

До разової спеціалізованої ради
ДФ 35.051.140
Львівського національного університету
імені Івана Франка
м. Львів, вул. Університетська, 1

РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу Манька Богдана Володимировича
за темою: «Особливості енергетичного забезпечення екзокринних клітин
підшлункової залози за різних функціональних станів», яка представлена
на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія
за спеціальністю 091 Біологія

Актуальність теми дисертації

Підшлункова залоза – це єдиний орган, який завдяки поєднанню екзокринної та ендокринної функції бере участь у багатьох фізіологічних процесах, починаючи з травлення та закінчуючи процесами адаптації. Тому дослідження енергетичного забезпечення екзокринних клітин підшлункової залози є важливою та актуальною проблемою. У підшлунковій залозі синтезуються ензими, які беруть участь у процесі перетравлення протеїнів, ліпідів та вуглеводів. Нормальне функціонування цього органу неможливе без забезпечення клітин достатньою кількістю енергії. Протягом усього життя людини підшлункова залоза зазнає впливу різних несприятливих чинників, серед яких вживання алкоголю, неякісної їжі і води, куріння, переїдання, інфекційні захворювання. Це призводить до зниження функціонального стану та розвитку патології цієї залози. Зміни структурно-функціонального стану цієї залози, які розвиваються при патології, можуть бути пов'язані з порушенням енергозабезпеченості ацинарних клітин. Це зумовлює актуальність досліджень, спрямованих на вивчення особливостей енергетичного забезпечення ацинарних клітин за різних функціональних станів, зокрема за впливу жовчних або жирних кислот.

Такі дослідження є актуальними у контексті широкого поширення захворювань травної системи та можуть сприяти покращенню діагностики та лікування патологій підшлункової залози. Вважаю, що робота є актуальною і спрямованою на вирішення важливої проблеми.

Зв'язок дисертаційної роботи з державними чи галузевими науковими програмами

Дисертаційну роботу виконано на кафедрі 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 проєкту у межах робочого часу викладачів і аспірантів «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 Манька Б. В. має чітко сформульовану мету та окреслені основні завдання роботи для досягнення цієї мети. Усі експериментальні результати, наукові положення і висновки дисертаційної роботи побудовані на матеріалах власних досліджень. Робота виконана з використанням сучасних методів експериментальних досліджень, які є науково обґрунтованими і достовірними.

Отримані результати опрацьовувано статистично та здійснено необхідні математичні розрахунки у програмі Microsoft Office Excel та за допомогою програмного забезпечення OriginPro 2018. Достовірність відмінності між групами для парних експериментів *in vitro* 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 більше, ніж двома рівнями, коли взаємодія не була доведена.

Основні наукові результати, одержані автором, та їхня новизна

Новизна отриманих дисертантом основних наукових результатів:

- розроблено автоматизоване програмне рішення у вигляді авторського алгоритму для аналізу полярографічних записів із автоматичною корекцією артефактів, осциляторних і випадкових шумів, а також пошуку оптимальних зон для обчислення, що дає змогу істотно покращити якість та швидкість проведення обчислень і усуває суб'єктивний вплив експериментатора;
- вперше запропоновано новий параметр для характеристики мітохондріального дихання – стабільність роз'єданого дихання, а також показано, 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 сульфату таурохолевої кислоти (TLC-S) у концентрації 0,5 ммоль/л є порушення окиснення аланіну, але не пірувату;
- показано, що за короткотривалої дієти з високим вмістом жирів, або жирів і вуглеводів, не виникає збільшення маси тіла, печінки, рівня глюкози, тригліцеридів та ліпопротеїнів високої та низької щільності у плазмі крові, натомість спостерігається лише незначне збільшення рівня холестеролу за обох

експериментальних дієт та маси вісцерального жиру за дієти із високим вмістом жирів і вуглеводів;

- встановлено, що обидві короточасні висококалорійні дієти не мають прямого впливу на дихальну функцію мітохондрій печінки; водночас за дієти із високим вмістом жирів спостерігається незначне пригнічення базального дихання ацинарних клітин підшлункової залози за окиснення глюкози окремо чи в комбінації з піруватом або 3-гідроксибутиратом.

Теоретичне та практичне значення отриманих результатів дослідження.

Варто зазначити, що проведені дисертантом експериментальні дослідження особливостей енергетичного забезпечення ацинарних клітин підшлункової залози створюють наукове підґрунтя для аналізу впливу тривалих дієт на підшлункову залозу.

Одержані результати дослідження впливу жовчних кислот на екзокринні клітини підшлункової залози можуть бути використані у біології та медицині для розробки моделей аналізу впливу жовчнокам'яної хвороби на підшлункову залозу, а також потенційних засобів запобігання патологічного впливу жовчних кислот на підшлункову залозу.

Отримані результати дисертаційного дослідження можуть бути впроваджені в навчальний процес і наукову роботу кафедри фізіології людини і тварин, а також кафедр біохімії, біофізики та біоінформатики біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка, інших закладів вищої освіти відповідного профілю. Розроблене автоматизоване програмне рішення алгоритму для аналізу полярографічних записів із автоматичною корекцією артефактів, осциляторних і випадкових шумів та пошуком оптимальних зон для обчислення будуть використані іншими дослідниками.

Апробація результатів дисертації, повнота викладу основних положень, висновків і рекомендацій

У роботі наведено 6 висновків, які чітко узгоджуються зі сформульованими завданнями дисертаційної роботи й отриманими результатами. Основні наукові результати та висновки дисертації апробовано на міжнародних конференціях, а також були перевірені під час рецензування публікацій у фахових виданнях.

За результатами дисертаційного дослідження опубліковано 3 статті: з них – 2 статті у виданнях, що входять до наукометричної бази Scopus та 1 стаття у фаховому науковому журналі України; 4 тези доповідей на міжнародних наукових конференціях.

Сукупність усіх публікацій відображає викладені у дисертації результати дослідження, що відповідає вимогам пунктів 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 р. № 44.

Відомості про дотримання академічної доброчесності. У наукових публікаціях і дисертаційній роботі Манька Богдана Володимировича на тему «Особливості енергетичного забезпечення екзокринних клітин підшлункової залози за різних функціональних станів» не виявлено ознак академічного плагіату, фальсифікації чи інших порушень, які могли би поставити під сумнів самостійність виконання дисертантом 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 138 сторінках українською мовою, основна частина складається з 90 сторінок, проілюстрована 26 рисунками та 7 таблицями. Робота складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, результатів досліджень та їхнього обговорення, узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаної літератури та одного додатку. Список джерел літератури включає 118 найменувань.

Дисертаційна робота розпочинається з анотації та ключових слів, які написані державною та англійською мовами, списку публікацій здобувача за темою дисертації, переліку умовних скорочень і змісту роботи. В анотації стисло представлені основні результати дослідження із зазначенням наукової новизни і практичного значення.

У «**Вступі**» (с. 20–25) обґрунтовано актуальність обраної теми, відображено зв'язок роботи з науково-дослідною темою кафедри фізіології людини і тварин, сформульовано мету та завдання, розкрито наукову новизну та практичне значення отриманих результатів, перераховані методи досліджень, висвітлено особистий внесок здобувача й апробацію результатів та публікації, а також наведено коротку інформацію про структуру й обсяг дисертації.

У першому розділі дисертації «**Огляд літератури**» (с. 26–38) проаналізовано наукову літературу, в якій охарактеризовано особливості енергетичного забезпечення ацинарних клітин підшлункової залози, зокрема регуляцію екзокринної функції та процесів мітохондріального дихання за впливу біологічно активних речовин. Також описані методи комп'ютерного аналізу біологічних сигналів та полярограм, та складності у розробці автоматизацій таких розрахунків.

Проведений аналіз літературних джерел дав змогу здобувачу зробити висновок про пріоритетність обраного напрямку наукової роботи.

У другому розділі «**Матеріали та методи дослідження**» (с. 39–51) детально описано умови утримання та основні засади поводження з

лабораторними тваринами. Наведено методику ізолювання панкреатичних ацинусів. Описано склад використаних розчинів. Наведено методику полярографічного вимірювання швидкості споживання кисню клітинами. Описано методики флуоресцентної мікроскопії для оцінки рівня життєздатності клітин. Також детально описано інші методи, які були використані у дослідженнях, а саме: моделювання дієти із високим вмістом жирів або жирів і вуглеводів; реєстрація маси тіла та вісцерального жиру; виділення мітохондрій печінки; визначення концентрації глюкози у крові; оцінка показників ліпідного обміну; розробка алгоритмів, а також статистичний аналіз отриманих результатів.

У третьому розділі «**Результати досліджень та їх обговорення**» (с. 52–111) представлені результати проведених досліджень із визначення особливостей енергетичного забезпечення ацинарних клітин підшлункової залози за різних функціональних станів. Описано основні етапи роботи алгоритму, а також результати перевірки із використанням згенерованих та справжніх даних. Досліджено залежність роз'єданого дихання ізолюваних ацинусів підшлункової залози від життєздатності клітин. З'ясовано вплив жовчної кислоти TLC-S на життєздатність ацинарних клітин підшлункової залози та рівень мембранного потенціалу їхніх мітохондрій. Досліджено вплив висококалорійних дієт на функції мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози та печінки.

Отримані результати досліджень висвітлено у таблицях і рисунках.

Четвертий розділ «**Узагальнення**» (с. 112–115) дисертант аналізує отримані результати, даючи ґрунтовні наукові відповіді на ряд ключових питань своєї роботи. Зокрема, які переваги використання автоматизації розрахунків результатів полярографічних досліджень споживання кисню ізолюваними клітинами? У чому переваги використання функціональних підходів оцінки життєздатності клітин? Чим може бути практичним параметр стабільності роз'єданого дихання? Які особливості метаболізму ацинарних клітин підшлункової залози за дії жовчної кислоти TLC-S? Які особливості енергетичного забезпечення клітин підшлункової залози за короткострокових висококалорійних дієт?

Висновки (с. 116–117), сформульовано шість висновків, які логічно випливають з одержаних результатів, є науково обґрунтованими, відповідають меті та завданням дослідження.

Список використаної літератури (с. 118–135) оформлений за встановленим стандартом та сформовано в порядку їхнього згадування в роботі.

У Додатку А (с. 136–138) представлено список публікацій здобувача та відомості про апробацію результатів дисертації.

Зауваження до дисертації

Високо оцінюючи наукове і практичне значення дисертаційної роботи, висловлюю деякі зауваження та побажання:

1. Варто розширити перелік умовних скорочень, бо їх у роботі більше, ніж у списку. Наприклад, TLC-S, МТТ, ТМРМ, FССР та ін.

2. У розділі “Матеріали і методи” не варто представляти визначення концентрації глюкози та показників ліпідного обміну, як «Методи дослідження плазми крові». Показники, які визначають у плазмі крові відображають різноманітні зміни на рівні цілого організму.

3. Чому при виборі висококалорійних дієт Ваша увага була зосереджена саме на дієті HFHS? У якій формі додавали до раціону сахарозу? Як здійснювали контроль спожитого смальцю кожною твариною?

4. На ст. 94, рис. 3.19 представлено доволі високий розкид даних щодо змін вмісту TLC-S. З чим це може бути пов'язано?

5. Українською мовою правильно використовувати термін флюоресценція замість флуоресценція.

Проте, вищенаведені зауваження істотно не впливають на науково-практичну цінність роботи і загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи.

Висновки про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Манька Богдана Володимировича на тему «Особливості енергетичного забезпечення екзокринних клітин підшлункової залози за різних функціональних станів» є завершеною науковою працею. Вважаю, що за актуальністю та новизною тематики, об'ємом і ґрунтовністю аналізу й інтерпретацією результатів проведеного дослідження, а також науково-теоретичним і практичним значенням дисертаційна робота відповідає повністю вимогам 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 (із змінами, внесеними згідно з постановами Кабінету Міністрів України від 21.03.2022 року № 341 та від 19.05.2023 року № 502), а дисертант, Манько Богдан Володимирович, 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:

к. б. н., доцент кафедри біохімії
біологічного факультету
Львівського національного університету
імені Івана Франка

Галина ГАЧКОВА