

До разової спеціалізованої вченої ради ДФ 58.053.041  
Тернопільського національного педагогічного  
університету імені Володимира Гнатюка  
(46027, м. Тернопіль, вул. Максима Кривоноса, 2)

## РЕЦЕНЗІЯ

офіційного рецензента, кандидата біологічних наук,  
доцента кафедри хімії та методики її навчання  
Тернопільського національного педагогічного університету  
імені Володимира ГНАТЮКА  
Володимира ХОМЕНЧУКА

на дисертаційну роботу Тетяни МАЦЬКІВ

«Дослідження ролі металотіонеїнів у запальних процесах на моделях  
двостулкового молюска *Dreissena polymorpha* та лабораторних щурів»,  
подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань  
09 – Біологія, за спеціальністю 091 – Біологія

**Актуальність обраної теми.** В останні десятиліття різко погіршилася екологічна ситуація як у світі в цілому, так і в Україні зокрема. Насамперед це пов'язано із таким глобальними проблемами як зміна клімату, забруднення поверхневих вод органічними та неорганічними токсикантами, витіснення аборигенних інвазивними видами тощо.

Дедалі більше занепокоєння викликає забруднення гідроекосистем мікропластиком (МР) та фармацевтичними препаратами. Все вищесказане з однієї сторони вимагає пошуку методів оцінки негативного впливу нових супертоксикантів на компоненти водних екосистем, а з іншої вивчення біохімічних реакцій гідробіонтів за дії різних концентрацій забруднювачів та змінних умов середовища.

Саме цій проблематиці приурочена дисертаційна робота Тетяни МАЦЬКІВ, в якій авторка проводить дослідження ролі поліфункціональних цинк-депонувальних протеїнів металотіонеїнів у реакції організму на вплив стресорних чинників запальної/антизапальної дії на моделях філогенетично віддалених організмів (молюски та щурі).

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

Дисертаційна робота виконувалась у межах науково-дослідницької програми РНС DNIPRO №46800RK та держбюджетної теми МОН України М/84-2021 (номер державної реєстрації № 0121U113543); М/13-2022 (номер державної реєстрації № 0122U002428) «Імунологічне та біохімічне порівняння резистентності інвазивних і природних двостулкових моллюсків до впливу викликів довкілля» спільно з Університетом Реймса Шампань-Арденни (URCA) (Франція).

**Ступінь обґрунтованості основних положень, висновків та практичних рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Праця написана змістовно, літературною мовою, стиль викладення матеріалу науковий, думки висловлені логічно та послідовно. Дисертанткою досягнуто поставлених теоретичних і практичних завдань, зміст досліджень розкриває проблему, що розглядається, глибина досліджень достатня для обґрунтування гіпотези та формулювання зроблених висновків.

**Структура дисертації.** Дисертаційна робота Тетяни МАЦЬКІВ викладена на 184 сторінках комп'ютерного набору, складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, результатів роботи та їх обговорення, аналізу та узагальнення результатів, висновків, переліку використаних джерел, який включає 286 джерел (з них 285 латиною). Робота ілюстрована 33 рисунками та 8 таблицями.

**Анотація** у повній мірі відображає зміст роботи. Вона не містить тверджень чи ідей, які не наведені в основному тексті дисертації.

**В огляді літератури** проаналізовано механізми впливу мікропластику та кофеїну на водні організми, показано як МР може посилювати токсичну дію інших новітніх забруднювачів водойм. Детально висвітлена структура та властивості металотіонеїнів (МТ), їх функціональне значення. Проаналізовано роль клітинних тіолів та МТ у запальних процесах. Літературний огляд достатньо інформативний, базується на посиланнях останніх років і побудований таким чином, що з нього логічно витікають завдання дослідження.



Розділ «Матеріали та методи» детально висвітлює всі практичні процедури з постановки експериментів та лабораторного аналізу. Авторкою застосовані сучасні методи препаративної біохімії, гістології (визначення статі та інфікування), морфометрії, мікроскопічні (аналіз вмісту мікропластику та кофеїну), гель-розподільча хроматографія (для виділення металотіонеїнів), електрофорез в поліакриламідному гелі (для виділення металотіонеїнів), спектрофотометричні (визначення вмісту металотіонеїнів, акумуляції металів, активності ензимів), методи математичної статистики.

Експериментальні результати та їх обговорення подані в **розділі 3**.

В **підрозділі 3.1** авторкою розглядаються питання впливу імуномодуляторів на властивості МТ аборигенних та інвазивних молюсків та лабораторних щурів. Авторкою доведено залучення МТ у відповідь на стрес-чинники. Реакції МТ аборигенних молюсків на вплив однакових викликів довкілля відрізнялися від відповідей інвазивної популяції, оскільки при впливі усіх чинників (за винятком МР), МТ залучалися до посиленого накопичення Zn, що сприяє його депонуванню та вилучає із пулу лабільної форми для забезпечення інших молекулярних мішеней цього есенціального металу. На моделі гострого запального процесу у щурів було виявлено дисбаланс металованої та апоформ МТ.

Загалом, збільшення частки апо-форми МТ молюсків за впливу кофеїну та МР, а також, при запаленні у щурів свідчить про їх посилену участь як антиоксидантів у захисті клітин.

На прикладі інвазивних молюсків було продемонстровано, що показники акумуляції металів тканинами дрейсени є дуже чутливими, особливо до теплового чинника та комплексної дії. Зменшення співвідношення Zn/Cu у тканинах свідчить про зростання ризику посилення окисних та модуляцію цинк-залежних сигнальних процесів.

В **підрозділі 3.2** дисертантка проаналізувала особливості окисного/редукційного стресу у інвазивних і аборигенних молюсків та лабораторних щурів за впливу на організм імуномодулюючих стресорів.

Порівняння контрольних груп молюсків з двох територій показало, що аборигенна популяція зазнавала меншого стресового впливу. За експозиційних чинників аборигенна популяція виявилася більш вразливою та виявляла меншу резистентність, що відображалось у підвищеній чутливості відповідей GSH та індукції прооксидантних процесів у всіх експозиційних групах аборигенної популяції. Вплив МР викликав активацію Mn-SOD у аборигенних представників та пригнічення імунореактивності у обох популяцій, тоді як експозиція кофеїном давала маловідчутні відповіді за сумою показників у інвазивних молюсків, проте, викликала прояви окисного стресу у аборигенній групі за впливу кофеїну. Поодиноким вплив температури сприяв підвищенню рівня ушкодження протеїнів та зниженню загальної антиоксидантної активності у інвазивній групі при підвищеній температурі.

Дослідження стану суглобових тканин щурів з гострим гонартритом показало дисбаланс антиоксидантної активності, який проявлявся у активації SOD та пригніченні активності каталази. Наслідком цього є пригнічення активності GSH та його нездатність захистити ліпіди від окисних пошкоджень.

У **підрозділі 3.3** авторка досліджує параметри ступеню токсичності імуномодулюючих стресорів на *D. polymorpha* з двох популяцій та лабораторних щурів. Було відмічено підвищені рівні активностей ензимів апоптозу каспази-3 та катепсину Д у контрольній групі інвазивної популяції порівняно з аборигенною, що свідчить про використання апоптозу та аутофагії як стратегії захисту проти пошкоджених клітин, яка спрямована на оновлення популяції в результаті короткочасного життєвого циклу цих організмів. Вплив чинників, особливо тепловий та комбінований, викликав потужну активацію системи апоптозу та функціональної активності лізосом. При цьому, впливи МР, кофеїну та їх суміші на аборигенну популяцію проявлялися активацією каспази-3 при всіх експозиціях, а за впливу суміші відбувався витік катепсину Д з лізосом. При кофеїн-вмісних експозиціях спостерігалась функціональна активізація лізосом у TnCaf-, TnMix- та TnMixT-групах, що можна пояснити активізацією їх біогенезу як адаптивною реакцією на дію експериментальних факторів. У обох популяціях молюсків за поєднаної дії чинників спостерігався синергічний ефект.



Підвищений рівень сіалових кислот у плазмі крові та зниження активності холінестерази у лабораторних щурів доводить тяжкість ураження синовіальної тканини та є ознаками пригнічення процесів регуляції розвитку та ремоделювання кісток за моделі карагенан-індукованого артриту.

**Четвертий розділ** роботи був приурочений аналізу та узагальненню одержаних результатів. Авторкою здійснена досконала статистична обробка результатів дослідження з використанням факторного, дискримінантного, кореляційного аналізу тощо. Проаналізовано міжпопуляційні відмінності у відповідях організму *D. polymorpha* на вплив імуномодуляторів та підвищеної температури. Наведено узагальнюючу схему реакцій досліджуваних показників за впливу МР, кофеїну, нагрівання та сумішей кофеїну та МР за 18 °С та 25 °С на організм двостулкового молюска *D. polymorpha* аборигенної та інвазивної популяцій за характеристиками м'якої тканини при субхронічному експерименті.

Проаналізовано значення металотіонеїнів за впливу імуномодулюючих стресорів. Показано, що у інвазивних популяціях МТ особливою мірою змогли підвищити антиоксидантну та протизапальну активність молюсків, забезпечивши значний внесок у переваги цієї популяції.

Узагальнено результати щодо участі цинку і метал-буферної функції металотіонеїнів у моделі гострого гонартриту. Доведено, що МТ відіграють роль регулятора функцій імунних систем, так як вони калібрують доступність Zn в організмі. Вони можуть збільшувати внутрішньоклітинний пул Zn, тим самим полегшуючи метаболічні процеси під час відповіді гострої фази, або навпаки, секвеструвати цей елемент.

Одержані дисертанткою дані ґрунтовно проаналізовані, обговорені, пов'язані з літературними повідомленнями. Висновки дисертації повністю відображають експериментальні дані. Заслуговує на увагу опрацювання значної кількості наукової літератури, яка безпосередньо стосується досліджуваної тематики. Це свідчить про високу обізнаність, скрупульозність та наукову відповідальність авторки.

**Новизна основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій, а також проведених наукових досліджень та отриманих результатів.** Авторкою уперше досліджено властивості МТ у філогенетично віддалених видах організмів за впливу несприятливих чинників. Доведено взаємозв'язок між функціональною активністю МТ та показниками запалення, окисного стресу та токсичності за імунореактивного впливу на організм. Вперше виявлено присутність МТ у синовіальній тканині лабораторних щурів та зміну їх властивостей за експериментальної моделі гострого гонартриту та доведено, що МТ є протеїнами гострої фази запалення. Уперше запропоновано механізм функціонування МТ у позаклітинному середовищі в умовах гострого запально-деструктивного процесу. Доведено синергізм впливу кофеїну у сукупності з МР на моделі молюска та його часткове нівелювання за теплової дії. Вперше обґрунтовано біохімічні основи переваг у поширенні інвазивних організмів *D. polymorpha* на нові території.

Авторка пропонує стратегію відбору біохімічних маркерів для оцінки адекватного фармакологічного лікування патологій колінних суглобів. Здатність МР адсорбувати забруднювачі гідрофобної природи на практиці може бути врахована при дослідженні впливу його суміші з іншими ксенобіотиками. Результати щодо міжпопуляційних відмінностей у відповідях двостулкового молюска при експериментальному впливі токсикантів можуть бути використані при оцінці екоотоксичності водного середовища.

**Повнота викладу основних наукових положень.** Відповідає встановленим вимогам Міністерства освіти і науки України. За результатами дисертації опубліковано 11 наукових праць, у тому числі 1 патент на корисну модель, 3 статті у виданнях бази даних Scopus, 7 – матеріали і тези доповідей на з'їздах і конференціях. Разом з тим до роботи можна висловити окремі зауваження та запитання:

1. Хотілося б більше почути, чим було обумовлено вибір саме цих тварин для лабораторних аналізів, адже це філогенетично різні види? Чому у випадку ссавців було вибрано саме колінний суглоб?



2. У Вас робота присвячена вивченню ролі МТ у захисті організму за дії цілої низки чинників (МР, кофеїн, їх суміш, температурний чинник). Як відомо в нашому випадку, зміна їх кількості, структури, функцій це неспецифічна реакція, адже МТ, це тіоли які приймають участь у знешкодженні металів. На Вашу думку, що відіграє домінуючу роль у цих змінах функціонування МТ, можливо це генерування АФК чи пошкодження мембран?
3. Важлива роль МТ, у захисті при запальних процесах пов'язана, на Вашу думку, з перерозподілом цинку в клітині, зв'язуванням металів чи знешкодженням АФК?
4. Ви вказуєте на певний дисбаланс у системі антиоксидантного захисту, але разом з тим накопичення продуктів ПОЛ (TBARS) не спостерігається? Як це пояснити?
5. В узагальненні вказано, що «для обох популяцій властивим було нівелювання значимих відповідей суміші та температури за теплового комбінованого впливу. Це доводить, що підвищення температури виснажує стрес-реактивні системи молюсків». Тобто не дуже зрозумілі формулювання: спочатку нівелювання відповідей, а потім виснаження стрес-систем. Поясніть, будь ласка.

Проте, зауваження і побажання не зменшують цінність дисертаційної роботи, а лише дають змогу провести цікаву наукову дискусію із зазначеної тематики дослідження.

**Висновок.** На основі всього вище переліченого вважаю, що дисертаційна робота Тетяни МАЦЬКІВ на тему «Дослідження ролі металотіонеїнів у запальних процесах на моделях двостулкового молюска *Dreissena polymorpha* та лабораторних щурів», яка подана на здобуття ступеня доктора філософії, за своїм науковим рівнем та практичною цінністю, змістом та оформленням відповідає 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 12.01.2022 р. №44 та сучасним вимогам до оформлення дисертацій, затвердженим наказом Міністерства освіти

науки України від 12 січня 2017 р. № 40, а її авторка заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

**Рецензент:**

кандидат біологічних наук,

доцент кафедри хімії та методики її навчання

Тернопільського національного педагогічного

університету імені Володимира ГНАТЮКА

*[Handwritten signature]*  
Володимир ХОМЕНЧУК

