

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, професора,  
члена-кореспондента НАН України, завідувача відділу регуляції проліферації  
клітин і апоптозу Інституту біології клітини НАН України

**Стойки Ростислава Стефановича**

на дисертацію **Зуб Анастасії Миколаївни** на тему

**«Вплив амінокислот на енергетичне забезпечення ацинарних клітин  
підшлункової залози»,**

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

**Актуальність теми дисертації.** Гострий панкреатит (ГП) – це захворювання, яке супроводжується запальним станом і пов'язане із передчасною активацією про-ензимів (в основному, трипсину) підшлункової залози і пошкодженням суміжних тканин, а також віддалених органів. За відсутності належного лікування ГП призводить до значної смертності (10-30%). Встановлено, що модифікація харчування може бути корисною для пацієнтів з ГП. Тому дослідження впливу амінокислот на енергетичне забезпечення панкреатичних ацинусів корисне для розуміння механізмів дії амінокислот в ацинарних клітинах і сприятиме вибору амінокислот чи інших субстратів окиснення для корекції патологічних станів підшлункової залози.

**Мета** дисертаційної роботи Зуб А.М. є актуальною, а **Завдання** дослідження безпосередньо націлені на досягнення поставленої мети.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційну роботу виконано на кафедрі 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 проєкту у межах робочого часу викладачів «Транскрипційна і функціональна адаптація мітохондрій підшлункової залози та печінки до дієтарних чинників» (2021–2023 рр., № держреєстрації 0123U110302).

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота Зуб А.М. написана за традиційною схемою і містить такі розділи: «Вступ», «Огляд літератури», «Матеріали та методи досліджень», «Результати досліджень та їхнє обговорення», «Узагальнення», «Висновки», «Список використаної літератури» та «Додатки». Дисертацію викладено на 146 сторінках друкованого тексту і проілюстровано 27 рисунками та 2 таблицями. Список літератури сформовано з 210 найменувань.

**Вступ.** У цьому розділі описано актуальність теми, мету і завдання дослідження; розкрито об'єкт, предмет і методи дослідження; висвітлено зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами; описано наукову новизну і практичне значення роботи; зазначено власний внесок авторки, а також вказано публікації та апробацію результатів дисертаційного дослідження.

**Огляд літератури.** Авторкою охарактеризовано екзокринну функцію підшлункової залози й описано особливості мітохондріального дихання. Детально висвітлено значення мітохондрій для панкреатичних ацинусів. У цьому розділі також проаналізовано роль амінокислот у функціонуванні підшлункової залози, зокрема наведено дані про метаболізм, транспорт і біологічні ефекти амінокислот. Аналіз джерел літератури дав змогу зробити висновок про актуальність вивчення впливу амінокислот на енергетичне забезпечення ацинарних клітин підшлункової залози.

**Матеріали та методи дослідження.** Розкрито умови утримання та основні засади поводження з лабораторними тваринами. Описано схему досліду з вивчення ефекту натрію пірувату у тварин з гострим L-аргінін-індукованим панкреатитом. Наведено методику ізолювання панкреатичних ацинусів. Розкрито склад використаних розчинів. Описано методику полярографічного вимірювання швидкості споживання кисню і формули для розрахунку кінетичних параметрів дихання. Представлено методики флуоресцентної мікроскопії, ізолювання ДНК, кількісної оцінки фрагментації ДНК та її електрофорезу. Наведено методику хроматографічного аналізу рівня амінокислот, гістології, електронної мікроскопії

і оцінки активності амілази. Також описано статистичну обробку результатів із використанням програмного забезпечення Microsoft Office Excel та OriginPro 2018.

**Результати досліджень та їхнє обговорення.** Здобувачкою наведено результати зміни швидкості дихання панкреатичних ацинусів за впливу глютамінової кислоти, глютаміну, аланіну, лізину, аспарагінової кислоти, аспарагіну, аргініну і гістидину як на тлі ендогенних субстратів, так і на тлі впливу глюкози. Описано дію глютаміну на дихання і життєздатність ацинарних клітин підшлункової залози за стимуляції ХЦК у помірній (0,1 нмоль/л) і високій концентрації (10 нмоль/л). Порівняно вплив глютаміну і  $\text{NH}_4\text{Cl}$  на мітохондріальне дихання ацинарних клітин підшлункової залози у нормі та за стимуляції індукторами секреторної активності. Досліджено ефект амінокислот у високій концентрації (20 ммоль/л) *in vitro* на життєздатність і морфологію ацинарних клітин підшлункової залози. На моделі L-аргінін-індукованого ГП показано наслідки впливу введення натрію пірувату *in vivo* на рівень амінокислот у плазмі крові і морфологічні характеристики підшлункової залози.

У розділі «Узагальнення» міститься обговорення та узагальнення результатів дослідження. Аналіз отриманих даних представлено у вигляді підсумкової схеми, яка відображає механізм метаболічних шляхів амінокислот в ацинарних клітинах підшлункової залози.

**Висновки** дисертаційної роботи відповідають меті і завданням роботи, а також отриманим результатам, і висвітлюють головні наукові здобутки роботи.

**Обґрунтованість та достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Дисертація Зуб А.М. на тему «Вплив амінокислот на енергетичне забезпечення ацинарних клітин підшлункової залози» є закінченою кваліфікаційною роботою, в якій отримано нові наукові результати, що мають велику теоретичну і потенційну практичну цінність. Дослідження проведені з використанням достатньої кількості експериментального матеріалу і повторюваності дослідів. Отримані результати піддані ретельному статистичному аналізу. Порівняння результатів роботи з результатами нових наукових публікацій з досліджуваної тематики дало змогу всебічно проаналізувати та обговорити отримані результати. В кінці кожного підрозділу отриманих результатів наведені короткі висновки, в яких обґрунтовані дані власних досліджень. Виклад основного матеріалу дисертації відзначається високим науково-теоретичним рівнем.

**Наукова новизна одержаних результатів.** У представленій дисертаційній роботі вперше проведено комплексне дослідження впливу амінокислот на енергетичні процеси, що відбуваються в ацинарних клітинах підшлункової залози. Встановлено, що FCCP-стимульована швидкість дихання підвищується за окиснення глутамату, глутаміну, аланіну, лізину і аспартату, але не змінюється за дії аспарагіну, аргініну чи гістидину.

Уперше показано, що глутамін у фізіологічній концентрації за стимуляції ХЦК зменшує швидкість роз'єданого окиснення, але не впливає на життєздатність ацинарних клітин підшлункової залози. Встановлено, що під час окиснення глутаміну у фізіологічній концентрації аміак не утворюється у токсичній кількості навіть за стимуляції ацинарних клітин підшлункової залози індукторами секреторної активності. У той же час у високій концентрації (20 ммоль/л) глутамін пригнічує життєздатність ацинарних клітин підшлункової залози за їх довготривалої інкубації. Аланін і гістидин не виявляли негативного впливу на життєздатність панкреатичних ацинусів.

Продемонстровано нормалізуючий вплив натрію пірувату на рівень амінокислот у плазмі крові.

**Практичне значення роботи.** Дисертаційна робота має потенційне практичне значення, оскільки її результати свідчать про вплив амінокислот на дихання і життєздатність панкреатичних ацинусів і ці дані можна використати в розробці нових підходів для лікування ГП та інших патологічних станів. Одержані результати можуть бути застосовані під час підготовки спеціалістів медико-біологічного профілю у навчальних закладах вищої освіти України. Апробовані методики досліджень можна рекомендувати студентам, аспірантам і науковим співробітникам, які використовують панкреатичні ацинуси в наукових дослідженнях.

**Повнота викладу результатів дисертації в опублікованих працях.** Дисертація Зуб Анастасії Миколаївни «Вплив амінокислот на енергетичне забезпечення ацинарних клітин підшлункової залози» виконана на достатньому експериментальному матеріалі з використанням адекватних сучасних методів дослідження і відповідно до мети і завдань роботи. Наукові положення і висновки достатньо обґрунтовані, випливають зі змісту дисертаційної роботи, мають теоретичне і практичне значення.

Матеріали дисертаційної роботи повністю відображені в 10 друкованих працях, з яких 3 – це статті у фахових наукових виданнях (2 статті у міжнародних

виданнях із квантилем Q2 і 1 стаття в українському фаховому журналі) і 7 тез доповідей у матеріалах міжнародних і вітчизняних наукових конференцій. Матеріали дисертації також апробовані на наукових семінарах кафедри фізіології людини і тварин і на щорічних звітних наукових конференціях біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка.

**Відсутність порушення академічної доброчесності.** У дисертації Зуб А.М. «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, запитання та зауваження щодо змісту та оформлення дисертації Зуб А.М.**

**Запитання:**

- 1) З даних, наведених на рис. 3.15 (стор. 86) незрозуміло, чому кількість некротичних клітин за впливу аргініну і лізину статистично вірогідна ( $P < 0,05$ ), тоді як майже ідентичний показник (кількість некротичних клітин) за впливу аспарагінової кислоти не має індикатора статистичної вірогідності.
- 2) Висновок 1. Чи існують прямі експериментальні докази окиснення досліджуваних амінокислот? Чи контролювався на початку і в кінці досліджуваного вмісту амінокислот та продуктів їхнього окиснення?
- 3) Висновок 2. Що означає вираз «глутамін негативно впливає на мітохондрії»?
- 4) На стор. 113 написано «явне покращення морфології підшлункової залози». Що саме мається тут на увазі?
- 5) В роботі часто зустрічається вираз «позитивний вплив амінокислот на...». Що при цьому мається на увазі?

**Редакційні зауваження:**

- 1) Замість терміну «фермент» стосовно тварин і людини правильно вживати термін «ензим».
- 2) Замість сленгового терміну «секретагоги» краще вживати зрозумілий термін «індуктори секреції».

- 3) Замість термінів «натрій піруват» і «етидій бромід» правильно вживати «натрію піруват» і «етидію бромід».
- 4) В підрозділі 2.9 (Зміст) вказано «Електрофорез», але не вказано, яких саме молекул.
- 5) В «Меті роботи» вказано «дослідити вплив амінокислот...», правильно - «окремих амінокислот».
- 6) Практичне значення роботи: «Узагальнення можуть бути впроваджені в навчальний процес...». Якщо впроваджені, то чому немає висновку про впровадження у додатках ?
- 7) На стор. 46 і в цілому в роботі вживається термін «супернатант», що є калькою з англійської мови – правильний термін «надосадова рідина».
- 8) При описі методів дослідження в підрозділі 2.11. «Гістологічне дослідження» (стор. 48) немає посилання на використаний метод, наприклад, «фіксували у формаліні...» - невідомо в якому і як саме.
- 9) На стор. 64 написано «експресія ферменту» - що мається на увазі – рівень мРНК чи вміст білка.
- 10) На стор. 96: написано «у контрольних тварин» - правильно «у контрольній групі тварин».
- 11) На стор. 97: написано «не покращувало морфологію...», очевидно, малося на увазі «не нормалізувало порушену морфологію...».
- 12) На стор. 100: написано «зниження амінокислот», очевидно малося на увазі «зниження рівня (вмісту) амінокислот».
- 13) В тексті роботи виявлені опечатки, на які вказано авторці.

Практично усі зауваження, зроблені до дисертаційної роботи, мають редакційний характер, можуть бути легко виправлені і тому не мають принципового характеру й не знижують загальної високої оцінки роботи.

### **Загальний висновок про відповідність роботи встановленим вимогам.**

Аналіз дисертації та опублікованих праць дає підстави для висновку про те, що дослідження Зуб Анастасії Миколаївни є завершеним, цілісним та самостійним. Вважаю, що її дисертаційна робота на тему «Вплив амінокислот на енергетичне забезпечення ацинарних клітин підшлункової залози» за змістом, рівнем наукової новизни, практичним значенням та характером висновків 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 автор – Зуб Анастасія Миколаївна – заслуговує на присудження наукового ступеня Доктора філософії з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

**Офіційний опонент**

Завідувач відділу регуляції проліферації клітин і апоптозу  
Інституту біології клітини НАН України,  
доктор біологічних наук, професор, член-кореспондент НАН України

**Ростислав Стойка**