

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

## РЕЦЕНЗІЯ

офіційного рецензента, доктора біологічних наук,  
професора кафедри загальної біології та методики  
навчання природничих дисциплін

Тернопільського національного педагогічного університету  
імені Володимира ГНАТЮКА

Оксани БОДНАР

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

Аналіз дисертаційної роботи Тетяни МАЦЬКІВ дозволив сформулювати  
висновки щодо актуальності, наукової новизни, практичного значення,  
достовірності отриманих результатів та загальної оцінки роботи.

**Актуальність теми досліджень.** Дисертаційна робота присвячена  
дослідженню ролі металотіонеїнів у реакції організму на вплив стресорних  
чинників запальної/антизапальної дії на моделях філогенетично віддалених  
організмів.

Відомо, що цинк (Zn) як імуномодулятор викликає посилену увагу  
дослідників у останні роки у зв'язку з пошуком ефективних засобів забезпечення  
реакції організму на стрес, пов'язаний з інфекційними і вірусними  
захворюваннями, хронічним нервовим перевантаженням та численними  
мікрополіюнтами у довкіллі. Серед близько 3000 відомих Zn-зв'язуючих  
протеїнів, металотіонеїни (МТ), які є універсальними внутрішньоклітинними  
термостабільними політіолами, вирізняються тим, що у фізіологічних умовах

депонують Zn у клітинах та забезпечують його транспорт до інших молекулярних мішеней. Водночас, їх ролі як індукцибельних редокс-активних молекул приділяється суттєво менше уваги та не з'ясовано до кінця особливості балансу між Zn-буферною функцією та реакцією на окисний стрес, який зумовлений запальними процесами, що потенційно може проявитись як імуномодуляторна дія.

З огляду на зазначене, метою роботи було дослідження ролі поліфункціональних цинк-депонувальних протеїнів металотіонеїнів у реакції організму на вплив стресорних чинників запальної/антизапальної дії на моделях філогенетично віддалених організмів.

Для реалізації цієї мети було поставлено 7 завдань, які дозволили виділити та порівняти властивості металотіонеїнів молюска виду *Dreissena polymorpha* аборигенної та інвазивної популяції за впливу на організм екологічно реальних концентрацій мікропластику, кофеїну та їх суміші за дії різних температур; дослідити присутність металотіонеїнів у синовіальній тканині лабораторних щурів за експериментальної моделі гострого гонартриту та з'ясувати їх участь у накопиченні цинку, а також визначити стан системи антиоксидантного захисту та показники окисного/редукційного стресу; охарактеризувати стан системи антиоксидантного захисту та показники окисного/редукційного стресу у молюсків виду *D. polymorpha* за дії вищезазначених чинників та проаналізувати токсичність впливу експериментальних чинників у створених моделях за показниками активності ензимів апоптозу та аутофагії у молюсків виду *D. polymorpha* та у щурів з індукованим гонартритом за активністю холінестерази у синовіальній тканині; здійснити інтегральну оцінку імунних відповідей організмів молюсків та щурів за впливу експериментальних чинників та довести їх взаємозв'язок із функціонуванням металотіонеїнів за умов впливів.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконувалась у межах 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 молюсків до впливу викликів довкілля» спільно з Університетом Реймса Шампань-Арденни (URCA) (Франція).

**Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Положення, сформульовані в роботі, добре обґрунтовані та проілюстровані. Результати, отримані авторкою, опрацьовані та обговорені з врахуванням даних сучасної літератури. Бібліографічний перелік складається з нових, актуальних джерел. Загальна кількість використаних наукових праць 286 джерел, з них лише 1 – є україномовним. Більшу частину роботи складають дані власних експериментальних досліджень. подача матеріалу відповідає поставленій меті та завданням дисертаційної роботи. висновки, зроблені здобувачем, аргументовані та логічно узагальнюють отримані результати. Тому достовірність положень та висновків, сформульованих у дисертації, не викликає сумніву.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація викладена на 184 сторінках комп'ютерного набору, складається з анотації, 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.

Назва роботи відповідає змісту, а отримані результати підтверджені фактичним матеріалом та не викликають сумнівів.

**Анотація.** В анотації наведено узагальнення наукового пошуку дисертантки з обраної тематики, представлено у повній мірі відображає зміст роботи. Вона не містить тверджень чи ідей, які не наведені в основному тексті дисертації. Поданий перелік праць авторки, опублікованих за темою дисертації, є вагомим та репрезентативним.

**Вступ.** Здобувачкою доволі ґрунтовно висвітлено актуальність обраної теми, мета та завдання досліджень, зв'язок роботи з науковими програмами кафедри хімії та методики її навчання Тернопільського національного педагогічного університету ім. Володимира Гнатюка, а також відображено

наукову та практичну цінність одержаних результатів, особистий внесок, дані про апробацію дисертації за її темою.

**Розділ I. Огляд літератури.** У цьому розділі, який складається з 6 параграфів, детально висвітлено загальну характеристику клітинних тіолів за запальних процесів, показано важливу роль металотіонеїнів при запальних процесах, проаналізована структура, властивості та функціонування металотіонеїнів за фізіологічних умов та як важливих імунорегуляторів за дії несприятливих чинників довкілля чи при патологічних і запальних змінах у клітинах. Водночас, доволі детально розкрита інформація про сучасні імуноактивні ксенобіотики водного середовища – кофеїн та мікропластик, які поряд з іншими новітніми поллютантами стають не менш складною загрозою довкілля, ніж CO<sub>2</sub>, радіація, важкі метали чи нафтопродукти.

Критичний аналіз літературних відомостей дозволив здобувачці сформулювати ідею роботи, яка полягає у розкритті уніфікованої ролі металотіонеїнів при запальних процесах у різних таксономічних груп тварин.

**Розділ II. Матеріали та методи дослідження.** Дисертанткою детально описано відбір дослідних груп тварин та постановка експериментів. Перелік використаних методик щодо дослідження низькомолекулярних тіолів і термостабільних протеїнів (виділення їх з допомогою гель-проникної хроматографії, визначення концентрації, електрофорез протеїнів), дослідження стану системи антиоксидантного захисту (ТАС, активність SOD, КАТ, утворення продуктів перекисного окиснення ліпідів та протеїнів), показників імуно- та цитотоксичності (зокрема, стабільність лізосомальних мембран, активність катепсину Д, каспазна, фенолоксидазна, кисло-фосфатазна, холінестеразна активність), а також визначення вмісту металів та протеїнів у тканинах та використання статистичних методів оцінки результатів дослідження, є актуальним, надійним та репрезентивним.

**Розділ III.** Цей розділ присвячений **результатам та їх обговоренню.** Зокрема дисертанткою досліджено вплив імуномодуляторів (мікропластику, кофеїну) на властивості і характеристики металотіонеїнів аборигенних та інвазивних молюсків дрейсени за змінного температурного режиму. Також

виявлено присутність металотіонеїнів у синовіальній тканині щурів із змодельованим артритом та збільшення їх цинк-вмісної форми із збільшенням частки апоформи.

Завдяки проведеній роботі доведено вищу активність системи антиоксидантного захисту в інвазивній популяції дрейсени порівняно з аборигенною. Виявлено, що за впливу мікропластику в аборигенній популяції активувались Mn-SOD, підвищувався рівень глутатіону та редокс-індекс глутатіону, утворення продуктів окисної деструкції протеїнів, а за впливу кофеїну змін у стані антиоксидантного захисту практично не спостерігалось. В інвазивних молюсків відзначені прооксидантні прояви: за впливу МР – підвищення рівню карбонілів протеїнів, а за впливу кофеїну – зниження активності каталази.

Водночас, результати досліджень показали, що вплив гострого гонартриту на організм щурів викликав дисфункцію системи антиоксидантного захисту, яка проявлялася в активації SOD та інгібуванні активності каталази, зростанні рівня окисних ушкоджень ліпідів і зниженні концентрації загального глутатіону.

Авторкою роботи за впливу ксенобіотиків та експериментальних умов також оцінено індекси апоптозу у тканинах досліджуваних організмів та показано підвищення активності каспази-3 та загального катепсину Д. Вплив мікропластику інгібував загальну активність кислої фосфатази, тоді як усі кофеїн-вмісні експозиції сприяли збільшенню мембранно-зв'язаної активності ензиму.

Здобувачкою доведено узгодженість між збільшенням вмісту металотіонеїнів та активацією фенолоксидази на тлі зменшення рівню загальної антиоксидантної активності у молюсків та зростанням вмісту сіалових кислот як показника запального процесу у щурів.

**Розділ IV. Аналіз та узагальнення результатів.** На основі систематизації та узагальнення результатів дослідження обґрунтовано міжпопуляційні відмінності та спільні риси у відповідях дрейсени на вплив імуномодуляторів (кофеїну та мікропластику) та підвищеної температури. Підведено підсумки щодо загальної реакції металотіонеїнів за впливу імуномодулюючих стресорів та

показана активна участь цинку і метал-буферної функції металотіонеїнів у моделі гострого гонартриту. Варто позитивно відмітити, що використання актуальних статистичних методів дозволило виявити взаємозв'язок в організмах молюсків і щурів між концентрацією та рівнем металювання металотіонеїнів з одного боку та рівнем запальної/антизапальної активності з іншого. Порівняння реакцій складників клітинного тіолому дозволило зробити висновки про те, що саме металотіонеїни, а не глутатіон реагували на дію досліджених стресорних чинників, що дає нові аспекти для розкриття біохімічних та молекулярних основ розвитку і протікання патологічних процесів.

**Висновки.** Для досягнення мети (кінцевої цілі) дисертаційного пошуку було сформульовано 7 завдань, на які отримано 7 висновків. Важливо, що наведено узагальнюючий висновок щодо розв'язання наукової проблеми пов'язаної із обґрунтуванням участі металотіонеїнів у запальних процесах та апоптозі.

В цілому, висновки узагальнюють великий експериментальний матеріал і акцентують увагу на основних вагомих здобутках роботи, відповідають меті і завданням роботи та окреслюють її практичні перспективи.

**Новизна основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій, а також проведених наукових досліджень та отриманих результатів.** У дисертаційній роботі проаналізовано властивості МТ у філогенетично віддалених видах організмів за впливу несприятливих факторів. Доведено універсальний взаємозв'язок між функціональною активністю МТ та показниками запалення, окисного стресу та токсичності за імунореактивного впливу на організм. Вперше виявлено популяційну відмінність відповідей МТ у аборигенних та інвазивних осіб двостулкового молюска *D. polymorpha* за однакових умов впливу та їх синергічну реакцію за комбінованого впливу. 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.

Зазначимо також, що уперше співставлення двох характеристик МТ – за вмістом тіолових груп та цинк-депонуваної форми на двох експериментальних

моделях довело, що ці протеїни беруть участь у редокс-реактивності організму на стресорні чинники, відмінні від їх типових індукторів – перехідних металів. Запропоновано механізм функціонування МТ у позаклітинному середовищі в умовах гострого запально-деструктивного процесу. Доведено синергізм впливу кофеїну у сукупності з мікропластиком на моделі молюска та його часткове нівелювання за теплової дії. Обґрунтовано біохімічні основи переваг у поширенні інвазивних організмів *D. polymorpha* на нові території.

Варто відмітити, що проведене дослідження дає основу для розуміння дисбалансу цинку при патології гострого гонартриту та відбору біохімічних маркерів для оцінки адекватного фармакологічного лікування патологій колінних суглобів. Здатність мікропластику адсорбувати гідрофобні забруднювачі повинна враховуватися при дослідженні впливу його суміші з іншими ксенобіотиками. Отримані результати щодо міжпопуляційних відмінностей у відповідях двостулкового молюска при експериментальному впливі токсикантів повинні бути враховані при оцінці екотоксичності водного середовища.

**Повнота викладу основних наукових положень.** Матеріали підтверджено високим науково-методичним рівнем, опубліковано 11 наукових праць, у тому числі 1 патент на корисну модель, 3 статті у фахових виданнях з сумарним імпакт-фактором 8,6, h=4 згідно баз даних *Scopus*, 7 – матеріали і тези доповідей на з'їздах і конференціях високого рівня.

**Зауваження щодо змісту та оформлення результатів.** Проведений критичний аналіз роботи свідчить, що поставлені дослідницькі завдання доволі логічно узгоджуються з метою дослідження, відповідають його предмету, а хід їх вирішення послідовно розкрито в тексті дисертаційної роботи. Проте вважаємо за доцільне висловити окремі побажання, вказати на дискусійні моменти, неточності чи неузгодженості:

1. Чи були досліджені фізіологічні відмінності у аборигенних та інвазивних особин *Dreissena polymorpha*, оскільки морфологічні Ви вказали, однак, які могли бути обумовлені вищим температурним режимом місця зростання?

2. Яка площа відбору молюсків, бо 600 особин – це доволі значна кількість, яка може змінити внутрішньопопуляційні і міжпопуляційні зв'язки у гідроекосистемі. І якщо дрейсена вважається інвазивним видом для помірної зони Поділля, то для гідроареалу Півдня є доволі прийнятним видом.
3. Для кращого розуміння змін, які відбуваються в організмі молюсків за дії досліджуваних ксенобіотиків, варто вказати вихідні фізико-хімічні параметри водного середовища (р. Серет і р. Дніпро), де зростали дрейсени.
4. Ви зазначаєте, що смертність під час експозиції становила 13,7 % від загальної кількості особин з Tn- та 10,7 % з Kh-популяції. Можливо, це обумовлено вищою адаптаційною стійкістю до дії зовнішніх чинників, оскільки умови зростання херсонської дрейсени все-таки більш екстремальні, ніж тернопільської.
5. У розділі 1.3 здебільшого описані позитивні сторони впливу кофеїну та його продуктів (моно- і диметилксантину) на організм, а відтак його низькі концентрації у воді, можливо, все-таки мають переважаючий стимулюючий вплив?
6. У кількох випадках Ви акцентуєте увагу на універсальності функцій металотіонеїнів у тварин, тоді як отримані результати свідчать про значні відмінності їх складу та чутливості відповіді на змодельовані умови не лише у міжвидовому аспекті (щурі і дрейсени), а й у інвазивній та аборигенній популяціях молюска.
7. Відомо, що дисертаційне дослідження представляє наукову кваліфікаційну роботу, яка містить сукупність нових наукових результатів і положень, має внутрішню єдність, об'єднана однією науковою ідеєю для вирішення певної гіпотези та підсумовує результати експериментальних досліджень автора. надає висновки та/або рекомендації. Водночас, на нашу думку, викликають сумніви доцільність поєднання дослідження металотіонеїнового профілю за впливу ксенобіотиків антропогенного походження з варіантами температурних режимів на двостулкові молюски з різних популяцій та у щурів зі змодельованим карагенан-індукованим гонартритом. Можливо варто більш прицільно зацентувати на спільних моментах чи практичних рекомендаціях.



## Висновок.

Висловлені зауваження і побажання не впливають на загальну позитивну оцінку проведеного здобувачкою дослідження. Дисертація Тетяни МАЦЬКІВ є самостійною, завершеною працею, у якій вирішується актуальна проблема щодо дослідження ролі металотіонеїнів у запальних процесах на моделях двостулкового моллюска *Dreissena polymorpha* за дії новітніх забруднювачів та лабораторних щурів за експериментального карагенан-індукованого артриту. Дисертанткою реалізовано поставлені теоретичні та практичні завдання, зміст досліджень розкриває проблему, що розглядається. Одержані результати є достовірними та об'єктивними, ґрунтовно проаналізовані та мають практичне значення.

Дослідження відповідає усім вимогам рівня наукової кваліфікації здобувачки, а саме пунктам 9, 10, 11 «Порядку проведення експерименту з присудженням ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 06 березня 2019 р. № 167 (із змінами, внесеними згідно з Постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12.01.2022) та сучасним вимогам щодо оформлення затвердженим наказом Міністерства освіти та науки від 12 січня 2017 р. № 40 (із змінами, внесеними згідно з Наказом Міністерства освіти і науки України № 759 від 31.05.2019) та може бути представлено у спеціалізованій вченій раді для присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі 09-Біологія (спеціальність 091-Біологія)

## Рецензент:

доктор біологічних наук, професор  
кафедри загальної біології та методики  
навчання природничих дисциплін  
Тернопільського національного  
педагогічного університету  
імені Володимира ГНАТЮКА

Оксана БОДНАР

