

Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0823U101890

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 19-12-2023

Статус: Наказ про видачу диплома

Реквізити наказу МОН / наказу закладу: Наказ Ректора Львівського національного університету імені Івана Франка від 12.01.2024 р. № 42



II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Зуб Анастасія Миколаївна

2. Anastasiia M. Zub

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-9335-0928

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 091

Назва наукової спеціальності: Біологія та біохімія

Галузь / галузі знань: біологія

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Біологія

Дата захисту: 27-12-2023

Спеціальність за освітою: Фізіологія людини і тварин

Місце роботи здобувача: Львівський національний університет імені Івана Франка

Код за ЄДРПОУ: 02070987

Місцезнаходження: вул. Університетська, буд. 1, Львів, 79000, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): ДФ 35.051.131_ID 3050

Повне найменування юридичної особи: Львівський національний університет імені Івана Франка

Код за ЄДРПОУ: 02070987

Місцезнаходження: вул. Університетська, буд. 1, Львів, 79000, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію

Повне найменування юридичної особи: Львівський національний університет імені Івана Франка

Код за ЄДРПОУ: 02070987

Місцезнаходження: вул. Університетська, буд. 1, Львів, 79000, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації: Українська

Коди тематичних рубрик: 34.15, 34.39

Тема дисертації:

1. Вплив амінокислот на енергетичне забезпечення ацинарних клітин підшлункової залози.
2. The effect of amino acids on the energy processes of acinar cells of the pancreas.

Реферат:

1. У дисертаційній роботі досліджено вплив амінокислот у різних концентраціях на швидкість роз'єданого дихання мітохондрій панкреатичних ацинусів. Встановлено, що глутамат, глутамін, аланін, лізин і аспартат збільшують швидкість FCCP-стимульованого дихання мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози. З'ясовано, що доступність глюкози як основного джерела енергії зменшує внесок лізину, аланіну та аспартату, але не глутамінової кислоти і глутаміну, у швидкість роз'єданого дихання панкреатичних ацинусів. Не знайдено достатніх доказів того, що аспарагін, аргінін або гістидин використовуються як джерело енергії мітохондріями ацинарних клітин підшлункової залози. Досліджено вплив глутаміну на мітохондріальне дихання та життєздатність ацинарних клітин у нормі та за стимуляції секретогогами. Встановлено, що за стимуляції панкреатичних ацинусів холецистокініном (ХЦК) у концентрації 0,1 нмоль/л глутамін знижує швидкість роз'єданого окиснення. Внесення у середовище інкубації глутаміну, пірувату і глюкози разом з ХЦК у високій концентрації (10 нмоль/л) призводить до зменшення максимальної швидкості

дихання. Показано, що глутамін не впливає на життєздатність ацинарних клітин підшлункової залози за гіперстимуляції ХЦК. Порівняно вплив глутаміну та аміаку на мітохондріальне окиснення у нормі та за впливу стимуляторів секреції. З'ясовано, що інкубація ізольованих панкреатичних ацинусів з NH_4Cl спричиняє негативний вплив на мітохондрії незалежно від стимуляції ацетилхоліном або ХЦК. Глутамін сприяє збільшенню максимальної швидкості дихання мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози незалежно від ефекту секретогогів. Токсична кількість аміаку, необхідна для негативних наслідків, очевидно, не утворюється через окиснення глутаміну у помірній концентрації (2 ммоль/л) на тлі глюкози, як за нормальних умов, так і за стимуляції ацинарних клітин ацетилхоліном або ХЦК. З'ясовано вплив амінокислот у концентрації 20 ммоль/л на життєздатність ацинарних клітин підшлункової залози. Показано, що аланін і гістидин за інкубації впродовж 24 год не змінюють життєздатність панкреатичних ацинусів. Аланін може реалізувати захисний вплив через катаболізм до пірувату за допомогою аланін-трансaminaзи. Піруват посилює окиснювальну та АТФ-продуктивну здатність мітохондрій і захищає ацинарні клітини підшлункової залози від токсичних речовин. Встановлено, що аспарагін, аспарагінова кислота і глутамінова кислота помірно збільшують кількість мертвих клітин. Аргінін і лізин за довготривалої інкубації мають значний негативний вплив на життєздатність панкреатичних ацинусів *in vitro*, спричиняючи некротичну загибель клітин. Вперше описано, що глутамін у високій концентрації (20 ммоль/л) викликає блебінг та набряк ацинарних клітин і призводить до некрозу. Цікаво, що глутамат, прямий метаболіт глутаміну, не викликає таких шкідливих ефектів у ацинарних клітинах підшлункової залози. Відомо, що глутамін спонтанно розкладається в розчинах, утворюючи аміак. Ми припускаємо, що накопичення аміаку є основною причиною набряку та некрозу ацинарних клітин підшлункової залози, індукованого глутаміном у високій концентрації. Було вивчено ефект субстрату окиснення натрій пірувату *in vivo* на рівень амінокислот у крові за L-аргінін-індукованого гострого панкреатиту у щурів. Встановлено, що у підшлунковій залозі тварин з гострим панкреатитом, індукованим L-аргініном, незалежно від введення натрій пірувату, виявлено атипівні клітини, що, ймовірно, є ознакою фіброзу. Ознак лейкоцитарної інфільтрації, некрозу, набряку чи крововиливу не виявлено, очевидно, через пізнє обстеження. Досліджено, що у тварин з панкреатитом відбувається порушення ультраструктури клітин. Методом електронної мікроскопії було виявлено мітохондрії з дегенерованими кристами, скупчення аутофагосом або неапікальну локалізацію зимогенних везикул, а також розпад цитоплазми та ядер деяких ацинарних клітин підшлункової залози. Вперше зареєстровано, що піруват нормалізує рівень метіоніну, фенілаланіну, триптофану, глутаміну, аспартату, орнітину, серину і цистеїну у плазмі крові щурів з L-аргінін-індукованим гострим панкреатитом, але не впливає на морфологію підшлункової залози за гострого панкреатиту. Натрій піруват може сприяти нормалізації мітохондріальних процесів і відновленню клітинного рівня АТФ. За умов введення пірувату зникає дефіцит субстратів окиснення, що веде до зниження потреб клітини в катаболізмі амінокислот, як наслідок, це призводить до підвищення їхньої концентрації в крові. Механізм нормалізації рівня більшості незамінних амінокислот у плазмі крові за дії пірувату можна пояснити покращенням зовнішньосекреторної функції підшлункової залози і, як наслідок, інтенсифікації розщеплення білків в процесі травлення. Отримані результати досліджень вказують на доцільність використання амінокислот та інших енергетичних субстратів для корекції мітохондріальної дисфункції за гострого панкреатиту.

2. In the dissertation, the influence of amino acids in different concentrations on the rate of oxygen consumption by uncoupled mitochondria of pancreatic acini was investigated. It was established that glutamate, glutamine, alanine, lysine, and aspartate increase the rate of FCCP-stimulated mitochondrial respiration in pancreatic acinar cells. It was found that the availability of glucose as the main energy source reduces the contribution of lysine, alanine and aspartate, but not glutamic acid and glutamine, to the rate of uncoupled respiration of pancreatic acini. No sufficient evidence was found that asparagine, arginine, or histidine is used as an energy source by uncoupled mitochondria in pancreatic acinar cells. It was established that upon stimulation of pancreatic acini with cholecystokinin (CCK) in a moderate concentration, glutamine reduces the rate of uncoupled oxidation. The addition of glutamine, pyruvate, and glucose to the incubation medium together with CCK in a high concentration (10 nM) leads to a decrease in the maximum respiration rate. It was shown that glutamine does not affect the

viability of pancreatic acinar cells under CCK hyperstimulation. It was found that incubation of isolated pancreatic acinar cells with NH₄Cl causes a negative effect on mitochondria independent of acetylcholine or CCK stimulation. Glutamine increases the maximum respiration rate of mitochondria pancreatic acinar cells regardless of the effect of secretagogues. The toxic amount of ammonia necessary for such negative effects is apparently not formed due to the oxidation of glutamine in a moderate concentration (2 mM) with glucose, both under normal conditions and during stimulation of acinar cells with acetylcholine or CCK. The effect of amino acids at a concentration of 20 mM on the viability of pancreatic acinar cells was determined. It was shown that alanine and histidine during long-term incubation do not change the viability of pancreatic acini. The protective effect of alanine may be associated with catabolism to pyruvate by alanine transaminase. Pyruvate enhances the oxidative capacity of mitochondria and ATP production, protects acinar cells of the pancreas from toxic substances. Asparagine, aspartic acid and glutamic acid have been found to increase the number of dead cells. Arginine and lysine during long-term incubation have a significant negative effect on the viability of pancreatic acini in vitro, causing necrotic cell death. It was first described that glutamine in high concentration (20 mM) causes blebbing and swelling of acinar cells and leads to necrosis. Interestingly, glutamate, a direct metabolite of glutamine, does not cause such deleterious effects in pancreatic acinar cells. It is known that glutamine decomposes spontaneously in solutions, forming ammonia. We hypothesize that ammonia accumulation is the primary cause of pancreatic acinar cell edema and necrosis induced by glutamine in high concentration. Based on the obtained results, the effect of oxidation substrate sodium pyruvate on L-arginine-induced acute pancreatitis in rats in vivo was studied. It was established that in the pancreas of animals with acute pancreatitis induced by L-arginine, regardless of the administration of sodium pyruvate, atypical cells were found, which is probably a sign of fibrosis. No signs of leukocyte infiltration, necrosis, edema, or hemorrhage were detected, apparently due to the late examination. It has been investigated that the ultrastructure of cells is disturbed in animals with pancreatitis. Electron microscopy revealed mitochondria with degenerated cristae, accumulation of autophagosomes or non-apical localization of zymogen vesicles, as well as disintegration of the cytoplasm and nuclei of some pancreatic acinar cells. It was first reported that pyruvate normalizes the levels of methionine, phenylalanine, tryptophan, glutamine, aspartate, ornithine, serine and cysteine in the blood plasma of rats with L-arginine-induced acute pancreatitis, but does not affect the morphology of the pancreas in acute pancreatitis. Sodium pyruvate can contribute to the normalization of mitochondrial processes and restoration of the cellular level of ATP. Under the conditions of administration of pyruvate, the deficiency of oxidation substrates disappears, which leads to a decrease in the needs of the cell in the catabolism of amino acids, as a result, it leads to an increase in their concentration in the blood. The mechanism of normalization of the level of most essential amino acids in the blood plasma under the action of pyruvate can be explained by the improvement of the exocrine function of the pancreas and, as a result, the intensification of the splitting of proteins in the digestion process. The obtained research results indicate the expediency of using amino acids and other energy substrates for the correction of mitochondrial dysfunction in acute pancreatitis.

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки: Науки про життя, нові технології профілактики та лікування найпоширеніших захворювань

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності: Впровадження нових технологій та обладнання для якісного медичного обслуговування, лікування, фармацевтики

Підсумки дослідження: Нове вирішення актуального наукового завдання

Публікації:

- 1. Zub, A., Manko, O. V., & Manko, B. O. (2021). The effects of ammonia and glutamine on mitochondrial respiration of rat pancreatic acinar cells. *Visnyk of Lviv University. Biological Series*, (84), 105–112.

- 2. Manko, B. O., Bilonoha, O. O., Voloshyn, D. M., Zub, A. M., Ivasechko, I. I., & Manko, V. V. (2021). Pyruvate and glutamine define the effects of cholecystokinin and ethanol on mitochondrial oxidation, necrosis, and morphology of rat pancreatic acini. *Pancreas*, 50(7).
- 3. Zub, A. M., Ostapiv, R. D., Manko, O. V., & Manko, B. O. (2023). Sodium pyruvate improves the plasma amino acid profile in rats with L-arginine-induced acute pancreatitis. *Amino Acids*.
- 4. Fedashko, V., Yakubovska*, A., Ivasechko, I., Manko, B.O., Manko, V.V. (2019). Effects of hyperstimulation by cholecystokinin on viability of rat pancreatic acinar cells. *Youth and Progress of Biology: XV International Scientific Conference for Students and PhD Students, dedicated to the 135th anniversary of J. Parnas*. Lviv, Ukraine, 141.
- 5. Hadych, A., Yakubovska*, A., Manko, B.O., Manko, V.V. (2019). Effects of glutamine and NH₄Cl on mitochondrial respiration of rat pancreatic acinar cells. *Youth and Progress of Biology: XV International Scientific Conference for Students and PhD Students, dedicated to the 135th anniversary of J. Parnas*. Lviv, Ukraine, 141–142.
- 6. Якубовська*, А., Манько, Б.О., Манько, В.В. (2019). Вплив аргініну і лізину на адаптаційну здатність мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози щурів. XX з'їзд Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвячений 95-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка. Київ, Україна, 32.
- 7. Зуб, А., Манько, Б.О., Манько, В.В. (2019). Залучення амінокислот у процеси мітохондріального дихання впливає на життєздатність ацинарних клітин підшлункової залози щурів. Матеріали чергового VIII з'їзду Українського біофізичного товариства. Київ, Україна, 33.
- 8. Chipak, S., Zub, A., Ostapiv, R., Manko, B.O., & Manko V.V. (2020). Influence of sodium pyruvate on pancreatic morphology and amino acid blood levels in rats with arginine-induced acute pancreatitis. *Youth and Progress of Biology: XVI International Scientific Conference for Students and PhD Students, dedicated to the 75th anniversary of the faculty of biology of Ivan Franko National University of Lviv and 90th anniversary from the birthday of prof. M.P. Derkach*. Lviv, Ukraine, 182–183.
- 9. Shostak, M., Zub, A., Manko, B.O., Manko, V.V. (2020). Effect of high concentrations of amino acids on apoptosis and necrosis in rat pancreatic acinar cells. *XVI International Scientific Conference for Students and PhD Students, dedicated to the 75th anniversary of the faculty of biology of Ivan Franko national university of Lviv and 90th anniversary from the birthday of prof. M.P. Derkach*. Lviv, Ukraine, 200.
- 10. Zub, A., Manko, B.O., Manko, V.V. (2022). Viability of pancreatic acinar cells under the influence of amino acids in high concentration. *Youth and Progress of Biology: XVIII International Scientific Conference for Students and PhD Students dedicated to the 195th anniversary from the birthday of Julius Planer*. Lviv, Ukraine, 164–165.

Наукова (науково-технічна) продукція: методи, теорії, гіпотези

Соціально-економічна спрямованість: поліпшення якості життя та здоров'я населення, ефективності діагностики та лікування хворих

Охоронні документи на ОПВ:

Впровадження результатів дисертації: Планується до впровадження

Зв'язок з науковими темами: № 0115U003246, № 0118U003604, № 0123U101951, № 0123U110302

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Манько Володимир Васильович

2. Volodymyr V. Manko

Кваліфікація: д. б. н., професор, 03.00.13

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-4406-1732

Додаткова інформація: Scopus Author ID: 7005894893; Web of Science Researcher ID: C-5461-2016;
<https://scholar.google.com/citations?user=KrCFHaIAAAAJ>

Повне найменування юридичної особи: Львівський національний університет імені Івана Франка

Код за ЄДРПОУ: 02070987

Місцезнаходження: вул. Університетська, буд. 1, Львів, 79000, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Стойка Ростислав Степанович
2. Rostyslav S. Stoika

Кваліфікація: д.б.н., професор, 03.00.04

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0001-5719-2187

Додаткова інформація: Scopus Author ID: 56144795900;
<https://scholar.google.com/citations?hl=uk&user=BGdTZvMAAAAJ>

Повне найменування юридичної особи: Інститут біології клітини Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 25255758

Місцезнаходження: вул. Драгоманова, буд. 14/16, Львів, 79005, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Бабіч Лідія Григорівна
2. Lidiiia H. Babich

Кваліфікація: д. б. н., с.н.с., 03.00.04

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-6882-4239

Додаткова інформація: Scopus Author ID: 7006036278;
<https://scholar.google.com/citations?hl=uk&user=RXsMUJ0AAAAAJ>

Повне найменування юридичної особи: Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна Національної академії наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417288

Місцезнаходження: вул. Леонтовича, буд. 9, Київ, 01054, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Мерлавський Володимир Михайлович

2. Volodymyr M. Merlavskyi

Кваліфікація: к. б. н., доц., 03.00.13

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0003-4366-6286

Додаткова інформація: Scopus Author ID: 57057777800;
<https://scholar.google.com/citations?hl=uk&user=1sdTl9QAAAAJ>

Повне найменування юридичної особи: Львівський національний університет імені Івана Франка

Код за ЄДРПОУ: 02070987

Місцезнаходження: вул. Університетська, буд. 1, Львів, 79000, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Гачкова Галина Ярославівна

2. Halyna Y. Hachkova

Кваліфікація: к. б. н., доц., 03.00.04

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-2984-1060

Додаткова інформація: Scopus Author ID: 57216624553; Web of Science Researcher ID: AAM-8283-2020;
<https://scholar.google.com/citations?hl=uk&user=L8kHPywAAAAJ>

Повне найменування юридичної особи: Львівський національний університет імені Івана Франка

Код за ЄДРПОУ: 02070987

Місцезнаходження: вул. Університетська, буд. 1, Львів, 79000, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

VIII. Заключні відомості

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
голови ради**

Іскра Руслана Ярославівна

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
головуючого на засіданні**

Іскра Руслана Ярославівна

**Відповідальний за підготовку
облікових документів**

Жак Ольга Володимирівна

Реєстратор

УкрІНТЕІ

**Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є
відповідальним за реєстрацію наукової
діяльності**



Юрченко Тетяна Анатоліївна