

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

## **ВІДГУК**

офіційного опонента, доктора біологічних наук, старшого наукового співробітника, провідного наукового співробітника відділу біохімії м'язів Інституту біохімії ім.О.В.Палладіна НАН України

**Бабіч Лідії Григорівни**

на дисертацію **Зуб Анастасії Миколаївни**

на тему «ВПЛИВ АМІНОКИСЛОТ НА ЕНЕРГЕТИЧНЕ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ АЦИНАРНИХ КЛІТИН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ»,

подану до захисту на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія»

**Актуальність теми дисертації.** Підшлункова залоза виконує надважливі функції в організмі людини, вона належить до двох систем, ендокринної та травної. Гострі панкреатити – це запальні захворювання підшлункової залози, які супроводжуються порушенням відтоку її секрету з подальшою руйнацією самої залози. Панкреатит одне із найпоширеніших захворювань травної системи. Маємо зазначити, що за гострого панкреатиту суттєво змінюється обмін амінокислот. Проте цей аспект проблеми сьогодні вивчений недостатньо. Отже, тема дисертаційної роботи є актуальною. Мета та завдання роботи чітко сформульовані.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційну роботу виконано на базі кафедри фізіології людини і тварин біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка в рамках держбюджетних тем «Ca<sup>2+</sup>-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 проекту у межах робочого часу

викладачів «Транскрипційна і функціональна адаптація мітохондрій підшлункової залози та печінки до дістарних чинників» (2021–2023 рр., № держреєстрації 0123U110302).

**Структура роботи.** Дисертаційна робота А.М. Зуб містить такі розділи: «Вступ», «Огляд літератури», «Матеріали та методи досліджень», «Результати досліджень та їх обговорення», «Узагальнення», «Висновки», «Список використаних джерел» та «Додатки». Дисертацію викладено на 146 сторінках друкованого тексту і проілюстровано 23 рисунками та 2 таблицями. Список літератури сформовано з 210 найменування.

**Вступ.** У цьому розділі Анастасія Миколаївна обґрунтувала актуальність теми, навела мету і завдання дослідження, підкреслила наукову новизну отриманих результатів, а також зазначила об'єкт, предмет та методи дослідження, вказала публікації за результатами дисертаційного дослідження.

**Огляд літератури.** Цей розділ складається з чотирьох підрозділів. У першому підрозділі («Екзокринна функція підшлункової залози») проаналізовано сучасний стан вивчення зовнішньосекреторної функції підшлункової залози. Зазначено, що екзокринна частина складає понад 95 % маси підшлункової залози функція якої полягає у виділенні в дванадцятипалу кишку панкреатичного соку, який містить травні ферменти. Другий підрозділ огляду літератури («Процеси мітохондріального дихання») присвячено питанням забезпечення ацинарних клітин енергією. Зокрема аналізуються етапи циклу трикарбонових кислот та функціонування дихального ланцюга. У третьому підрозділі («Особливості функціонування мітохондрій у ацинарних клітинах підшлункової залози») авторка зосередила увагу на питаннях особливості функціонування мітохондрій у ацинарних клітинах підшлункової залози. Зокрема доводиться, що мітохондріальна дисфункція є одними з основних механізмів пошкодження ацинарних клітин підшлункової залози. У четвертому підрозділі («Роль амінокислот у функціонуванні підшлункової залози») авторка аналізує метаболізм амінокислот, транспорт амінокислот у ацинарні клітини підшлункової залози та який ефект спричиняють амінокислоти на клітини цієї залози.

**Матеріали та методи дослідження.** Цей розділ містить опис методів дослідження, зокрема, метод отримання панкреатичних ацинусів. Для дослідження швидкості дихання клітин авторка застосовувала полярографічний метод. Для визначення кінетичних параметрів застосовуються методи кінетичного аналізу. Для дослідження ефекту холецистокініну на морфологію і життєздатність панкреатичних ацинусів

використовувалась флуоресцентна мікроскопія. Для оцінки стану ДНК спочатку отримували препарат ДНК з клітин підшлункової залози та проводили кількісну оцінку фрагментації ДНК. Проводився хроматографічний аналіз амінокислот плазми крові, гістологічне дослідження підшлункової залози та електронна мікроскопія цієї залози. Альфа-амілазну активність визначали турбідиметричним методом. Отримані результати досліджень опрацьовували статистично. Отже, для вирішення поставлених завдань було застосовано низку найбільш сучасних методів.

**Результати досліджень та їх обговорення.** У цьому розділі авторка наводить власні дані експериментальних досліджень. У першому підрозділі наводяться результати дослідження впливу амінокислот на дихання панкреатичних ацинусів *in vitro*. Показано, зокрема, що глютамінова кислота істотно не впливала на базальну швидкість дихання, але мала значний дозозалежний ефект на роз'єднане дихання ізольованих панкреатичних ацинусів. Глутамін сприяв збільшенню швидкості роз'єданого дихання ацинарних клітин підшлункової залози. Доведено, що аланін окиснюється у ацинарних клітинах підшлункової залози. Встановлено, що лізин на тлі ендогенних субстратів збільшує швидкість дихання ацинарних клітин підшлункової залози, стимульовану FCCP у концентрації 1,5 і 2 мкмоль/л. Аспарагінова кислота підвищує окисну здатність мітохондрій за відсутності у середовищі інкубації альтернативних субстратів окиснення. За інкубації панкреатичних ацинусів з аспарагіном не виявлені зміни швидкості базального та FCCP-роз'єданого дихання. Аргінін на тлі глюкози статистично вірогідно не впливав на швидкість поглинання кисню мітохондріями панкреатичних ацинусів порівняно з контролем. Кінетичний аналіз не виявив залежності швидкості базального і роз'єданого дихання від концентрації гістидину.

У другому підрозділі представлені результати досліджень ефекту глютаміну на ацинарні клітини за стимуляції секреторними агентами. Було встановлено, що базальна і максимальна швидкість дихання панкреатичних ацинусів зростала під дією холецистокініну лише за окиснення пірувату.

У третьому підрозділі представлені результати оцінки життєздатності панкреатичних ацинусів за впливу амінокислот у високій концентрації. Встановлено, ацинарні клітини за умов короткотривалої інкубації *in vitro* гинуть здебільшого шляхом некрозу. Утворення блебів спостерігається за дії аспартату і глютаміну. За умов довготривалої інкубації аргінін, лізин і глютамін

спричиняють некротичну загибель панкреатичних ацинусів, тоді як аланін і гістидин не змінюють життєздатність ацинарних клітин підшлункової залози.

Маю відзначити, що кожний підрозділ експериментальної частини роботи завершується транзитними висновками та посиланнями на власні публікації. Це покращує сприйняття роботи в цілому.

**Узагальнення.** Цей розділ містить узагальнення та обговорення отриманих авторкою результатів. На початку розділу авторка наводить підсумкову таблицю впливу амінокислот на частоту роз'єданого дихання, яка є основою для створення узагальнюючої схеми шляхів окиснення амінокислот у мітохондріях та їхнього впливу на життєздатність ацинарних клітин підшлункової залози. Загальний висновок дослідження – 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.

**Висновки** дисертаційної роботи відповідають отриманим результатам.

**Обґрунтованість та достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Дисертаційна робота Зуб Анастасії Миколаївни на тему «ВПЛИВ АМІНОКИСЛОТ НА ЕНЕРГЕТИЧНЕ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ АЦИНАРНИХ КЛІТИН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ», є закінченою кваліфікаційною роботою, в якій отримано нові наукові результати, що мають теоретичну і практичну значимість. Дослідження проведено з залученням значної кількості сучасних методів біохімії та молекулярної біології. Проведено ретельний статистичний аналіз отриманих результатів. Висновки роботи відповідають отриманим результатам.

**Наукова новизна одержаних результатів.** А.М. Зуб вперше показала вплив амінокислот на енергетичне забезпечення ацинарних клітин підшлункової залози. Встановлено, що швидкість роз'єданого дихання підвищується за окиснення глутамату, глутаміну, аланіну, лізину і аспартату. 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 холецистокінін зменшує швидкість роз'єданого окиснення, але не впливає на життєздатність ацинарних клітин підшлункової залози. Уперше показано негативний вплив глутаміну у високій концентрації на життєздатність ацинарних клітин підшлункової залози за довготривалої інкубації.

**Практичне значення роботи.** Одержані при виконанні роботи експериментальні результати мають, перш за все, теоретичне значення, адже авторка ретельно вивчила вплив амінокислот на енергетичні процеси мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози. Отримані результати можуть також стати у нагоді за розробки засобів запобігання гострому панкреатиту чи для модуляції функціонування панкреатичних ацинусів за різних фізіологічних станів. Результати досліджень можуть бути використані для підготовки спеціалістів медико-біологічного профілю у навчальних закладах вищої освіти України.

**Повнота викладу результатів дисертації в опублікованих працях.** Дисертаційна робота Зуб Анастасії Миколаївни на тему «ВПЛИВ АМІНОКИСЛОТ НА ЕНЕРГЕТИЧНЕ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ АЦИНАРНИХ КЛІТИН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ» виконана на високому методичному рівні. Зроблені висновки є обґрунтованими, мають теоретичне і практичне значення. Результати дисертаційного дослідження повністю відображені у 3 статтях (дві статті у міжнародних фахових виданнях з квантилями Q 2 та одна стаття в українському фаховому журналі) і 7 тез доповідей у матеріалах міжнародних і вітчизняних наукових конференцій. Результати роботи також доповідались на щорічних звітних наукових конференціях працівників біологічного факультету та наукових семінарах кафедри фізіології людини і тварин біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка.

**Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності.** У дисертації Зуб Анастасії Миколаївни на тему «ВПЛИВ АМІНОКИСЛОТ НА ЕНЕРГЕТИЧНЕ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ АЦИНАРНИХ КЛІТИН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ» не виявлено ознак академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації та інших порушень, що могли б поставити під сумнів самостійний характер виконання дисертаційного дослідження.

**Дискусійні положення та зауваження щодо змісту та оформлення дисертації.**

1. В огляді літератури Анастасія Миколаївна пише: «Раніше було показано, що ізольовані мітохондрії підшлункової залози більш чутливі до іонів  $\text{Ca}^{2+}$ , ніж мітохондрії печінки». Що означає «більш чутливі до іонів  $\text{Ca}^{2+}$ »?

2. Як Ви можете пояснити відсутність впливу глютамінової кислоти на швидкість базального дихання та наявність такого впливу на швидкість роз'єданого дихання?

3. Як Ви можете пояснити залежність роз'єданого дихання від концентрації протонофора FССР?

4. Як Ви можете пояснити відсутність зміни швидкості роз'єданого дихання за присутності глюкози на рис. 3.1.Б та її наявність на рис. 3.2.Б та 3.3.Б?

5. Чи проводили Ви досліди з протонофором FССР на пермеабілізованих ацинарних клітинах підшлункової залози?

Наведені вище запитання не знижують наукової цінності дисертаційної роботи, оскільки вони стосуються переважно інтерпретації результатів і не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи.

**Загальний висновок про відповідність роботи встановленим вимогам.** Наведений вище аналіз дисертаційної роботи є підставою для висновку про те, що дисертаційна робота Зуб Анастасії Миколаївни на тему «ВПЛИВ АМІНОКИСЛОТ НА ЕНЕРГЕТИЧНЕ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ АЦИНАРНИХ КЛІТИН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ» відповідає галузі знань 09 Біологія, спеціальності 091 Біологія та сучасним вимогам до оформлення дисертацій, затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. № 40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертацій», а також затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12.01.2022 р. № 44 «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», а її авторка – Зуб Анастасія Миколаївна – заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

**Офіційний опонент –**

доктор біологічних наук,  
старший науковий співробітник,  
провідний науковий співробітник  
відділу біохімії м'язів  
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна  
НАН України

**Лідія БАБІЧ**