

До разової спеціалізованої вченої ради ДФ 58.053.037
Тернопільського національного педагогічного
університету імені Володимира Гнатюка
(46027, м. Тернопіль, вул. Максима Кривоноса, 2)

РЕЦЕНЗІЯ

Офіційного рецензента на дисертаційну роботу *Мартинюк Вікторії Валентинівни на тему :«Біохімічні механізми впливу мікропластику на організм двостулкового моллюска *Unio tumidus* поокремо та за комбінованої дії», представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».*

Актуальність теми. Проблема охорони і комплексного використання природних водних ресурсів є однією із найбільш актуальних в умовах інтенсивного розвитку продуктивних сил. Прісноводні водойми на урбанізованих територіях зазнають прогресуючого антропогенного впливу. Це призводить до зниження їх самоочисної здатності та біопродуктивності, а також збіднення видового складу фауни і флори.

У останні десятиліття особливу увагу набуває зростання виробництва та широкого використання пластикових матеріалів, яке призвело до того, що забруднення мікропластиком визнано серйозною екологічною проблемою.

Різноманіття та комплексний вплив новітніх пошкоджуючих чинників середовища вимагає оновлення методологічних підходів до оцінки їх впливу на живі організми. Визнаними біоіндикаторами стану водойм є двостулкові моллюски, які поглинають забруднювачі завдяки фільтруючому способу харчування, ведуть осілий спосіб життя та володіють чутливою здатністю реагувати на стрес. Слід також відмітити, що моллюскам властиві різноманітні філогенетичні сформовані механізми пристосування до абіотичних чинників існування, які є універсальними у тваринному світі.

Двостулкові моллюски здатні адаптуватися до умов існування у природному біотопі та демонструють залежні від популяції відмінності у резистентності до пошкоджуючих чинників. Як ектотермні організми, вони чутливо реагують на температурний режим існування. На субклітинному рівні відзначаються такі їх реакції як окисний стрес, активація біотрансформації ксенобіотиків та ознаки

цитотоксичності. Зазначенні адаптивно-компенсаторні пристосування супроводжуються фізіолого-біохімічними змінами в їх організмі.

Зважаючи на все вищесказане, дисертаційна робота Мартинюк В.В. має як теоретичне, так і практичне значення для обґрунтування молекулярних основ, екотоксичності водного середовища та визначення способів його покращення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Рецензована робота виконувалась у межах держбюджетних тем МОН України М/70-2021 (номер державної реєстрації 0121U113511) «Розробка набору біопроб – біомаркерів для оцінки впливу фармацевтичних препаратів на водні екосистеми» 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»

Мета роботи, як зазначено авторкою, є дослідження здатності *Unio tumidus* акумулювати мікропластик водного середовища та пошук потенційних молекулярних мішеней, задіяних у біохімічну відповідь на його вплив окремо та у поєднанні з супутніми ксенобіотиками у субхронічній експозиції.

Наукова новизна одержаних результатів. У дисертаційній роботі вперше досліджено здатність двостулкового молюска *Unio tumidus* акумулювати мікропластик із водного середовища та встановлено високий акумуляційний потенціал його організму протягом 14-ти денного впливу. Підтверджено також кумулятивний ефект мікропластику за комбінованого впливу з поширеними у водному середовищі фармацевтичними препаратами ібупрофеном та саліноміцином.

Дисертанткою також визначено відмінності між реакцією перлівниці на вплив мікропластика двох розмірів, а також вперше виявлено ознаки редуکتивного стресу як найбільш послідовної і чутливої реакції на пошкодуючі впливи різної природи в організмі досліджуваного молюска. В роботі також продемонстровано реакції резистентності перлівниці до комбінованого впливу мікропластику та саліноміцину в залежності від температурного режиму.

Практичне значення одержаних результатів. Отриманні результати щодо здатності двостулкових молюсків акумулювати мікропластик можуть бути використанні для оцінки забруднення водних екосистем цим матеріалом.

Створено методологічні основи для експериментального доведення синергічної дії мікропластика та інших мікрополлютантів на водні організми.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій. У дисертації ґрунтовно висвітлена література із дослідженої тематики. Наукові положення та висновки дисертантки підтверджуються великим обсягом експериментального матеріалу, його глибоким аналізом, застосуванням сучасних методів біохімічних досліджень.

Авторкою глибоко проаналізовані основні завдання, які були поставлені в меті роботи. Дисертація Мартинюк Вікторії Валентинівни є самостійною, завершеною науковою працею, в якій вирішується актуальна конкретна проблема щодо впливу пошкоджуючих чинників водного середовища на прісноводного молюска *Unio tumidus*.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 158 сторінках комп'ютерного набору і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, результатів роботи та їх обговорення, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків та переліку використаних літературних джерел, який включає 263 посилань (з них 260 латиною). Робота також ілюстрована 30 рисунками та 10 таблицями.

В огляді літератури наведені загальні принципи розуміння проблеми впливу мікропластику на водні організми, розглядається мікропластик як вектор для інших новітніх забруднювачів водойм, а також описується використання двостулкових молюсків як біохімічних маркерів для біомоніторингу водного середовища та стану водних екосистем.

Літературний огляд достатньо інформативний і побудований таким чином, що з нього логічно витікають завдання досліджень.

Розділ «Матеріали та методи досліджень» є досить деталізованим і добре інтерпретує всі практичні процедури з постановки експериментів та лабораторного аналізу. Авторкою застосовані перевірені класичні методи біохімічного, токсикологічного та статистичного аналізу.

Експериментальні результати подані у розділі III. В підрозділі 3.1 вивчається накопичення мікропластику в організмі двостулкового молюска за експериментальних та польових умов існування. Доведено, що перлівниця акумулює мікропластик розміром 0,1-0,5 мм з водного середовища за його

концентрації у воді 1 мг/л протягом 14 діб інкубації з максимальним накопиченням у м'яких тканинах (320-330 частинок проти 9 частинок у контролі).

Таке накопичення мікропластику призводить до блокування кишкового тракту моллюска, пригнічення секреції шлункових ензимів, зменшення стимулів годування, зниження рівня стероїдних гормонів, затримки овуляції та відсутності репродукції. Таким чином результати отримані дисертанткою підтверджують здатність двостулкових моллюсків накопичувати частинки пластику в їх організмі, що створює перспективи їх використання для індикації забруднення води мікропластиком.

В підрозділі 3.2 розглядається реакція металотіонеїнів *Unio tumidus* за впливу на організм моллюска мікропластику різного розміру та фармацевтичних препаратів. Результати, отримані дисертанткою, показали, що частина мікропластику розміром 0,1-0,5 мм поокремо та в суміші викликають зменшення вмісту металотіонеїнів у тканині травної залози моллюска, тоді як мікропластик розміром 2 мкм, навпаки, збільшує їх вміст у цій тканині. За комбінованої дії з саліноміцином та тепловим чинником їх вміст зменшується. За впливу на організм моллюска частинок мікропластику та фармацевтичного препарату ібупрофену вміст металотіонеїнів у травній залозі моллюска зменшується. При цьому особливості впливу ібупрофену та саліноміцину на характеристики металотіонеїнів нівелюються у поєднанні з мікропластиком.

У підрозділі 3.3 вивчаються реакції окисно/редуктивного стресу у травній залозі моллюсків за впливу на їх організм мікропластику різного розміру та фармацевтичних препаратів. Дисертантка своїми дослідженнями показала, що перебування у забрудненому середовищі викликає в організмі моллюсків стрес, який може проявлятися по різному в залежності від тривалості та інтенсивності чинника. Отримані результати свідчать про те, що у контрольних груп моллюсків із умовно чистої місцевості відзначено вищу активність системи антиоксидантного захисту та нижчий рівень утворення продуктів окисної деструкції порівняно із контрольною групою із антропогенно навантаженої місцевості, що свідчить про ефективний антиоксидантний захист у моллюсків з чистої місцевості.

За ознаками окисного/редукційного стресу авторкою визначено характеристики, загальні для всіх експозицій, залежно від розміру мікропластика та від адаптаційного потенціалу, сформованого у популяції.

Підрозділ 3.4 присвячений вивченню токсичного впливу на організм молюска *Unio tumidus* мікропластику та фармацевтичних препаратів поокремо та у комбінаціях за ознаками апоптозу та лізосомальної функціональності. Отриманні дисертанткою результати показали, що існують популяційні особливості активації апоптозу, причому у популяції з антропогенно навантаженої ділянки активність каспази-3 як ключового ензиму апоптозу вища, ніж у молюсків з референтної популяції. Авторкою виявлено, що за впливу мікропластику та фармацевтичних препаратів у травній залозі молюсків відбуваються певні зміни у активності клітинних систем апоптозу/аутофагії, які визначаються адаптаціями, сформованими у популяції, а також розміром мікропластику. Ібупрофен активує лізосомальний шлях загибелі клітин, а саліноміцин – узгоджену активацію цитоплазматичного та лізосомального шляхів. При цьому тепловий вплив нівелює реакцію ензимів апоптозу/аутофагії на дію суміші ксенобіотиків.

В IV розділі роботи одержані дисертанткою дані ґрунтовно проаналізовані та узагальнені. Проведений дисертанткою експеримент доводить, що ефективність молекулярних механізмів напряду залежить від ступеня резистентності організму, сформованого в середовищі існування, спричиненого поєднанням комплексного забруднення середовища та екологічними чинниками. Авторкою доведено, що мікропластик, залежно від розміру, має особливості впливу на біохімічні показники молюсків та модулює біологічну дію фармацевтичних препаратів. Ці ефекти залежать від адаптацій популяції у природних умовах до хронічного забруднення та послаблюються за умов теплового впливу на організм.

З використанням факторного аналізу дисертанткою було проаналізовано зв'язок між окремими біоіндикаторами організму перлівниці у обох дослідних серіях, як за поокремого впливу мікропластику або фармацевтика, так і у поєднанні між собою, а також у залежності від екологічних нехімічних чинників (популяція, тепловий вплив).

Результати показали, що у кожному експерименті існують подібні взаємозалежності біомаркерів, що з високою ймовірністю визначають реакцію системи. На підставі отриманих даних авторка пропонує використовувати окремі біохімічні показники як біомаркери несприятливих впливів у водному середовищі.

Авторка надає 5 висновків. В них відображені основні постулати, які винесені на захист дисертації. Висновки дисертаційної роботи повністю відображають зміст отриманих експериментальних даних. Заслуговує також на увагу опрацювання значної кількості літератури, яка безпосередньо стосується досліджуваної тематики. Це свідчить про високу обізнаність, скрупульозність та наукову відповідальність авторки.

Разом з тим до роботи можна висловити окремі зауваження та запитання:

1. Чи спостерігали ви зміни у морфометричних показниках піддослідних особин під час вивчення акумулятивної здатності молюсків?
2. Який механізм взаємодії досліджуваних ксенобіотиків з мікропластиком в організмі молюсків?
3. Чи контролювали концентрації досліджуваних препаратів у воді як в лабораторних так і в природніх умовах протягом експерименту?
4. Як пояснити збільшення кількості металів у тканинах молюсків, якщо у дослідному середовищі вони були відсутні?
5. Чому для визначення окисно-відновного балансу використовували показники $NAD^+/NADH$, а не співвідношення лактат/піруват, як це робиться традиційно, та які переваги використаного вами співвідношення?
6. У роботі присутні деякі стилістичні, лексичні та орфографічні помилки, які потрібно виправити.

Проте, зазначені зауваження не зменшують цінність дисертаційної роботи, а лише дають змогу провести цікаву дискусію із зазначеного напрямку дослідження.

Апробація роботи. За матеріалами дисертації опубліковано 15 праць, у тому числі 2 патенти на корисну модель та 5 статей у фахових виданнях, з яких 4 входять до науково-метричної бази Scopus, а також 8 тез у матеріалах з'їздів та конференцій.

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

Дисертація написана змістовно, літературною мовою, стиль викладання матеріалу науковий, думки висловлені логічно та послідовно.

Отже, дисертаційна робота Мартинюк Вікторії Валентинівни є самостійним, завершеним науковим дослідженням. Актуальність обраної теми дослідження, достовірність та наукова новизна одержаних результатів, обґрунтованість наукових положень та висновків, їх вірогідність та повнота викладу в опублікованих працях свідчать про глибоку наукову самостійність авторки, а також сучасний рівень проведеного дослідження.

На основі всього вище переліченого вважаю, що дисертаційна робота Мартинюк Вікторії Валентинівни на тему «Біохімічні механізми впливу мікропластику на організм двостулкового моллюска *Unio tumidus* поокремо та за комбінованої дії», 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 і 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:

Доктор біологічних наук, професор
кафедри хімії та методики її навчання

Тернопільського національного педагогічного
Університету ім. В. Гнатюка



Володимир КУРАНТ

