ЗАТВЕРДЖУЮ
т. в.о. проректора з наукової роботи
Львівського національного університету
імені Івана Франка
_____ Іван КУНЬО
"16" 05 2025 року

ВИТЯГ
з протоколу № 16
фахового семінару кафедр фізіології людини і тварин, біохімії,
біофізики та біоінформатики, генетики біологічного факультету
Львівського національного університету імені Івана Франка
від 15 травня 2025 року

ПРИСУТНІ:

I. 9 штатних науково-педагогічних і наукових працівників кафедри фізіології людини і тварин:

1. Завідувач кафедри фізіології людини і тварин, доктор біологічних наук, професор Манько Володимир Васильович
2. Доктор біологічних наук (спеціальність – біохімія), доцент Іскра Руслана Ярославівна
3. Кандидат біологічних наук, доцент Бичкова Соломія Володимирівна
4. Кандидат біологічних наук, доцент Іккерт Оксана Володимирівна
5. Кандидат біологічних наук, доцент Мерлавський Володимир Михайлович
6. Кандидат біологічних наук, доцент Король Тетяна Валеріївна
7. Кандидат біологічних наук, доцент Біолонога Ольга Олегівна
8. Кандидат біологічних наук Манько Богдан Володимирович
9. Аспірант кафедри фізіології людини і тварин Абрамович Анастасія Олексіївна

II. 3 штатних науково-педагогічних і наукових працівників кафедри біофізики і біоінформатики:

1. Завідувач кафедри біофізики і біоінформатики, доктор біологічних наук, професор Бабський Андрій Мирославович
2. Кандидат біологічних наук, доцент Тарновська Антоніна Володимирівна
3. Кандидат біологічних наук, доцент Шалай Ярина Романівна

III. 1 штатний науково-педагогічний працівник кафедри біохімії:

1. Доктор біологічних наук, доцент Гачкова Галина Ярославівна

IV. 1 штатний науково-педагогічний працівник кафедри генетики:

1. Доктор біологічних наук, професор Осташ Богдан Омелянович

На засідання запрошені:

1. Член-кореспондент НАН України, завідувач відділу регуляції проліферації клітин і апоптозу Інституту біології клітини НАН України, доктор біологічних наук (спеціальність – біохімія), професор Стойка Ростислав Стефанович
2. Доктор біологічних наук (спеціальність – біохімія), професор кафедри екології Антоняк Галина Леонідівна
3. Молодший науковий співробітник Інституту біології клітини НАН України, кандидат біологічних наук Фінюк Наталія Степанівна

Присутні 7 докторів наук (з них 3 за спеціальністю «біохімія») і 9 кандидатів наук фахівці за профілем представленої дисертації.

Голова засідання – Завідувач кафедри фізіології людини і тварин, доктор біологічних наук, професор Манько Володимир Васильович.

СЛУХАЛИ: доповідь старшого наукового співробітника кафедри фізіології людини і тварин, випускника докторантури Львівського національного університету імені Івана Франка (2021–2023 рр.) Манька Богдана Олексійовича «Адаптаційна здатність мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози та гепатоцитів щурів», представленої на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.02 – «біохімія» (галузь знань 09 «Біологія»).

Тему дисертації затверджено 29 вересня 2021 р. на засіданні Вченої ради Львівського національного університету імені Івана Франка (протокол № 19/9). Науковим консультантом призначено доктора біологічних наук, професора Бабського Андрія Мирославовича.

Робота виконана на кафедрі фізіології людини і тварин Львівського національного університету імені Івана Франка.

Здобувачу було задано 25 запитань, на які він надав вичерпні відповіді. Запитання задали:

Член-кореспондент НАН України, завідувач відділу регуляції проліферації клітин і апоптозу Інституту біології клітини НАН України, доктор біологічних наук (спеціальність – біохімія), професор Стойка Ростислав Стефанович (*Яка була чистота*

популяції гепатоцитів і частка отриманих живих клітин? Чи був процес утворення блебів зворотнім за умов усунення чинника? Як співвідносилась концентрація амінокислот, що спричиняли загибель клітин у культуральному середовищі до нормальної концентрації у крові? Чи діяли негативно нейтральні амінокислоти на життєздатність ацинусів? Як діяв циклоспорин і яка була мета його використання? Назвіть основні положення, які ви виносите на захист?)

Доктор біологічних наук, доцент Гачкова Галина Ярославівна (*Яка мета гострого експерименту із введення етанолу (40%, 4 г/кг маси тварини) перорально у шлунок через зонд за дві години до декапітації тварин? З якою метою визначали концентрацію етилового спирту в крові визначали ензиматичним методом та методом газорідинної хроматографії? Хронічне введення алкоголю щурам на тлі високожирової дієти спричиняє інтенсифікацію мітохондріального дихання гепатоцитів, однак не впливає на мітохондріальне дихання ацинарних клітин підшлункової залози. Як Ви пояснюєте різний характер впливу цих чинників на гепатоцити і особливості ацинарні клітини підшлункової залози? За короткочасного впливу холецитокініну і етанолу in vivo встановлено блебінг, який є характерною ознакою апоптотичних клітин. Проте, використання інших методів дослідження апоптозу (фрагментація ДНК, фарбування Annexin V-FITC) не підтвердили апопточних змін у клітинах. З чим пов'язаний блебінг клітин ацинусів за вищезазначених умов? Розроблено новий спектрофотометричний метод визначення накопичення родаміну 123 у клітинах. Чи плануєте патентування цього методу? Чому в ацинарних клітинах підшлункової залози найвища адаптаційна здатність мітохондрій проявляється за окиснення глюкози з піруватом і глутаміном, а у гепатоцитах – за окиснення пірувату або монометилсукцинату? Яким чином родамін 123 потрапляє у клітини? Чи плануєте патентування спектрофотометричного методу визначення концентрації родаміну у клітинах?)*

Завідувач кафедри біофізики і біоінформатики, доктор біологічних наук, професор Бабський Андрій Мирославович *(Чому використовували саме смалець у високожировій дієті? Як ви поясните той факт, що метилювання сукцинату суттєво міняє його проникність через плазматичну мембрану? Якій дозі алкоголю у людини відповідають використані вами експериментальні дози і концентрації?)*

Доктор біологічних наук, професор Осташ Богдан Омелянович (*Ви припускаєте, що негативні ефекти глутаміну на мітохондрії викликані генерацією амонію (вірогідно, як наслідок активності мітохондріальної глутамінази). Чи існує якийсь спосіб це експериментально довести, напр. за рахунок фармакологічного чи генетичного маніпулювання рівнем активності глутамінази? Протокол Чанса і Вільямса без перебільшення класичний, і мабуть він неодноразово був об'єктом для розроблення спеціалізованого програмного*

забезпечення. Дуже поверховий пошук в мережі Інтернет привів до однієї такої спроби, OxyTrace. Чи мали ви змогу порівняти свої розробки з наявними?)

Доктор біологічних наук, професор кафедри екології Антоняк Галина Леонідівна *(Чим ви пояснюєте відсутність змін маси тварин і біохімічного складу крові за умов високожирової дієти? Який механізм зниження секреції підшлункової залози за дії алкоголю?)*

Доктор біологічних наук, доцент Іскра Руслана Ярославівна *(Яким чином лізин, аргінін і глутамін спричиняють некроз ізольованих панкреатичних ацинусів? Який механізм індукції аргініном гострого панкреатиту? Обґрунтуйте, чому саме 7 тижнів досліджували вплив жирів і цукру, а також 14 днів - введення алкоголю? Чи будете ви рекомендувати чи патентувати розроблені вами алгоритми і програмні пакети для аналізу даних записів споживання кисню та флуоресцентних фотографій клітин?)*

ВИСТУПИЛИ:

Рецензент, доктор біологічних наук, доцент Гачкова Галина Ярославівна:

Дисертаційна робота присвячена дослідженню адаптаційної здатності мітохондрій за різноманітних фізіологічних і патологічних умов: за впливу різних субстратів окиснення, холецистокініну, етанолу і раціонів харчування. Мітохондрії – це органели, в яких утворюється АТФ і це визначає їх дуже важливу роль не лише в метаболізмі, а й забезпеченні енергозалежних життєво важливих процесів, які реалізуються в організмі. Особливо важливою є роль мітохондрій для тих органів, у яких високі енергетичні потреби, серед яких є підшлункова залоза. За патологічних умов, зокрема, гострого панкреатиту, відбувається ушкодження клітин підшлункової залози, розвивається дисфункція мітохондрій, що призводить до енергетичного дефіциту, посилення оксидативного стресу, посилюються запальні процеси і все це погіршує перебіг захворювання. Тому, дослідження зв'язку між мітохондріями і панкреатитом дає змогу зрозуміти механізми розвитку цього захворювання і шукати нові підходи до лікування.

Дисертаційна робота дуже об'ємна, охоплює дванадцять завдань. Вона виконувалась в рамках наукової тематики кафедри фізіології людини і тварин. У роботі використані адекватні, різноманітні і сучасні методи, які дали змогу досягти поставленої мети роботи. Позитивним моментом є те, що дисертант адаптував методику полярографічного визначення споживання кисню за дослідження дихання клітин шляхом автоматизації аналізу даних, що дало змогу мінімізувати вплив небажаних чинників, отримати точніший результат і за коротший термін. Також запропоновано новий параметр – стабільність роз'єднаного дихання, який є

запатентований. За результатами опубліковано 48 наукових праць, серед яких статті у журналах, що належать до другого і четвертого квартилів.

Попри загальне позитивне враження від роботи в мене виникли деякі зауваження. Мету роботи варто сформулювати чіткіше, конкретизувати за яких умов оцінюється адаптаційна здатність мітохондрій. Також варто перевірити квартилі журналів, в яких опубліковано результати роботи, бо у тексті вказано про наявність 3 статі у виданнях, що віднесених до першого і другого квартилів (Q1 і Q2), а у переліку публікацій, вказано лише Q2. У роботі використано некоректний вислів: визначення витоку з цитоплазми лактатдегідрогенази. Варто також відобразити у роботі, на базі якої установи проводили високоефективну рідинну та газорідинну хроматографію.

В цілому, дисертаційна робота Манька Богдана на тему «Адаптаційна здатність мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози та гепатоцитів щурів» містить елементи новизни, має практичне значення, за актуальністю, об'ємом виконаних досліджень і їх методичним рівнем відповідає вимогам до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.02 –біохімія – і може бути рекомендована до офіційного захисту.

Рецензент, доктор біологічних наук, доцент Іскра Руслана Ярославівна:

Дисертація присвячена вивченню адаптаційної здатності мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози та гепатоцитів щурів за різних умов енергетичного забезпечення, впливу холецистокініну, етанолу й різних раціонів харчування. Досліджено залежність адаптаційної здатності мітохондрій ізольованих панкреатичних ацинусів і гепатоцитів від субстратів окиснення. Виявлено, що стабільність роз'єднаного дихання залежить від життєздатності ацинарних панкреацитів та способу виділення гепатоцитів. З'ясовано про адаптацію мітохондрій печінки до хронічного введення етанолу, а також відсутність негативного впливу етанолу *in vivo* на адаптаційну здатність мітохондрій підшлункової залози щурів.

Крім цього дисертантом були розроблені алгоритми і програмні пакети для аналізу даних записів споживання кисню та флуоресцентних фотографій клітин, що забезпечило високу точність і швидкість аналізу результатів. Отримані дисертантом результати дають підстави для застосування деяких субстратів окиснення та амінокислот, таких як піруват, глутамат, аланін, як підтримуючої терапії пацієнтів з гострим панкреатитом. Основні положення дисертаційної роботи були представлені на міжнародних наукових конференціях та в повній мірі відображені в 16 наукових статтях. Причому 3 з них опубліковані у виданнях, що віднесених до другого квартилю (Q2) та 7 статей – у журналах четвертого квартилю (Q4). Також є 3 патенти України на корисну модель.

Дисертація має новизну, результати можуть мати практичне значення у медицині при лікуванні захворювань печінки та підшлункової залози. При виконанні роботи використані сучасні фізіологічні, біохімічні, фізико-хімічні, математичні і статистичні методи. У дисертації представлено 12 висновків, у яких відображені основні результати досліджень. Матеріали дисертаційної роботи викладено на 254 сторінках і проілюстровані 72 рисунками та 22 таблицями. Список використаних джерел включає 353 найменувань.

Висловлюючи позитивну оцінку дисертаційної роботи в цілому, необхідно зробити окремі зауваження, що були виявлені в період її аналізу. У роботі є багато технічних помилок, що свідчить про те, що роботу слід добре вичитати. Дослідження адаптації мітохондрій сперміїв щурів на мою думку є зайвим, оскільки це не стосується теми дисертаційної роботи. Підрозділ 2.3. слід більше конкретизувати і розписати, який із дослідів проводився на яких тваринах, скільки тварин було у групах. Можливо досліди слід пронумерувати. Особливо уточнення стосуються схеми проведення хронічних дослідів. Наприклад за моделювання гострого панкреатиту пишете «частині тварин через 72 години розпочинали вводити натрій піруват». Якій частині, скільком тваринам і яким саме тваринам - щурам чи мишам? У розділі узагальнення результатів, на мій погляд, не слід описувати методологічні проблеми, які у вас виникали при виконанні роботи. Можливо їх краще подати у 2 розділі – Матеріали і методи. У висновках бракує узагальнюючого висновку чи рекомендацій про практичне застосування результатів. Зайвим, на мою думку, є подавати список літератури після кожного підрозділу у 3 розділі, достатньо написати, що результати опубліковані у роботах і дати посилання на нумерацію у списку літератури.

Однак, виявлені недоліки та упущення суттєво не впливають на науковий і методичний рівень дисертаційної роботи, а тому не зменшують теоретичного і практичного значення одержаних результатів. Тому дисертаційну роботу Манька Богдана Олексійовича «Адаптаційна здатність мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози та гепатоцитів щурів», можна рекомендувати до захисту на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.02 – біохімія.

Доктор біологічних наук, доцент Осташ Богдан Омелянович

Доступність дієти, багатої на прості вуглеводи та жири, а також зловживання алкоголем призводять до низки тяжких розладів травної системи, як-от ожиріння, панкреатит, цироз печінки та неалкогольна хвороба печінки. Ця проблема стосується фактично усіх розвинутих країн, гостро постала і в Україні. Сьогодні є достатньо доказів того, що у спільному знаменнику всіх вищезгаданих розладів та захворювань є і порушення належного функціонування мітохондрій. Просто кажучи, мітохондрії, метаболізм яких, вірогідно,

оптимізований еволюційно, не налаштовані на утилізацію нетипових метаболітів, які виникають унаслідок домінування "західної" дієти та алкоголю. Дисертаційна робота Манька Б.О. скерована на вивчення того, як мітохондрії ацинарних клітин підшлункової залози та печінки (гепатоцитів) функціонують за різних умов (типу дієти, енергетичних субстратів, методологія експерименту), що згодом допоможе у виявленні сполук і підходів до захисту мітохондрій, терапії чи попередження вищеозначених захворювань. Немає відтак сумніву, що тема роботи актуальна як з фундаментальної так і практичної точок зору.

Дисертація, в обсязі 256 сторінок, має традиційну структуру – вона складається зі вступу; огляду літератури; матеріалів і методів; результатів з їхнім первинним обговоренням; узагальненого обговорення; висновків; переліку літературних джерел. У вступі здобувач стисло і переконливо окреслює зміст та актуальність проблеми (про що, до слова, свідчить і фінансування у рамках низки бюджетних та ґрантових програм), формулює мету, об'єкт і предмет дослідження. В огляді літератури здобувач описує традиційну процедуру вимірювання функції мітохондрій, і складнощі, які постають у ході виконання цієї процедури. Далі викладена наявна інформація про біоенергетику клітин печінки, й місце мітохондрій у патологіях функціонування цього органу травної системи. Завершує огляд літератури опис біоенергетичних процесів у ацинарних клітинах підшлункової залози. Розділ "Матеріали і методи" дає докладне розуміння використаних у роботі реактивів та методів. Результати досліджень щедро ілюстровані – цей підрозділ містить 70 рисунків й 20 таблиць. Кожен підрозділ результатів супроводжується підсумком і переліком публікацій здобувача, де він оприлюднив відповідні результати. Список використаних літературних джерел містить 353 посилання, усі – англомовні, серед них левова частка опублікована в останні два десятиліття.

Основні наукові положення, висновки і рекомендації дисертаційної роботи повністю викладені в опублікованих працях здобувача, яких 48, з них три патенти України на корисну модель. Решта 45 наукових праць включають 16 статей у фахових виданнях (3 – у закордонних журналах з імпакт-фактором), і 29 тез доповідей у матеріалах конференцій та з'їздів. Наукові праці у трьох закордонних виданнях входять до квартилів Q1-Q2 згідно класифікації Scimago Journal and Country Rank, ще сім публікацій в українських журналах входять до Q4. Результати також оприлюднені у 34 тезах доповідей. Сумарний імпакт фактор наукових праць за темою дисертації на момент їхнього оприлюднення – 8,8.

Текст дисертаційної роботи має цілісну та логічну структуру, в ній високому рівні викладений великий обсяг експериментальних даних, що отримані з використанням сучасних і доречних методів. Щодо останніх, то робота ґрунтується на широкому меню експериментальних підходів клітинної біології, фізіології (передусім електрофізіології),

мікроскопії, біохімії, молекулярної біології, статистичного аналізу та програмування на мові Python 3.12.

Предметом роботи була адаптаційна здатність мітохондріальних окисних процесів ацинарних клітин підшлункової залози та гепатоцитів. Як випливає з назви і змісту дисертації, експериментальною моделлю слугували щури, на яких виконували низку експериментів in vivo. З щурів отримували ацинуси та гепатоцити, а з них (за потреби) – мітохондрії. На клітинах і органелах виконували експерименти in vitro. У методологічному вимірі, в цій роботі вперше створене й описане використання спеціалізованого програмного забезпечення для аналізу даних записів споживання кисню та флуоресцентних фотографій клітин. Це дало змогу автоматизувати аналіз, при повному збереженні його точності та об'єктивності. Ця робота є також першою спробою систематично оцінити вплив різних субстратів окиснення на адаптаційну здатність мітохондрій досліджуваних клітин. Цю здатність в роботі оцінювали за швидкістю та стабільністю роз'єднаного дихання. Останнє – похідне швидкості транспортування і метаболізму екзогенних субстратів. Систематичний аналіз субстратів окиснення дав змогу підібрати ті, що підтримують найвищу адаптаційну здатність мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози. Ацетилхолін, холецистокінін та інсулін стимулюють окисні шляхи у ацинарних клітинах підшлункової залози: зростає швидкість базального та максимального дихання. Усебічні дослідження здобувача також дають підстави вважати, що гострі токсичні впливи етанолу і первинного агоніста холецистокініну, виявлені на ізольованих ацинарних клітин у низці досліджень, можуть бути насправді нерелевантними щодо появи і розвитку гострого панкреатиту. Уперше виконаний систематичний скринінг амінокислот як безпечного джерела енергії для панкреатичних ацинусів, який, серед іншого, привів до ідентифікації аланіну як перспективної сполуки. Показана протекторна роль пірувату за умов аргінін-індукованого гострого панкреатиту; аналогічні впливи цієї речовини спостерігали і щодо гепатоцитів. Результати досліджень також уперше засвідчують неоднозначність усталеного тлумачення механізму впливу етанолу на гепатоцити за різних експериментальних умов. Результати усіх досліджень здобувача спонукали його висунути пропозицію використовувати стабільність роз'єднаного дихання як новий критерій життєздатності клітин.

Як підсумок, в дисертаційній роботі використані сучасні і доречні експериментальні методи. Висновки і припущення ґрунтуються на великій кількості експериментів та їхній вичерпній статистичній обробці. Отримані здобувачем дані внутрішньо узгоджені, вони також узгоджуються з результатами інших авторів. Це засвідчує достовірність результатів, обґрунтованість наукових висновків, новизну, наукову й практичну цінність висновків роботи.

Зауважень до поставлених завдань, змісту експериментів, методології чи тлумачення результатів дисертаційної роботи Богдана Олексійовича немає. Нижче перелічені зауваження,

що стосуються головно стилістики й оформлення дисертації, а також питання-побажання щодо перспектив розвитку тематики дисертації. В огляді літератури здобувач віддав перевагу описові експериментальних протоколів та явищ, не вдаючись до рисунків. З розрахунку на експертну аудиторію такий підхід виправданий, однак він ускладнює розуміння матеріалу нефахівцями у біоенергетиці. У тексті дисертації трапляються одруки і невдалі вирази. Наприклад, на стор. 22 згадуються "генетичні дефекти білків" – словосполучення, в якому концепція, що стосується лише генетичного матеріалу (генетичний дефект = мутація) застосована до білка. Коректніше буде "генетичні (спадкові) зміни (мутації), що призводять до дефектних білків….." Наразі пакет програм і макросів, що описаний у дисертації, був оприлюднений як тези доповідей на конференції. Для здобувача має сенс подати ці результати у спеціалізоване видання, яке, у ході рецензування, забезпечить фахову перевірку виконаної роботи.

Наведені зауваження жодним чином не впливають на загальну високу оцінку розглянутої роботи. Без сумніву, дисертація є завершеним актуальним дослідженням і містить низку важливих фундаментальних наукових і практичних результатів, а її автор демонструє високу кваліфікацію, що відповідає рівню доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.02 – біохімія. Вважаю, що дисертацію Манька Богдана слід рекомендувати до офіційного захисту.

З оцінкою дисертації також виступили присутні на фаховому семінарі, зокрема,

Член-кореспондент НАН України, завідувач відділу регуляції проліферації клітин і апоптозу Інституту біології клітини НАН України, доктор біологічних наук (спеціальність – біохімія), професор Стойка Ростислав Стефанович: Робота виконана на кафедрі фізіології людини і тварин, однак за методами і моделями, які використані, у значній мірі є біохімічною. Автор представив дуже велику кількість наукових результатів, що стосуються актуальних питань мітохондріального метаболізму підшлункової залози і печінки. Результати роботи опубліковані у фахових журналах, зокрема й у виданнях Scopus другого квартилю. Втім, я би порадив структурувати роботу і чіткіше висвітлити основні положення роботи, що виносяться на захист, а також у актуальності конкретизувати проблеми, які вирішувались у роботі. Варто переосмислити представлення завдань роботи, щоб вони були більш послідовно пов'язані між собою. Тим не менше, ці зауваження і побажання не знижують наукової цінності роботи, а націлені виключно на покращення подачі матеріалу і сприйняття його членами спеціалізованої вченої ради.

Немає сумнівів, що дисертаційна робота Манька Богдана Олексійовича на тему «Адаптаційна здатність мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози та гепатоцитів щурів» містить елементи новизни, має практичне значення та за актуальністю, об'ємом

виконаних досліджень та методичним рівнем відповідає вимогам до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.02 – біохімія. Роботу слід рекомендувати до подання у спеціалізовану вчену раду.

Завідувач кафедри фізіології людини і тварин, доктор біологічних наук, професор Манько Володимир Васильович: Робота виконана в межах наукової школи кафедри фізіології людини і тварин «Біоенергетика та електрофізіологія секреторних клітин». Лозунгом цієї школи можна вважати тезу «від властивостей клітинних структур до функцій на рівні організму». Заслухана сьогодні робота повністю відповідає тим підходам, що сформувались в нас на кафедрі. Дослідження проведені з використанням сучасних методів, не зупиняється на клітинному рівні, які легше пояснити, а намагаються пояснити процеси на рівні організму, що завжди викликає більші труднощі.

Вважаю, що у значній мірі наука біоенергетика сформувалась як біоенергетика печінки з огляду на методичну зручність отримання великої кількості ізольованих мітохондрій з цього органу. Та й загалом, фундаментальні біохімічні дослідження метаболізму переважно виконані саме на печінці щурів. І ці знання зазвичай переносяться на інші органи, що, на мою думку, неправильно. У кожної тканини є своя стратегія використання енергетичних субстратів, виходячи з особливостей їх функцій. У цій дисертацій виконано порівняння процесів різних тканин, печінки і підшлункової залози, про яку забуваємо. І дійсно, мітохондрії підшлункової залози виявилась більш чутливими до дії алкоголю, ніж печінки.

Дисертант має риси характеру, що є важливими для науковця. Це критичний підхід та скрупульозність у виконанні експериментів. Він ставить під сумнів результати не лише своїх співвиконавців, а й власних досліджень, поки не переконається у надійності отриманих даних. Він вдосконалює методи, коли вони не відповідають його високим вимогам. І ця дисертаціє є результатом такого підходу, і це свідчить про його високий професійний рівень. Не викликає сумнівів висока наукова цінність результатів роботи та її біохімічний нахил. Рекомендую звернутись у спеціалізовану вчену раду для захисту дисертації.

З характеристикою здобувача виступив науковий консультант, завідувач кафедри біофізики і біоінформатики, доктор біологічних наук, професор **Бабський Андрій Мирославович**: Манько Б. О. навчався в докторантурі кафедри фізіології людини і тварин Львівського національного університету імені Івана Франка у 2022–2023 рр.. За цей час він закінчив експериментальну частину своєї роботи та підготував докторську дисертацію на тему «Адаптаційна здатність мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози та гепатоцитів щурів» по спеціальності 03.00.04 – біохімія.

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 та низки міжнародних програм.

Автором роботи апробовано програмний пакет, для швидкого і точного аналізу процесу дихання ізольованих клітин та мітохондрій. Також розроблено декілька простих і швидких алгоритмів для сегментації клітин та аналізу їх флуоресценції. Ці підходи корисні для забезпечення точного, швидкого та неупередженого аналізу експериментальних даних.

На підставі літературного огляду, використаних у роботі методів та методичних підходів, а головно отриманих результатів можна констатувати, що робота Манька Б.О. присвячена актуальним питанням в області медико-фізіологічних проблем. Отримані результати є новими, а їх достовірність підтверджена адекватним статистичним аналізом удосконаленим автором. Висновки та рекомендації логічно випливають з результатів роботи. Результати, висновки та рекомендації повністю викладені в наукових публікаціях. Під час виконання роботи та навчання в докторантурі здобувач дотримувався принципів академічної доброчесності.

Богдан Олексійович Манько проявив себе як талановитий, дисциплінований і креативний молодий науковець з високим науковим, адміністративним і педагогічним потенціалом.

На підставі вище сказаного та згідно вимог постанови Кабінету Міністрів України від 17 листопада 2021 р. № 1197 констатую, що Богдан Олексійович Манько успішно закінчив навчання в докторантурі, вчасно оформив і представив до захисту докторську дисертацію на тему «Адаптаційна здатність мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози та гепатоцитів щурів», яка за актуальністю, новизною та достовірністю отриманих результатів і практичною цінністю відповідає вимогам до докторських дисертацій по спеціальності 03.00.04 – біохімія.

Заслухавши та обговоривши доповідь Манька Богдана Олексійовича, прийнято рішення рекомендувати роботу до захисту та прийнято висновок щодо дисертації «Адаптаційна здатність мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози та гепатоцитів щурів».

Голосували:

«ЗА» – 17,

«ПРОТИ» – немає,

«УТРИМАЛИСЬ» – немає.

ВИСНОВОК

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення
результатів дисертації «Адаптаційна здатність мітохондрій
ацинарних клітин підшлункової залози та гепатоцитів щурів»
здобувача ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.02 – біохімія
Манька Богдана Олексійовича

1. Актуальність теми дисертації

Тяжкі хвороби підшлункової залози та печінки, пов'язані з вживанням алкоголю та ожирінням, призводять до високої смертності серед населення. Рівень захворюваності на гострий панкреатит та цироз у Європі постійно зростає, особливо у країнах східної Європи, де причиною є зростання вживання алкоголю. Іншим фактором є вживання високої кількості жирів та легкозасвоюваних вуглеводів, що веде, серед іншого, до розвитку неалкогольної хвороби печінки та жирового переродження підшлункової залози. Вважають, що механізми ушкодження та недостатньої адаптації мітохондрій є центральним процесом у ході розвитку цих захворювань підшлункової залози і печінки. Однак досі не створено специфічних терапевтичних агентів для лікування цих захворювань, які б захищали мітохондрій від дії чинників захворювання чи покращували забезпечення процесів мітохондріального окиснення.

Важко переоцінити роль мітохондрій у забезпеченні функціонування ацинарних клітин підшлункової залози і гепатоцитів. В обох типах клітин окисне фосфорилювання, поряд із гліколізом, є основним джерелом синтезу АТФ, необхідного для забезпечення клітинних процесів. Мітохондрії також залучені у процесах Ca^{2+}-сигналювання регуляції клітинної смерті та у багатьох метаболічних шляхах.

Інтенсивність мітохондріального дихання і окисного фосфорилювання не є постійною: вона залежить від потреб клітин у АТФ і тонко регулюється багатьма механізмами. Рівень базального дихання у стані спокою клітини відображає лише незначну частку здатності мітохондрій до окисного фосфорилювання. Таку максимальну здатність, яка характеризує адаптаційні можливості мітохондрій, прийнято оцінювати за допомогою протонофорів. Максимальне роз'єднане дихання є важливим експериментальним параметром, який корелює зі станом клітини. У ацинарних панкреацитах воно знижується при аноксії та експериментальному панкреатиті. У печінці мишей відбувається збільшення експресії компонентів дихального ланцюга й зростання максимального роз'єднаного дихання як адаптація до хронічного введення етанолу. Відтак слід покращувати розуміння механізмів адаптації мітохондрій до високих навантажень.

Актуальним питанням є роль амінокислот у функціонуванні екзокринної частини підшлункової залози та розвитку її захворювань. Інтенсивний транспорт та метаболізм амінокислот необхідний не лише для постійного синтезу і секреції травних ферментів, а й

забезпечення енергетичних потреб ацинарних клітин. Генетично зумовлені дефекти білків, що забезпечують ці процеси, спричиняють часті випадки гострого панкреатиту. Крім того, відомим побічним наслідком терапії лейкемії препаратом аргінази є гострий панкреатит. У пацієнтів з панкреатитом спостерігаються суттєві зміни амінокислотного складу плазми. Тому розглядають можливість терапії панкреатиту шляхом додаткового введення деяких амінокислот в організм пацієнта. З іншого боку, аргінін, лізин, орнітин та деякі інші амінокислоти у високих дозах можуть спричиняти панкреатит на моделях тварин, а також у людей. Механізмом токсичного впливу амінокислот на підшлункову залози може бути ушкодження мітохондрій. Тому необхідним є глибше дослідження процесів мітохондріального окиснення амінокислот у підшлунковій залозі.

2. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

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 «Ca2+-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), проєкту проєкту у межах робочого часу викладачів «Транскрипційна і функціональна адаптація мітохондрій підшлункової залози та печінки до дієтарних чинників» (2021–2023 рр., № держреєстрації 0123U110302), проєкту «Механізми реалізації окисного потенціалу мітохондрій клітин підшлункової залози, печінки та лімфоми NK-Ly» (2015–2016 рр), фінансованого компанією «Material Phases Data System» і проєкту «State of rat pancreatic mitochondria in situ at experimental acute pancreatitis» (2013–2014 рр), фінансованого Західно-Українським центром біомедичних досліджень (West-Ukrainian BioMedical Research Center – WUBMRC).

3. Особистий внесок здобувача

Автором особисто проведено пошук та аналіз літератури, розроблено методологію експериментальних досліджень, сформульовано основні положення дисертації, здійснено підготовку рукопису. Експерименти виконані дисертантом особисто або за безпосередньої участі. Планування роботи та обговорення частини отриманих результатів, підготовка деяких рукописів до публікації здійснювались спільно з науковим консультантом, проф. Бабським Андрієм Мирославовичем. Співучасть працівників кафедри фізіології людини і тварин

Львівського національного університету імені Івана Франка та партнерів висвітлено у спільних публікаціях.

4. Достовірність та обґрунтованість отриманих результатів та запропонованих автором рішень, висновків, рекомендацій

Усі результати експериментів, наукові положення і висновки є власним авторським доробком дисертанта. Результати були отримані за допомогою комбінації сучасних методів, різноманітних експериментальних підходів з використанням адекватних статистичних методів, є науково обґрунтованими і надійними. Результати роботи опубліковано у фахових виданнях після проходження кваліфікованого рецензування, апробовано на багатьох вітчизняних і міжнародних конференціях. Наведені у роботі висновки логічно підсумовують зміст роботи.

Дисертаційна робота виконана з дотриманням Європейських та вітчизняних законів що регулюють гуманне поводження з тваринами, що було підтверджено комісією з питань біоетики біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка (Акт № 49-03-2025).

5. Ступінь новизни основних результатів дисертації порівняно з попередніми дослідженнями

Запропоновано новий підхід до дослідження адаптаційної здатності мітохондрій ізольованих клітин, що полягає у поєднанні дослідження максимальної швидкості і стабільності роз'єднаного дихання. Вперше продемонстровано, що наявність додаткових субстратів окиснення у середовищі підвищує стабільність роз'єднаного дихання, а зниження стабільності спостерігається за неоптимальних умов *in vitro* для клітин: виділення гепатоцитів шляхом перфузії печінки *in vitro*, отримання менш життєздатних препаратів панкреатичних ацинусів, а також за дії малату, ізоцитрату чи амоній хлориду. Вперше доведено, що зростання максимальної швидкості роз'єднаного дихання ацинарних панкреацитів за стимуляції холецистокініном чи ацетилхоліном проявляється лише за наявності піруват у середовищі, а у випадку дії інсуліну – за окиснення глюкози. Виявлено антагоністичний вплив інсуліну на стимульоване холецистокініном роз'єднане дихання. Активація пори перехідної провідності йонами Ca^{2+} в першу чергу пригнічує окисне фосфорилювання, а потім максимальну швидкість роз'єднаного дихання пермеабілізованих гепатоцитів.

Вперше здійснено систематичне порівняння особливостей адаптаційної здатності мітохондрій ізольованих панкреатичних ацинусів і гепатоцитів за різних умов. Виявлено, що найвища адаптаційна здатність мітохондрій панкреатичних ацинусів щурів за окиснення суміші піруват з глутаміном або глутамату, а гепатоцитів – за окиснення піруват або сукцинату. На моделі щурів підтверджено раніше відоме у мишей адаптаційне підвищення

окисної здатності мітохондрій печінки до хронічного введення етанолу. Вперше виявлено, що мітохондрії ацинарних клітин підшлункової залози нечутливі до хронічного введення етанолу. Також досліджено, що високий вміст жиру або жиру і цукру у кормі тварин за умов відсутності ожиріння не чинить значного впливу на адаптаційну здатність мітохондрій підшлункової залози і печінки.

Експериментально обґрунтовано можливість використання піровату, глутаміну, глутамату і аланіну для забезпечення високої адаптаційної здатності мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози і підвищення їх стійкості до патогенних факторів. Вперше виявлено, що піруват та глутамін *in vitro* здатні захищати ацинарні панкреацити від некрозу за токсичної дії етанолу і холецистокініну, а введення піровату щурам з моделлю аргінін-індукованого гострого панкреатиту покращує амінокислотний склад плазми крові. Вперше проведений скринінг амінокислот показав, що мітохондрії ацинарних панкреацитів здатні окиснювати глутамат, глутамін, аланін, лізин і аспартат, але не аспарагін, аргінін чи гістидин. Вперше виявлено, що глутамін у високій концентрації спричиняє набрякання, блебінг та некроз ацинарних клітин підшлункової залози щурів, а лізин і аргінін – лише некроз. Доведено нетоксичність високих концентрацій глутамату, аланіну і гістидину для ацинарних клітин підшлункової залози *in vitro*.

6. Перелік наукових праць, які відображають основні результати дисертації

За темою дисертації опубліковано 48 наукових праць, в тому числі 16 статей у фахових виданнях (серед них 3 статі у виданнях, що віднесених до другого квартилю (Q2) та 7 статей у журналах четвертого квартилю (Q4), 3 патенти на корисну модель і 29 тез доповідей на конференціях.

Статті:

1. Merlavsky V. M., **Manko B. O.,** Ikkert O. V., Manko V. V. Experimental substantiation of permeabilized hepatocytes model for investigation of mitochondria in situ respiration // Ukr. Biochem. J. – 2015. – Vol. 87(6). – P. 113–121. *(Scopus; Q4; Особистий внесок здобувача: планування і виконання експериментів, аналіз даних, участь у написанні рукопису і підготовці статті до друку).*
2. **Manko B.O.,** Bilonoha O.O., Manko V.V. Adaptive respiratory response of rat pancreatic acinar cells to mitochondrial membrane depolarization // Ukr. Biochem. J.– 2019. – Vol. 91, № 3. – P. 34–45 *(Scopus; Q4; Особистий внесок здобувача: планування експериментів, аналіз даних, написання рукопису, участь у виконанні експериментів і підготовці статті до друку).*
3. Mazur H.M., Merlavsky V.M., **Manko B.O.,** Manko V.V. Dependence of the mitochondrial adaptive capacity of hepatocytes on the oxidative substrates availability // Ukr. Biochem. J. – 2019. – Vol. 91(6). – P. 5–14. *(Scopus; Q4; Особистий внесок здобувача: планування експериментів, участь у аналізі даних, написанні рукопису і підготовці статті до друку).*
4. Білонога О.О., **Манько Б.О.,** Манько В.В. Влив ацетилхоліну та холецистокініну на адаптаційну здатність мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози // Фізіол. журн. – 2019. – Т. 65, № 4. – С. 73–81. *(Фахове видання України, категорія А;*

Особистий внесок здобувача: планування експериментів, аналіз даних, участь у написанні рукопису і підготовці статті до друку).

5. Мазур Г.М., Мерлавський В.М., **Манько Б.О.,** Манько В.В. Залежність адаптаційної здатності мітохондрій печінки від способу виділення клітин // Вісник Львів. ун-ту. Сер. біол. – 2020. – Вип. 82. – С. 177–185. *(Фахове видання України, категорія Б; Особистий внесок здобувача: планування експериментів, аналіз даних, участь у написанні рукопису і підготовці статті до друку).*
6. Bilonoha O., **Manko B.O.,** Manko V. Effects of insulin on adaptive capacity of rat pancreatic acinar cells mitochondria // Вісник Львів. ун-ту. Сер. біол. – 2020. – Випуск 83. – С. 24–30. *(Фахове видання України, категорія Б; Особистий внесок здобувача: планування експериментів, аналіз даних, участь у написанні рукопису і підготовці статті до друку).*
7. Mazur H. M., Merlavsky V. M., **Manko B.O.,** Manko V. V. mPTP opening differently affects electron transport chain and oxidative phosphorylation at succinate and NAD-dependent substrates oxidation in permeabilized rat hepatocytes // Ukr. Biochem. J. – 2020. – Vol. 92(4). – P. 14–23. *(Scopus; Q4; Особистий внесок здобувача: участь у плануванні експериментів, аналізі даних, написанні рукопису і підготовці статті до друку).*
8. **Manko B.O.,** Bilonoha O.O., Voloshyn D.M., Zub A.M., Ivasechko I.I., Manko V.V. Pyruvate and glutamine define the effects of cholecystokinin and ethanol on mitochondrial oxidation, necrosis, and morphology of rat pancreatic acini // Pancreas. – 2021. – Vol. 50 (3). – P.972–981. *(Scopus, WoS, **IF=2,9**, **Q2**; Особистий внесок здобувача: планування експериментів, аналіз даних, написання рукопису, участь у виконанні експериментів і підготовці статті до друку).*
9. Zub A., Manko O.V., **Manko B.O.** The effects of ammonia and glutamine on mitochondrial respiration of rat pancreatic acinar cells // Вісник Львів. ун-ту. Сер. біол. – 2021. – Випуск 84. – С. 105–112. *(Фахове видання України, категорія Б; Особистий внесок здобувача: планування експериментів, участь у написанні рукопису, аналізі даних і підготовці статті до друку).*
10. Zub A, Manko B.V., **Manko B.O.**, Manko V., Babsky A. Uncoupled respiration stability of isolated pancreatic acini as a novel functional test for cell vitality // Biol. Stud. – 2023. – Vol.17(3). – P. 243–252. *(Scopus; Q4; Особистий внесок здобувача: планування експериментів, аналіз даних, участь у написанні рукопису і підготовці статті до друку).*
11. Zub A.M., Ostapiv R.D., **Manko B.O.,** Manko V.V. Sodium pyruvate improves the plasma amino acid profile in rats with l-arginine-induced acute pancreatitis // Amino Acids. – 2023. – Vol. 55. – P. 1447–1454. *(Scopus, WoS, **IF=3,0**, **Q2**; Особистий внесок здобувача: планування експериментів, участь у аналізі даних, написанні рукопису і підготовці статті до друку).*
12. 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, Is. 5. – P. 51–60. *(Scopus; Q4; Особистий внесок здобувача: участь у плануванні експериментів, аналізі даних, написанні рукопису і підготовці статті до друку).*
13. Мазур Г., **Манько Б. О.,** Манько В. В. Вплив етанолу та циклоспорину А на дихання ізольованих гепатоцитів щурів // Вісник Львів. ун-ту. Сер. біол. – 2024. – Вип. 91. – С. 86–91. *(Фахове видання України, категорія Б; Особистий внесок здобувача: планування експериментів, участь у написанні рукопису, аналізі даних і підготовці статті до друку).*
14. Bilonoha O.O., Mazur H.M., **Manko B.O.,** Kulachkovsky O.R., Manko V.V. Effect of long-term ethanol consumption and a high-fat diet on mitochondrial respiration in rat pancreatic acinar cells and hepatocytes // Ukr.Biochem .J. – 2024. –Vol. 96, Is. 4. – P. 25–32. *(Scopus; Q4; Особистий внесок здобувача: плануванні експериментів, аналіз даних, участь у написанні рукопису і підготовці статті до друку).*

15. Zub A.M., **Manko B.O.,** Manko V.V. Screening of amino acids as a safe energy source for isolated rat pancreatic acini // Pancreas. – 2024. – Vol 53 (8). – P. e662–e669. *(Scopus, WoS, **IF=2,9**, **Q2**; Особистий внесок здобувача: планування експериментів, участь у аналізі даних, виконанні експериментів, написанні рукопису і підготовці статті до друку).*
16. Bilonoha O., Manko B.O., Mazur H., Manko V. Effects of acute alcohol intoxication on the respiration and dehydrogenase activity of rat pancreatic acini // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2024. – Вип. 92. – С. 132–137.

Патенти:

1. Пат. 60528 Україна, МПК (2011.01), G01N 33/50 (2006.01), A01N 61/00. Спосіб дослідження дихання мітохондрій in situ / Манько В.В., **Манько Б.О.,** Мерлавський В.М., Великопольська О.Ю. ; заявник і власник Львівський національний університет імені Івана Франка. – № u201013449; заявл. 12.11.2010 ; опубл. 25.06.2011, Бюл. № 11. – 6 с.
2. Пат. 118816 Україна, МПК, G01N 33/483 (2006.01), C12N 5/071 (2010.01). Спосіб оцінки функціонального стану мітохондрій / **Манько Б.О.,** Сідорова О.О., Манько В.В. ; заявник і власник Львівський національний університет імені Івана Франка. – № u201702649; заявл. 21.03.2017 ; опубл. 28.08.2017, Бюл. № 16. – 5 с.
3. Пат. 118820 Україна, МПК, G01N 33/00. Спосіб підвищення енергозабезпечення ацинарних клітин підшлункової залози / **Манько Б.О.,** Сідорова О.О., Манько В.В. ; заявник і власник Львівський національний університет імені Івана Франка. – № u201702662; заявл. 21.03.2017 ; опубл. 28.08.2017, Бюл. № 16. – 6 с.

7. Апробація основних результатів на конференціях, симпозіумах тощо:

Основні положення дисертаційної роботи були представлені на XI, XII, XIII, XIV, XV, XVI, XVII, XVIII, XIX та XX міжнародних наукових конференціях студентів та аспірантів "Молодь і поступ біології" (Львів, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021, 2022, 2023, 2024); VI, VII і VIII з'їздах Українського біофізичного товариства (2015, 2018, 2019); Третьому Київському міжнародному симпозіумі "Smooth Muscle Physiology, Biophysics and Pharmacology" (Київ, 2017); VIII Міжнародної наукової конференції, присвяченої 175-річчю кафедри фізіології та анатомії людини та тварин Київського національного університету імені Тараса Шевченка (Київ, 2017); XX з'їзді Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвячений 95-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка (Київ, 2019).

8. Структура дисертації, її мова та стиль викладу

Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів досліджень та їх обговорення, узагальнення і критичного аналізу результатів, висновків і списку цитованої літератури. За структурою, мовою та стилем викладу відповідає вимогам МОН України.

9. Висновки

Дисертації заслухано і обговорено на фаховому семінарі кафедр фізіології людини і тварин, біохімії, біофізики та біоінформатики, генетики біологічного факультету Львівського національного університету імені Івана Франка. Загалом дисертаційна робота Манька Б.О. "Адаптаційна здатність мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози та гепатоцитів щурів" є завершеною науковою працею в межах поставлених завдань, і може бути представлена до офіційного захисту.

УХВАЛИЛИ:

1. За актуальністю, обсягом роботи, новизною та достовірністю отриманих результатів, обґрунтованістю висновків і практичною цінністю дисертаційна робота Манька Богдана Олексійовича «Адаптаційна здатність мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози та гепатоцитів щурів» відповідає вимогам «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 17 листопада 2021 р. № 1197.
2. Дисертація відповідає спеціальності 03.00.02 – біохімія.
3. Наукові праці Манька Б.О., опубліковані за результатами дисертаційної роботи, за кількістю і якістю відповідають п. 8 «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 17 листопада 2021 р. № 1197.
4. Рекомендувати дисертаційну роботу Манька Богдана Олексійовича «Адаптаційна здатність мітохондрій ацинарних клітин підшлункової залози та гепатоцитів щурів» для подання до захисту на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук у галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 03.00.02 – біохімія у спеціалізовану вчену раду.

Голова засідання
Завідувач кафедри фізіології людини і тварин,
доктор біологічних наук, професор
Львівського національного університету
імені Івана Франка Володимир МАНЬКО

Рецензенти
Доктор біологічних наук,
доцент кафедри біохімії
Львівського національного університету
імені Івана Франка Галина ГАЧКОВА

Доктор біологічних наук,
доцент кафедри фізіології
людини і тварин
Львівського національного університету
імені Івана Франка Руслана ІСКРА

Доктор біологічних наук,
професор кафедри генетики та біотехнології
Львівського національного університету
імені Івана Франка Богдан ОСТАШ

Підписи проф. Манька В.В, доц. Гачкової Г.Я., доц. Іскри Р.Я. і проф. Осташа Б.О. засвідчую:

Вчений секретар
Львівського національного
Університету імені Івана Франка, доцент Ольга Грабовецька