

До разової спеціалізованої ради
ДФ 35.051.131
Львівського національного університету
імені Івана Франка
м. Львів, вул. Університетська, 1

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу Зуб Анастасії Миколаївни
за темою: “Вплив амінокислот на енергетичне забезпечення
ацинарних клітин підшлункової залози”, яка представлена
на здобуття ступеня доктора філософії
з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія

Актуальність теми дисертації. Актуальність дисертаційної роботи Зуб А.М. обґрунтована необхідністю вивчення механізмів дії амінокислот на біоенергетичні процеси в ацинарних клітинах підшлункової залози, як за фізіологічних, так і патологічних умов.

Обмін амінокислот має важливе значення у патогенезі гострого панкреатиту. Зокрема, порушення їх транспортування або метаболізму пов'язані із підвищеним ризиком розвитку цього захворювання. Контроль вмісту амінокислот у раціоні за гострого панкреатиту відіграє важливу роль у запобіганні недоїданню, нормалізації балансу азоту та зниженні частоти інфекційних ускладнень і смертності. У наш час активно досліджують вплив високоенергетичної дієти на одужання від гострого панкреатиту. Зокрема, використання амінокислотних добавок може бути досить хорошим підходом для постачання потрібної енергії та метаболітів до ацинарних клітин підшлункової залози. Однак потенційні негативні наслідки введення амінокислот можуть нівелювати їхню користь, оскільки деякі амінокислоти у великих кількостях для підшлункової залози є отруйними. Механізми токсичного впливу амінокислот на ацинарні клітини цього органа повністю не вивчені, але саме пошкодження мітохондрій, найбільш вірогідно, є ключовою подією за розвитку амінокислот-індукованого гострого панкреатиту. Процеси метаболізму амінокислот у мітохондріях описані для клітин печінки, м'язів та інших органів, але мало вивчені в ацинарних клітинах підшлункової залози. Тому вибір теми дослідження цілком виправданий, воно має важливе теоретичне і практичне значення, а актуальність роботи не викликає жодного сумніву.

Зв'язок дисертаційної роботи з державними чи галузевими науковими програмами. Дисертаційну роботу виконано на кафедрі фізіології людини і тварин біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка у рамках держбюджетних науково-дослідних тем: “Ca²⁺-транспортувальні системи та регуляція 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 проекту у межах робочого часу викладачів “Транскрипційна і функціональна адаптація мітохондрій підшлункової залози та печінки до дієтарних чинників” (2021–2023 рр., № держреєстрації 0123U110302).

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Дисертаційна робота Зуб А.М. виконана на високому науково-методичному рівні з використанням сучасних методів експериментальних досліджень – фізіологічних, біохімічних, фізико-хімічних, кінетичних, статистичних. Основні наукові положення та висновки, сформульовані у дисертації, логічно випливають із одержаних результатів і ґрунтуються на їх глибокому аналізі й узагальненні. Вони відповідають поставленій меті та завданням дослідження.

Кожен експеримент проводили принаймні з трьома суспензіями ізольованих панкреатичних ацинусів, отриманих від різних тварин. Отримані результати досліджень опрацьовували статистично у програмі Microsoft Office Excel та за допомогою програмного забезпечення OriginPro 2018. Достовірність відмінності між групами для парних експериментів *in vitro* (коли клітини в кожній експериментальній групі отримані від однієї тварини) визначали за допомогою двофакторного аналізу ANOVA з повторюваними вимірюваннями з подальшими *post-hoc* t-тестами з корекцією Голм-Бонферроні, у разі значної взаємодії між факторами або в межах одного фактора з більш, ніж двома рівнями, коли взаємодія не була доведена.

Основні наукові результати, одержані автором, та їхня новизна. Дисертантка отримала значний обсяг наукових результатів, які характеризуються новизною.

Уперше показано вплив амінокислот на енергетичне забезпечення ацинарних клітин підшлункової залози. Встановлено, що FCCP-стимульована швидкість дихання підвищується за окиснення глутамату, глутаміну, аланіну, лізину і аспартату.

Уперше встановлено, що глутамін у фізіологічній концентрації за стимуляції ХЦК зменшує швидкість роз’єданого окиснення, але не впливає на життєздатність ацинарних клітин підшлункової залози.

Уперше показано негативний вплив глутаміну у високій концентрації (20 ммоль/л) на життєздатність ацинарних клітин підшлункової залози за довготривалої інкубації.

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

Теоретичне та практичне значення отриманих результатів дослідження. Теоретична цінність наукових результатів представленої роботи полягає у з’ясуванні механізмів впливу амінокислот на біоенергетичні процеси ацинарних клітин підшлункової залози. Дані досліджень можуть бути

використані для розробки засобів запобігання гострому 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.

Отримані дисертанткою результати досліджень будуть впроваджені у навчальний процес і наукову роботу кафедри фізіології людини і тварин, а також біофізики та біоінформатики біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка. Методичні й експериментальні розробки будуть використовувати студенти, аспіранти та наукові співробітники для подальших досліджень.

Апробація результатів дисертації, повнота викладу основних положень, висновків і рекомендацій. Основні наукові результати, положення та висновки дисертації пройшли апробацію на міжнародних та всеукраїнських наукових конференціях, а також на наукових семінарах кафедри фізіології людини і тварин та на щорічних звітних наукових конференціях співробітників біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка. За результатами дисертаційного дослідження опубліковано 2 статті у фахових наукових виданнях, які належать до міжнародної наукометричної бази Scopus, 1 стаття у фаховому виданні України, а також 7 тез доповідей на міжнародних і вітчизняних наукових конференціях.

Сукупність усіх публікацій відображає викладені у дисертації результати дослідження, що відповідає вимогам п. 8, 9 вимог до присудження ступеня доктора філософії “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 р. № 44.

Відомості про дотримання академічної доброчесності. У наукових публікаціях і дисертаційній роботі Зуб Анастасії Миколаївни на тему “Вплив амінокислот на енергетичне забезпечення ацинарних клітин підшлункової залози” не виявлено ознак академічного плагіату, фальсифікації чи інших порушень, що могли би поставити під сумнів самостійність виконання дисертанткою представленого наукового дослідження. Текст є оригінальним, усі цитати правильно позначені та вказані у списку використаних джерел літератури.

Структура та зміст дисертації. Дисертаційна робота відповідає вимогам щодо оформлення дисертацій, затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 р. № 40.

Дисертацію викладено на 146 сторінках українською мовою, основна частина складається з 91 сторінки, проілюстрована 27 рисунками та 2 таблицями. Робота містить анотацію, вступ, огляд літератури, матеріали та методи досліджень, результати досліджень та їх обговорення, аналіз та узагальнення результатів досліджень, висновки, список використаної літератури та додаток. До списку джерел літератури входять 210 найменувань, із них 206 – латиницею.

Дисертаційна робота розпочинається з анотації, ключових слів і списку публікацій за темою дисертації, які написані державною й англійською мовами. В анотації стисло представлені основні результати досліджень зі зазначенням наукової новизни та практичного значення.

У **“Вступі”** (с. 18–22) обґрунтовано актуальність обраної теми, сформульовано мету та завдання дослідження, розкрито наукову новизну та практичне значення отриманих результатів, описані методи досліджень, висвітлено особистий внесок здобувачки й апробацію результатів, їх публікацію, обсяг і структуру дисертації.

У першому розділі дисертації **“Огляд літератури”** (с. 23–39) дисертантка ґрунтовно проаналізувала джерела літератури, які характеризують особливості функціонування ацинарних клітин підшлункової залози, а саме: екзокринну функцію, процеси мітохондріального дихання та роль амінокислот у процесах життєдіяльності цього органа. Авторкою проведений глибокий аналіз даних літератури щодо мітохондріальних механізмів розвитку гострого панкреатиту та метаболізму амінокислот.

Наукова оцінка виконаного аналізу літератури дає усі підстави вважати, що Зуб А.М. відмінно володіє сучасною науковою інформацією та здобула достатній обсяг знань із напрямку досліджень за темою дисертації.

У другому розділі **“Матеріали та методи дослідження”** (с. 40–49) достатньо детально представлені методи досліджень, які відповідають меті та завданням дисертаційної роботи. Дисертанткою описані методи, які були використані у дослідженнях, а саме: моделювання L-аргінін-індукованого панкреатиту у щурів; ізолювання панкреатичних ацинусів; полярографічне вимірювання швидкості споживання кисню клітинами за допомогою установки, зібраної на базі кисневого монітора Biological oxygen monitor YSI 5300, електрода Кларка, закритої скляної термостатованої камери і механічної мішалки; кінетичний аналіз дихання панкреатитів; флуоресцентна мікроскопія за допомогою мікроскопа IX73 і камери DP-74 (Olympus) для оцінки рівня життєздатності клітин; виділення ДНК та оцінка чистоти зразків із використанням спектрофотометра DeNovix DS-11+; фотометрія за допомогою планшет-рідера ВіоТек для кількісної оцінки фрагментації ДНК; електрофорез; аналіз амінокислот з використанням рідинного хроматографа Waters; виготовлення гістологічних препаратів; електронна мікроскопія за допомогою електронного трансмісійного мікроскопа TEM–100; оцінка активності амілази турбідиметричним кінетичним методом; а також статистичний аналіз отриманих результатів.

У третьому розділі **“Результати досліджень та їх обговорення”** (с. 50–103) представлені результати досліджень впливу амінокислот на дихання панкреатичних ацинусів *in vitro*. Досліджено та описано ефект глутаміну на ацинарні клітини за стимуляції секреторними агентами – холецистокініном чи ацетилхоліном. Визначено рівень життєздатності панкреатичних ацинусів за різної тривалості впливу амінокислот у високій концентрації. Вивчено вплив натрій пірувату на гострий L-аргінін-індукований панкреатит.

Отримані результати досліджень висвітлено у таблицях і рисунках.

Четвертий розділ “Узагальнення” (с. 104–111) містить аналіз одержаних результатів власних досліджень з обговоренням виявлених змін основних досліджуваних показників. У цьому розділі дисертантка ставить проблемні запитання, на які дає науково обґрунтовані відповіді, що підтверджуються отриманими результатами. Зуб А.М. робить узагальнюючий висновок, що амінокислоти впливають на енергетичні процеси ацинарних клітин підшлункової залози як за фізіологічних, так і за патологічних умов, а використання окремих амінокислот та інших субстратів окиснення може бути корисним для корекції мітохондріальної дисфункції за гострого панкреатиту.

Оцінюючи матеріали четвертого розділу, варто відзначити наукову глибину проведеного дисертанткою аналізу отриманих даних. На основі вивчення матеріалів цього розділу, зокрема, можна стверджувати, що викладені у дисертаційній роботі результати достатньо науково опрацьовані та співставлені з даними літератури. Проведений аналіз результатів власних досліджень та їх узагальнення у четвертому розділі дало змогу авторці зробити науково-обґрунтовані висновки, які випливають із представленого в дисертації фактичного матеріалу.

Чотири **висновки** (с. 112–113), які наведені у роботі, узагальнюють і достатньо повно висвітлюють одержані результати й основні положення дисертації.

Список використаної літератури (с. 114–140) оформлений за встановленим стандартом, містить 210 публікацій.

У Додатку А (с. 141–143) представлено список публікацій здобувачки та відомості про апробацію результатів дисертації.

Додаток Б (с. 144–146) містить фотографічні зображення панкреатичних ацинусів за впливу амінокислот різної тривалості, отримані за допомогою світлової та флуоресцентної мікроскопії.

Зауваження до дисертації. Детальний розгляд дисертаційної роботи Зуб А.М. свідчить про те, що цей науковий проєкт є підсумком завершених досліджень, які під час їх виконання були всебічно аналізовані авторкою. Основні положення дисертації науково аргументовані та повною мірою відображені у наукових публікаціях. Висловлюючи позитивну оцінку дисертаційної роботи у цілому, варто зробити окремі зауваження, які виникли у процесі її аналізу:

1. У підрозділі 1.4. “Роль амінокислот у функціонуванні підшлункової залози”, на мою думку, варто було описати вплив амінокислот також і на ендокринну складову органа, а не лише на його ацинарні клітини. Або ж уточнити у назві цього пункту огляду літератури, що у ньому йдеться лише про екзокринну частину підшлункової залози.

2. У тексті дисертації зустрічаються деякі технічні помилки та неточності.

Однак, виявлені недоліки та упущення суттєво не впливають на науковий і методичний рівень дисертаційної роботи, а тому не зменшують теоретичного і практичного значення одержаних результатів.

Висновки про відповідність дисертації встановленим вимогам. Дисертаційна робота Зуб Анастасії Миколаївни на тему “Вплив амінокислот на

енергетичне забезпечення ацинарних клітин підшлункової залози” є завершеною науковою працею, яка за актуальністю проблеми, методичними підходами, обсягом, ґрунтовністю аналізу й інтерпретацією отриманих даних, повнотою викладу принципів наукових положень, науково-теоретичним і практичним значенням та кількістю публікацій повністю відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 р. «Порядок присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», а дисертантка, Зуб Анастасія Миколаївна, з урахуванням виконання у повному обсязі освітньої складової освітньо-наукової програми й індивідуального плану наукової роботи, заслуговує присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Рецензент:

Кандидат біологічних наук, доцент,
доцент кафедри фізіології людини і тварин
Львівського національного університету
імені Івана Франка

Володимир МЕРЛАВСЬКИЙ