

ВИСНОВОК

**про наукову новизну, теоретичне та практичне значення
результатів дисертації «Особливості енергетичного забезпечення
екзокринних клітин підшлункової залози за різних функціональних
станів» здобувача ступеня доктора філософії
з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія»
Манька Богдана Володимировича**

1. Актуальність теми дисертації

Важливу роль у процесах травлення та обміну речовин відіграють секретовані екзокринною частиною підшлункової залози травні ензими (Petersen at al., 2021). Синтез, накопичення та секреція таких ензимів є енергоємними процесами, а визначальну роль у забезпеченні ацинарних клітин енергією у вигляді АТФ відіграють мітохондрії (Gerasimenko & Gerasimenko, 2012).

Різноманітні фізіологічно активні речовини впливають на метаболізм та енергетичний обмін ацинарних клітин, можуть виснажувати у ході цього запаси клітинного АТФ (Criddle at al., 2020). До таких речовин належать жирні кислоти, активні форми кисню, а за патологічних станів – жовчні кислоти та продукти неокисного метаболізму алкоголю тощо. Також за нормальних умов стимулюють секрецією ацинарними клітинами підшлункової залози такі секретогоги як ацетилхолін та холецистокінін (Liddle & Rodger, 2015). Адекватна відповідь на дію секретогогів, як і інших фізіологічно активних речовин, неможлива без нормального функціонування механізмів регуляції забезпечення потреб клітини у енергії мітохондріями.

Дієти із високим вмістом жирів та вуглеводів широко поширені у розвинутих країнах і є причиною розвитку ожиріння (Bayliak at al., 2022). Ожиріння є серйозною медичною проблемою значної частини населення у розвинутих країнах (Caballero, 2019). Зокрема люди, які хворіють на ожиріння, мають високий ризик розвитку діабету, серцево-судинних захворювань, неалкогольних хвороб печінки і підшлункової залози, а також жовчнокам'яної хвороби (Fock & Khoo, 2013). Також ожиріння є одним із факторів розвитку гострого панкреатиту (Scherer at al., 1995).

Основною причиною розвитку ожиріння вважають порушення балансу між кількістю енергії, що надходить в організм та витрачається ним (Fock & Khoo, 2013). Проте дані про порушення енергетичного обміну в ацинарних клітинах підшлункової залози за висококалорійних дієт є нечисельними, хоч сама проблема є надзвичайно актуальною (Otero at al., 2023; Ramkisson & Gardner, 2019).

Одним із методів дослідження біоенергетичних процесів у мітохондріях є полярографічний метод. Він ґрунтується на реєстрації кількості розчиненого у ізольованій комірці кисню (Clark & Lyons, 1962). Починаючи із перших таких досліджень за використанням електроду Кларка та ізольованих мітохондрій, загальною практикою аналізу даних було ручне вимірювання нахилу обраної області на записі. Проте із початком вивчення дихання цілісних клітин із складнішою кривою запису, а також із покращенням роздільної здатності вимірювальних пристроїв, суттєво зросла складність аналізу записаних полярограм. Розроблення специфічних автоматизованих рішень є актуальною проблемою в опрацюванні полярографічних записів дихання клітин та ізольованих мітохондрій.

Встановлення достовірного результату також неможливе без оцінки життєдіяльності клітин. У пошкоджених або некротичних клітинах спостерігаються порушення метаболізму, трансмембранного транспорту іонів чи фізіологічних реакцій на дію подразників (Cassim et al., 2022; Pflieger et al., 2015). Актуальним є дослідження життєдіяльності клітин за нормальних функціональних станів, а також дії патологічних чинників. До останніх, крім ожиріння, можна віднести дію жовчних кислот на ацинарні клітини підшлункової залози (Voronina et al., 2002).

Отже, з'ясування особливостей енергетичного забезпечення мітохондрій екзокринних клітин підшлункової залози є важливою і актуальною темою. Дослідження буде корисним для розуміння енергетичного обміну у клітинах підшлункової залози за зміни дієти на висококалорійну, а також з'ясування механізмів адаптаційних процесів, які виникають за таких умов.

Тему дисертації затверджено на засіданні Вченої ради Львівського національного університету імені Івана Франка, протокол № 60/12 від 26.12.2018 року.

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

Дисертаційну роботу виконано на базі кафедри фізіології людини і тварин та Центру колективного користування клітинної біології та біоенергетики Львівського національного університету імені Івана Франка в рамках держбюджетних тем «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).

3. Особистий внесок здобувача в отриманні наукових результатів

Увесь обсяг експериментальних досліджень здобувач виконав самостійно або за безпосередньої участі. Він самостійно здійснив підбір та опрацювання даних літератури, виконав основну експериментальну частину дисертації і статистичну обробку результатів. Планування наукової роботи, аналіз та інтерпретацію одержаних результатів, підготовку рукописів статей виконано за участю наукового керівника та 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 дієто-індукованого ожиріння; фізико-хімічні – полярографічний метод дослідження швидкості поглинання кисню, флуоресцентна мікроскопія; фізичні – зважування; біохімічні – вимірювання вмісту холестеролу, ліпопротеїнів низької щільності, ліпопротеїнів високої щільності, тригліцеролу та глюкози у плазмі крові; препаративні – виділення ацинарних клітин та ізолювання мітохондрій; прикладні – методи розробки алгоритмів; статистичні – регресійний аналіз, описова статистика, t-тест Стьюдента, 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 працях, апробовані у вигляді доповідей на міжнародних конференціях, належать автору та є його науковим доробком.

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

Запропоновано і експериментально обґрунтовано новий параметр для характеристики мітохондріального дихання – стабільність роз'єданого дихання, тобто здатність мітохондрій підтримувати високу швидкість роз'єданого дихання із збільшенням концентрації протонофора. Встановлено, що стабільність роз'єданого дихання є тим вищою, чим більша життєздатність

клітин ізольованих ацинусів підшлункової залози. Вперше показано, що причиною зменшення мембранного потенціалу мітохондрій внаслідок дії жовчної кислоти TLC-S у концентрації 0,5 ммоль/л є порушення окиснення аланіну, але не пірувату.

Проведено комплексне дослідження впливу на організм короткотривалої (7 тижнів) дієти з високим вмістом жиру та/або цукру. Показано, що у тварин спостерігається лише незначне збільшення рівня холестеролу за обох експериментальних дієт та маси вісцерального жиру за дієти із високим вмістом жиру і цукру. Обидві короткочасні висококалорійні дієти – з високим вмістом жиру та/або цукру – не мають прямого впливу на дихальну функцію ізольованих мітохондрій печінки у щурів. Вперше встановлено, що за короткочасної дієти із високим вмістом жиру (але не жиру і цукру) спостерігається незначне пригнічення базального дихання ацинарних клітин підшлункової залози за окиснення глюкози окремо чи в комбінації з піруватом або 3-гідроксибутиратом. Вперше показано, що мітохондрії ацинарних клітин підшлункової залози здатні утилізувати кетонові тіла, про що свідчить збільшення максимальної швидкості роз'єданого дихання та приріст НАД(Ф)Н-автофлуоресценції за окиснення 3-гідроксибутирату.

6. Перелік наукових праць, які відображають основні результати дисертації

6.1. Статті у наукових фахових виданнях України:

1. **Манько Б.В.** Життєздатність ацинарних клітин підшлункової залози та рівень мембранного потенціалу мітохондрій за дії жовчевої кислоти TLC-S // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2023. – № 89 (2023). – С. 85–92. – DOI: <http://dx.doi.org/10.30970/vlubs.2023.89>.

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

2. **Manko B.V.**, Kozopas N.M., Mazur H.M., Voityk A.M., Manko B.O., Manko V.V. Bioenergetic functions of mitochondria in liver, pancreatic acinar cells, and sperm cells of rats fed short-term high-fat or high-fat high-sugar diets // Ukr. Biochem. J. – 2023. – Vol. 95, № 5. – P. 51–60. – DOI: <https://doi.org/10.15407/ubj95.05.051> (Scopus). *(Здобувач виконав основну частину експериментальну досліджень, взяв активну участь в аналізі результатів досліджень, написанні й оформленні статті).*
3. Zub A., **Manko B.V.**, Manko B.O., Manko V.V., Babsky A. Uncoupled respiration

stability of isolated pancreatic acini as a novel functional test for cell vitality // *Biologichni Studii*. – 2023. – Vol. 17, № 3. – P. 243–252. – DOI: <https://doi.org/10.30970/sbi.1703.735> (Scopus). (Здобувач виконав експериментальну частину досліджень, взяв активну участь в аналізі результатів досліджень, написанні й оформленні статті).

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

1. **Manko V.V.**, Manko V.O., Babsky A. Automatic analysis of biological suspensions oxygen consumptions signals // XIX Міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології», присвячена 90-річчю від дня народження академіка НАН України, професора Шеляга-Сосонка Юрія Романовича (Львів, 26–28 квітня 2023 року) : Збірник тез. – Львів, 2023. – P. 188–189.
2. Войтик А.М., Іккерт О.В., **Манько Б.В.** Вплив високого вмісту жирів і вуглеводів у раціоні на окиснення субстратів ЦТК у печінці щурів // XVIII Міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології», присвячена 195-річчю від дня народження Юліуса Планера (Львів, 6–7 жовтня 2022 р. : Збірник тез. – Львів, 2022. – С. 121–122.
3. **Манько Б.В.**, Сідорова О., Манько Б.О., Манько В.В. Мембранний потенціал мітохондрій як критерій оцінки адаптаційної здатності мітохондрій // XIV Міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології», (Львів, 10–12 квітня 2018 року) : Збірник тез. – Львів, 2018. – С. 287–288.
4. Манько В.В., Манько Б.О., Сідорова О.О., Мазур Г.М., **Манько Б.В.** Алкоголь за хронічного введення на тлі високо жирної дієти порушує мітохондріальні дихання панкреатитів, але не гепатоцитів // Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології : Тези доповідей VIII Міжнародної наукової конференції, присвяченої 175-річчю кафедри фізіології та анатомії людини та тварин Київського національного університету імені Тараса Шевченка (Київ, 17–20 жовтня 2017 р.). – Київ, 2017. – С. 69.

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

Основні положення дисертаційної роботи дають змогу краще зрозуміти механізми дії деяких чинників середовища на мітохондріальні процеси в

ацинарних клітинах підшлункової залози. Вони можуть бути впровадженими у навчальний процес у Львівському національному університеті імені Івана Франка, а також в інших навчальних закладах вищої освіти України у ході викладання навчальних курсів «Фізіологія людини і тварин», «Фізіологія травлення», «Основи біоенергетики», «Системна фізіологія», «Основи здорового харчування» і «Основи нутриціології», під час виконання курсових та дипломних робіт.

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

Результати досліджень можуть бути використані для розробки профілактичних заходів, спрямованих на недопущення розвитку захворювань підшлункової залози. Розроблено автоматизоване програмне рішення алгоритму для аналізу полярографічних записів із автоматичною корекцією артефактів, осциляторних і випадкових шумів та пошуком оптимальних зон для обчислення, яке може бути використано іншими дослідниками.

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 спільному науковому семінарі кафедри фізіології людини і тварин та кафедри біофізики та біоінформатики кафедри біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка (протокол № 8 від 22 листопада 2023 року). У ході обговорення дисертації суттєвих зауважень, які стосуються суті роботи, не було висунуто.

В цілому, дисертаційна робота Манька Богдана Володимировича «Особливості енергетичного забезпечення екзокринних клітин підшлункової залози за різних функціональних станів» є завершеною науковою працею в межах визначених завдань, в якій досліджено особливості енергетичного забезпечення ацинарних клітин за зміни дієти та інших функціональних станів.

Основні результати наукового дослідження опубліковані у 3 наукових статтях, серед яких 2 статті у міжнародних виданнях, які входять до наукометричної бази Scopus та 1 стаття у фаховому виданні України категорії Б; та 4 тези доповідей на міжнародних наукових конференціях.

На основі вищевказаного 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 «Особливості енергетичного забезпечення екзокринних клітин підшлункової залози за різних функціональних станів» 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 Манька Богдана Володимировича, 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 «Особливості енергетичного забезпечення екзокринних клітин підшлункової залози за різних функціональних станів» Манька Богдана Володимировича рекомендується для подання до розгляду та захисту у спеціалізованій вченій раді.

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

Руслана ІСКРА

22.11. 2023 року

Підпис професора Руслани ІСКРИ засвідчую.

Вчений секретар
Львівського національного
університету імені Івана Франка,
доцент



 Ольга ГРАБОВЕЦЬКА