Встановлено, що FCCP-стимульована швидкість дихання підвищується за окиснення глутамату, глутаміну, аланіну, лізину і аспартату. Доступність альтернативних субстратів окиснення зменшує вплив аланіну, лізину і аспартату, але не глутамінової кислоти чи глутаміну. Показано, що аспарагін, аргінін і гістидин не вступають у процеси мітохондріального дихання незалежно від наявності альтернативних субстратів окиснення.

Уперше встановлено, що глутамін у фізіологічній концентрації за стимуляції холецистокініном зменшує швидкість роз'єданого окиснення, але не впливає на життєздатність ацинарних клітин підшлункової залози. Встановлено, що в процесі окиснення глутаміну у фізіологічній концентрації не утворюється токсична кількість аміаку, навіть за стимуляції ацинарних клітин підшлункової залози секретогогами.

Уперше показано негативний вплив глутаміну у високій концентрації на життєздатність ацинарних клітин підшлункової залози за довготривалої інкубації. Зареєстровано збільшення площі клітин та інтенсифікацію мембранного блебінгу за впливу глутаміну. Встановлено захисний ефект аланіну та гістидину на панкреатичні ацинуси.

Уперше встановлено, що натрій піруват нормалізує рівень амінокислот у плазмі крові, але не впливає на морфологічну структуру підшлункової залози у щурів з гострим панкреатитом.

6. Перелік наукових праць, які відображають основні результати дисертації

6.1. Статті у наукових фахових виданнях України:

1. **Zub, A., Manko, O. V., & Manko, B. O.** (2021). The effects of ammonia and glutamine on mitochondrial respiration of rat pancreatic acinar cells. *Visnyk of Lviv University. Biological Series*, (84), 105–112. <https://doi.org/10.30970/vlubs.2021.84.10> (Здобувач самостійно виконала)

всю експериментальну частину досліджень, статистично опрацювала отримані дані, взяла активну участь в аналізі результатів досліджень, написанні й оформленні статті).

6.2. Публікації у наукових періодичних виданнях інших держав, що індексуються у наукометричних базах Scopus та/або Web of Science Core Collection:

1. Manko, B.O., Bilonoha, O.O., Voloshyn, D.M., **Zub, A.M.**, Ivasechko, I.I., & Manko, V.V. (2021). Pyruvate and glutamine define the effects of cholecystokinin and ethanol on mitochondrial oxidation, necrosis, and morphology of rat pancreatic acini. *Pancreas*, 50(7). <https://doi.org/10.1097/MPA.0000000000001864> (квартиль Q2). (Здобувач виконала частину експериментальну досліджень, взяла активну участь в аналізі результатів досліджень, написанні й оформленні статті).
2. **Zub, A.M.**, Ostapiv, R.D., Manko, O.V., & Manko, B.O. (2023). Sodium pyruvate improves the plasma amino acid profile in rats with L-arginine-induced acute pancreatitis. *Amino Acids*. <https://doi.org/10.1007/s00726-023-03324-y> (квартиль Q2). (Здобувач виконала експериментальну частину досліджень, взяла активну участь в аналізі результатів досліджень, написанні й оформленні статті).

7. Апробація основних результатів дослідження на конференціях, симпозиумах, семінарах тощо

1. Fedashko V., **Yakubovska (Zub) A.**, Ivasechko I., Manko B.O., Manko V.V. (2019). Effects of hyperstimulation by cholecystokinin on viability of rat pancreatic acinar cells. Youth and Progress of Biology: XV International Scientific Conference for Students and PhD Students, dedicated to the 135th anniversary of J. Parnas. Lviv, Ukraine, 141.
2. Hadych A., **Yakubovska (Zub) A.**, Manko B.O., Manko V.V. (2019). Effects of glutamine and NH₄Cl on mitochondrial respiration of rat pancreatic acinar cells. Youth and Progress of Biology: XV International Scientific Conference for Students and PhD Students, dedicated to the 135th anniversary of J. Parnas. Lviv, Ukraine, 141–142.
3. **Якубовська (Зуб), А.**, Манько, Б.О., Манько, В.В. (2019). Вплив аргініну і лізину на адаптаційну здатність мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози щурів. XX з'їзд Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвячений 95-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка. Київ, Україна, 32.
4. **Зуб, А.**, Манько, Б.О., Манько, В.В. (2019). Залучення амінокислот у процеси мітохондріального дихання впливає на життєздатність ацинарних клітин

підшлункової залози щурів. Матеріали чергового VIII з'їзду Українського біофізичного товариства. Київ, Україна, 33.

5. Chipak, S., **Zub, A.**, Ostapiv, R., Manko, B.O., & Manko V.V. (2020). Influence of sodium pyruvate on pancreatic morphology and amino acid blood levels in rats with arginine-induced acute pancreatitis. Youth and Progress of Biology: XVI International Scientific Conference for Students and PhD Students, dedicated to the 75th anniversary of the faculty of biology of Ivan Franko National University of Lviv and 90th anniversary from the birthday of prof. M.P. Derkach. Lviv, Ukraine, 182–183.
6. Shostak, M., **Zub, A.**, Manko, B.O., Manko, V.V. (2020). Effect of high concentrations of amino acids on apoptosis and necrosis in rat pancreatic acinar cells. XVI International Scientific Conference for Students and PhD Students, dedicated to the 75th anniversary of the faculty of biology of Ivan Franko national university of Lviv and 90th anniversary from the birthday of prof. M.P. Derkach. Lviv, Ukraine, 200.
7. **Zub, A.**, Manko, B.O., Manko, V.V. (2022). Viability of pancreatic acinar cells under the influence of amino acids in high concentration. Youth and Progress of Biology: XVIII International Scientific Conference for Students and PhD Students dedicated to the 195th anniversary from the birthday of Julius Planer. Lviv, Ukraine, 164–165.

8. Наукове значення виконаного дослідження із зазначенням можливих наукових галузей та розділів програм навчальних курсів, де можуть бути застосовані отримані результати

Дисертаційна робота описує механізми впливу амінокислот на мітохондріальні процеси і життєздатність ацинарних клітин підшлункової залози. Узагальнення експериментальної роботи можуть бути впровадженими у навчальний процес у Львівському національному університеті імені Івана Франка при викладанні загального курсу «Фізіологія людини і тварин», а також спецкурсів «Основи біоенергетики», «Системна фізіологія», «Основи здорового харчування» і «Основи нутриціології». Методичні та експериментальні розробки використовуються студентами під час виконання курсових та дипломних робіт. Результати досліджень можуть бути використані для підготовки спеціалістів медико-біологічного профілю у навчальних закладах вищої освіти України.

9. Практична цінність результатів дослідження із зазначенням конкретного підприємства або галузі, де вони можуть бути застосовані

Основні положення дисертаційної роботи дозволяють зрозуміти механізми впливу амінокислот на мітохондріальні процеси ацинарних клітин підшлункової залози. Результати досліджень можуть бути використані у у

біології та медицині для розробки засобів запобігання гострого панкреатиту чи для модуляції функціонування панкреатичних ацинусів за різних фізіологічних станів. Одержані результати є важливими не лише для розуміння ролі амінокислот у функціонуванні клітин підшлункової залози, а й для передбачення ефекту інших енергетичних субстратів.

10. Оцінка структури дисертації, її мови та стилю викладення

Дисертація за структурою, мовою та стилем викладення відповідає вимогам МОН України.

Дисертацію заслухано та обговорено на науковому семінарі кафедри фізіології людини і тварин біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка (протокол № 4 від 13 жовтня 2023 року). У ході обговорення дисертації суттєвих зауважень, які стосуються суті роботи, не було висунуто.

В цілому дисертаційна робота Зуб Анастасії Миколаївни “Вплив амінокислот на енергетичне забезпечення ацинарних клітин підшлункової залози” є завершеною науковою працею в межах визначених завдань, в якій досліджено роль амінокислот у забезпеченні мітохондріального дихання і життєздатності ацинарних клітин підшлункової залози.

Основні результати наукового дослідження опубліковані у 3 наукових статтях серед яких, 2 статті у міжнародних виданнях, які входять до наукометричних баз Scopus та Web of Science (квартиль Q2) та 1 стаття у фаховому виданні України категорії Б; та 7 тез доповідей на міжнародних і вітчизняних наукових конференціях та симпозіумах.

На основі вищесказаного можна зробити такі висновки щодо поданої дисертаційної роботи:

1. За актуальністю обраної теми, обсягом, достовірністю та рівнем апробації отриманих результатів, науковою новизною, обґрунтованістю висновків, практичною цінністю дисертаційна робота “Вплив амінокислот на енергетичне забезпечення ацинарних клітин підшлункової залози” відповідає вимогам наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 р. “Про затвердження Вимог до оформлення дисертації” та п. 6 “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 від 12 січня 2022 року № 44.

2. Дисертація відповідає спеціальності 091 “Біологія” (галузь знань 09 “Біологія”).

3. Наукові праці Зуб Анастасії Миколаївни, опубліковані за результатами дисертаційної роботи, за кількістю та якістю відповідають п. 8-9 “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 від 12 січня 2022 року № 44.

4. Дисертація “Вплив амінокислот на енергетичне забезпечення ацинарних клітин підшлункової залози” Зуб Анастасії Миколаївни рекомендується для подання до розгляду та захисту у спеціалізованій вченій раді.

Головуюча на засіданні фахового семінару,
доктор біологічних наук,
професор кафедри фізіології людини і тварин,
професор



Руслана ІСКРА

13.10.2023 року

Підпис професора Руслани ІСКРИ засвідчую.

Вчений секретар
Львівського національного
університету імені Івана Франка,
доцент



Ольга ГРАБОВЕЦЬКА