

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

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора біологічних наук,  
професора кафедри біохімії

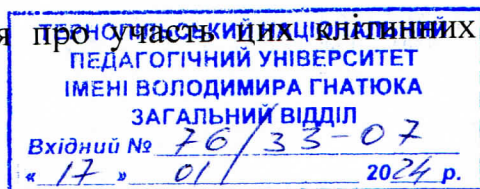
Львівського національного університету імені Івана ФРАНКА

Наталії СИБІРНОЇ

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.** Дисертаційна робота Тетяни Мацьків присвячена дослідженню властивостей та функцій внутрішньоклітинних протеїнів металотіонеїнів у моделях філогенетично віддалених груп організмів за умов впливу імуномодулюючих чинників, кофеїну й мікропластику, та власне запалення. Кофеїн є одним із найбільш поширених фармацевтично-активних сполук, які трапляються у водному середовищі, проте біохімічні механізми впливу його на організм досі залишається дискусійним питанням. На сьогоднішній день, попри глобальну проблему забруднення мікропластиком, здатність його взаємодіяти із гідрофобними ксенобіотиками у водному середовищі та впливати на біоту за комбінованої дії описується у обмеженій кількості досліджень, здебільшого на рівні морфологічних та фізіологічних відповідей. Реакції на стрес, у тому числі відповіді системи антиоксидантного захисту та імунна реакція, визнаються як найбільш чутливі біохімічні реакції організму за несприятливих умов існування. Проте лише нещодавно, у зв'язку із досвідом вивчення новітніх інфекційних викликів, увагу дослідників привернули участь клітинного тіолому та метаболізму цинку у цих маніфестаціях. Тому спроба дисертантки створити системне уявлення



детермінант за стимуляції імунної реакції організму є актуальною. Практичний аспект анонсованої тематики також заслуговує на увагу у зв'язку з потребою кількісної оцінки резистентності організму до нових викликів.

У роботі поєднується дослідження на перший погляд несумісних моделей, таких як популяції молюсків з двох віддалених місцевостей, очікувано відмінних за станом толерантності до впливу очікувано несприятливих чинників (фармацевтика, мікропластика та підвищеної температури поокремо та у поєднанні), та гострого запального процесу на моделі лабораторних щурів. Проте такий вибір моделей є апробованим у науково-дослідній лабораторії порівняльної біохімії та молекулярної біології, де виконувалось дослідження. Адже здатність координувати іони цинку у складі металотіонеїнів та за участю глутатіону відрізняється залежно від філогенетичних та екологічних факторів. Тому запропоноване системне дослідження може сприяти виокремленню як спільних алгоритмів, так і особливих реакцій металотіонеїнів залежно від моделі та діючих експериментальних чинників.

На підставі цієї аргументації можна стверджувати, що дисертаційна робота «Дослідження ролі металотіонеїнів у запальних процесах на моделях двостулкового молюска *Dreissena polymorpha* та лабораторних щурів» є актуальною та має важливе теоретичне та практичне значення.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконувалась згідно науково-дослідницької програми РНС DNIPRO n 46800RK та держбюджетної теми МОН України МОН України (№№ М-70/2021, М-13/2022) «Імунологічне та біохімічне порівняння резистентності інвазивних і природних двостулкових молюсків до впливу викликів довкілля» спільно з Університетом Реймса Шампань-Арденни (URCA) (Франція).

**Ступінь обґрунтованості основних положень, висновків та практичних рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Обсяг проаналізованих літературних джерел є достатнім для пояснення отриманих експериментальних даних та формулювання припущень, тверджень та висновків. Робота ґрунтується на вдалому та значному наборі лабораторних експериментальних досліджень з дотриманням необхідної кількості тварин та

повторів для отримання статистично достовірних результатів. Поставлені мета та завдання дослідження є чітко окресленими та реалізованими в повному обсязі. З отриманих результатів логічно та послідовно сформульовані висновки. Представлена дисертація написана державною мовою та є оригінальною науковою працею, яка виконана на належному методичному та теоретичному рівнях.

**Структура дисертації.** Дисертація Тетяни МАЦЬКІВ загальним обсягом 184 сторінки 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.

У анотації представлений весь зміст дисертаційного дослідження від формулювання актуальності та мети до викладення основних результатів дослідження, сформульованих положень та висновків.

В огляді літератури розглянуто проблему дослідження низькомолекулярних тіолів за нормальних фізіологічних умов та при патології. Проаналізовано властивості та функції металотіонеїнів, зокрема, в умовах запальних станів. Розглянуто проблему забруднення прісних водойм ксенобіотиками, кофеїном та мікропластиком, а також, їх вплив на організм водних видів. Описано дослідження імунних відповідей безхребетних організмів за впливу кофеїну та мікропластику у водних видів. Літературний огляд складається з посилань останніх років.

Розділ **матеріали та методи** містить опис всіх застосованих у роботі сучасних методів досліджень (спектрофотометричні, мікроскопічний аналіз, електрофорез), які здатні ефективно оцінити стан низькомолекулярних тіолів, системи антиоксидантного захисту і цитотоксичності впливів.

**Експериментальні результати та їх обговорення** подані в розділі 3 який складається з 3 підрозділів.

У підрозділі **3.1** дисертантка проаналізувала властивості та функціонування металотіонеїнів за умов експозицій мікропластиком та

кофеїном на інвазивних та аборигенних особинах двостулкового молюска *Dreissena polymorpha* та запалення у лабораторних щурів. Авторка демонструє, що за всіх впливів має місце зростання неметалюваної форми металотіонеїнів та набуття ними антиоксидантного потенціалу. При цьому, для аборигенних особин характерним було накопичення цинку у метал-тіолатних кластерах металотіонеїнів.

У підрозділі **3.2** представлено дослідження параметрів системи антиоксидантного захисту у м'яких тканинах молюска та колінного суглобу щурів за впливу імуномодулюючих чинників та запалення. Реакція системи окисного/відновного стресу відрізнялась у інвазивних та аборигенних популяціях молюсків: у аборигенній популяції спостерігався менший рівень прояву антиоксидантів та вищий рівень окисних ушкоджень, порівнюючи з інвазивною. При патології у щурів спостерігались дисбаланс системи антиоксидантного захисту та чіткі прояви окисного стресу.

Параметри цитотоксичності досліджуваних чинників дисертантка досліджувала у підрозділі **3.3**. Зміни систем напряду залежали від інвазивності виду. За дії полютантів у аборигенній популяції згубний вплив був більш вираженим (вищий рівень прояву дестабілізації лізосом, вихід катепсину Д з лізосом), тоді як для інвазивних молюсків більш властивим було використання апоптозу як стратегії захисту проти пошкоджених клітин. Ураження синовіальних тканин у щурів при запаленні підтверджено дослідженням холінестеразної активності.

Розділ **4** присвячено аналізу та узагальненню результатів з використанням сучасних методів математичного аналізу. Наведено узагальнюючу схему відповідей організму на вплив досліджуваних факторів. Порівнюється специфічність реакцій аборигенних та інвазивних молюсків на вплив ксенобіотиків. Вивчено особливості впливу суміші мікропластику з фармацевтиком та доведено синергічний ефект комбінованого впливу. Проаналізовано спільні та відмінні риси у функціонуванні металотіонеїнів за умов імунної відповіді організму молюсків двох популяцій та вклад інвазивності виду у формуванні резистентності організму до стресових впливів. Виявлено

специфічність відповідей металотіонеїнів при запальних процесах у вищих хребетних тварин. Факторний аналіз довів взаємозв'язок між функцією металотіонеїнів та антиоксидантними й імунними відповідями організмів.

Дисертантка формулює 7 висновків, які відповідають поставленим завданням та витікають із результатів проведеного дослідження.

**Новизна основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій, а також проведених наукових досліджень та отриманих результатів.** Серед низки отриманих результатів дослідження відзначимо найбільш вагомі та отримані вперше. Вперше доведено універсальний взаємозв'язок між функціональною активністю металотіонеїнів та показниками запалення, окисного стресу та цитотоксичності за імунореактивного впливу на організм. Вперше виявлено популяційну відмінність функціонування металотіонеїнів у аборигенних та інвазивних осіб двостулкового моллюска *D. polymorpha* за однакових умов впливу та їх синергічну реакцію за комбінованого впливу. Вперше виявлено наявність металотіонеїнів у синовіальній тканині лабораторних щурів та зміну їх властивостей за експериментальної моделі гострого гонартриту та практично доведено, що металотіонеїни є протеїнами гострої фази запалення. Уперше співставлення двох характеристик металотіонеїнів – за вмістом тіолових груп та цинк-депонувальної 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. Уперше запропоновано механізм функціонування металотіонеїнів у позаклітинному середовищі в умовах гострого запально-деструктивного процесу.

**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.

### Дискусійні питання, побажання та зауваження:

1. Як відомо, мікропластик – це частинки пластику, розміром менше 5 мм. Чим обумовлений вибір мікропластику саме такого типу і розміру (полістирол, 2 мкм)?
2. Як Ви можете пояснити вибіркочутливість аборигенної популяції до мікропластику в аборигенних молюсків, тоді як інвазивні молюски чутливіше реагували на кофеїн?
3. Чим саме обумовлений вибір температурного режиму 25 °C? До того ж, Ви обирали дві територіально віддалені популяції молюсків, чи не впливала адаптованість до температурного режиму у популяції на відповідь організмів при експозиціях?
4. На мою думку, власне адаптація організму, або ураження щодо теплового впливу *per se* проаналізовано недостатньо. Разом з тим, отримано важливі результати, які свідчать, що вплив підвищеної температури на молюсків, особливо в аборигенній популяції, за магнітудою прирівнюється до впливу суміші, проте за спільної дії нівелює цей ефект. Ця закономірність становить важливий аргумент у порівняльному аналізі стану толерантності молюсків двох популяцій.
5. Чи було порівняно рівень забруднення водойм? Адже цей чинник міг визначати стан адаптації молюсків не меншою мірою, ніж належність до аборигенної чи інвазивної популяцій.
6. Які є докази того, що популяція близько Херсону є дійсно аборигенною?
7. Чи не доцільно включити дослідження метаболізму та біотрансформації ксенобіотиків у доказову базу, оскільки йдеться про акумуляцію кофеїну?
8. У дисертаційній роботі аналізується активність фенолоксидази та її ізоензиму лаккази як маркерів імунореактивності молюсків. Чим цінний аналіз саме лаккази?
9. При дослідженні гонартриту вказано, що за досліджуваної патології участь металотіонеїнів опосередкована їх виходом з клітин у

позаклітинний простір. Проте не зрозуміло, який механізм їхнього виходу з клітин, тобто, чи вони активно транспортуються, чи це наслідок пошкодження клітинної мембрани тощо.

10. Методи подано подекуди на рівні оформлення курсової роботи, проте актуальна інформація щодо їхньої адаптації (зокрема визначення активності ензимів) стосовно холонокровних організмів не висвітлена.
11. Дисертантка недостатньо аналізує попередній досвід лабораторії у вивченні металотіонеїнів різних видів тварин.
12. У тексті є певні стилістичні помилки та технічні огріхи.

Однак, всі зазначені зауваження не зменшують цінності роботи і не впливають на загальну позитивну оцінку.

### **Висновок**

Дисертаційна робота Тетяни МАЦЬКІВ «Дослідження ролі металотіонеїнів у запальних процесах на моделях двостулкового молюска *Dreissena polymorpha* та лабораторних щурів», яка подана на здобуття наукового ступеня доктора філософії, за актуальністю, науково-теоретичним рівнем, новизною постановки та розв'язанням проблем і практичним значенням відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» від 12 січня 2022 р., №44, а здобувачка заслуговує на присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 09 Біологія, за спеціальністю 091 – Біологія.

### **Офіційний опонент:**

доктор біологічних наук,  
професор кафедри біохімії  
Львівського національного університету  
імені Івана ФРАНКА

 Наталія СИБІРНА

Підпис професора Сибірної Н.С. завіряю.  
Вчений секретар Львівського національного  
університету імені Івана Франка, доцент

 Ольга ГРАБОВЕЦЬКА

