

До разової спеціалізованої вченої ради PhD 13309  
Тернопільського національного педагогічного  
університету імені Володимира Гнатюка  
(46027, м. Тернопіль, вул. Максима Кривоноса, 2)

## РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу Юнко Катерини Богданівни на тему:  
«Порівняльне дослідження системи окисно-відновного гомеостазу  
двостулкових молюсків *Unio tumidus* та *Mytilus galloprovincialis* за впливу на  
організм психоактивних препаратів та мікропластику водного середовища»,  
представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань  
09-«Біологія» за спеціальністю 091-«Біологія»

Гідроекосистеми зазнають прогресуючого впливу забруднювачів різного генезису. На сьогодні в урбанізованих та аграрних районах на перший план виступають полімерні та фармацевтичні препарати, алкалоїди, продукти та відходи харчового виробництва. Висока біологічна активність цих речовин та їх присутність у водних екосистемах становлять значну екологічну небезпеку, що викликає обґрунтоване занепокоєння суспільства.

Саме даній проблематиці приурочена дисертаційна робота Юнко Катерини Богданівни, в якій авторка досліджує видові особливості біохімічних реакцій прісноводного та морського видів двостулкових молюсків на субхронічний вплив психоактивних препаратів та мікропластику за умов їх окремої та комбінованої дії.

Дисертаційна робота виконувалась у рамках міжнародної наукової співпраці з Університетом Мессіни (Messina, Italy). та держбюджетної теми МОН України №М/48-2024, М/48-2025 (номер державної реєстрації № 0124U003217) Спільний науково-дослідний проект "Оцінка ризиків для водної біоти внаслідок забруднення середовища рідкоземельними елементами, спричиненого сучасними (включно з військовими) технологіями" з Центром природних досліджень, Вільнюс, Литва в рамках білатерального міжнародного наукового співробітництва з Литовською Республікою.

Наукова новизна роботи полягає в тому, що авторкою вперше здійснено порівняльний аналіз реакцій систем окисно-відновного гомеостазу та знешкодження токсикантів морського та прісноводного видів двостулкових молюсків, здійснено порівняння системи антиоксидантного захисту до екстремально низьких концентрацій фармацевтичних препаратів, проаналізовано специфічні реакції водних організмів та залежні від виду відмінності реакції окисного стресу. Доведено, що комбінований вплив

токсичних чинників викликає ефекти взаємокомпенсації та частково нівелювання індивідуальних токсичних проявів, активацію апоптозу, що доводить роль мікропластику як вектора, що модулює біодоступність та кінетику ксенобіотиків.

Практичне значення одержаних результатів. Авторкою запропоновано комплекс високочутливих показників травної залози молюсків, що відображають специфіку токсичності та ранньої метаболічної відповіді на мультистресове навантаження. Зниження стабільності лізосомальних мембран та співвідношення Zn/Cu в організмі молюсків є інформативними експрес-індексами порушення їх фізіолого-біохімічного статусу за екологічно реального впливу психоактивних препаратів.

Виходячи із зазначеного дисертанткою досягнуто поставлених теоретичних і практичних завдань, зміст досліджень розкриває проблему, що розглядається, глибина досліджень достатня для обґрунтування гіпотези та формулювання зроблених висновків.

Дисертаційна робота Юнко К.Б. викладена на 179 сторінках комп'ютерного тексту і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, результатів роботи та їх обговорення, аналізу та узагальнення, висновків, списку використаних джерел, який включає 358 посилань (з них 357 латиною). Робота ілюстрована 33 рисунками та 4 таблицями.

В огляді літератури проаналізовано токсичну дію психоактивних речовин у водних екосистемах. Розглянуто роль мікропластику в зміні токсичності речовин гідрофобної природи (антибіотики, пестициди) та екотоксикологічні ризики їх сумісної дії. Встановлено дефіцит наукових даних щодо порівняльного аналізу адаптивного потенціалу морських та прісноводних видів риб до впливу новітніх ксенобіотиків (кофеїн, хлорпромазин). 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 біохімічні методи гель-розподільчої хроматографії (виділення металотіонеїнів), спектрофотометричні (визначення вмісту металів, активності ензимів антиоксидантного захисту, біотрансформації, кількісна оцінка продуктів окисного ушкодження, вмісту низькомолекулярних тіолів та нікотинамідних коензимів), методи оцінки цитотоксичності та апоптозу (визначення стабільності лізосомальних мембран і активності каспази-3), методи математичної статистики (факторний, кореляційний, канонічний дискримінантний методи аналізу даних).

Експериментальні результати та їх обговорення подані в розділі 3. В підрозділі 3.1 авторкою розглядаються питання окисно-відновного гомеостазу і видові особливості антиоксидантної відповіді двостулкових молюсків за умов дії мікропластику, кофеїну та хлорпромазину. Проаналізовано роль низькомолекулярних тіолів та відновних коензимів у травній залозі *U. tumidus* за впливу на організм мікропластику та психоактивних препаратів. Юнко К.Б. здійснено порівняння вищезазначених показників у прісноводних *U. tumidus* та морських двостулкових молюсків *M. galloprovincialis*. Також було досліджено концентраційнозалежні ефекти хлорпромазину на функціонування системи антиоксидантного захисту у *M. galloprovincialis*.

Результати досліджень показали розвиток окисного стресу в травній залозі *U. tumidus*. Вплив мікропластику та кофеїну активував мітохондріальну Mn-SOD, тоді як хлорпромазин інгібував Mn-SOD та CAT), спричиняючи дисбаланс, який лише частково нівелюється активацією цитозольної Cu,Zn-SOD. Індивідуальна дія речовин збільшувала ліпопероксидацію та окисну модифікацію протеїнів, проте за їх комбінованого впливу рівень карбонілювання знижується, що вказує на взаємокомпенсацію токсичних ефектів.

Показано достовірне зростання концентрації GSH та MT-SH в усіх групах прісноводних двостулкових молюсків *M. galloprovincialis*. Водночас відмічено порушенням метало-гомеостазу: зниження індексу Zn/Cu, що вказує на ослаблення буферної ємності організму. Дія токсикантів трансформувала пул нікотинамідних коензимів: мікропластик та кофеїн знижував співвідношення NADH/NAD<sup>+</sup>, тоді як дія хлорпромазину та суміші призводила до зростання цього індексу. Розрахунок інтегрального індексу АПБ підтвердив найбільший прооксидантний тиск у групі кофеїну, тоді як комбінована дія ксенобіотиків характеризується найвищим компенсаторним потенціалом системи антиоксидантного захисту.

У підрозділі 3.1.3. авторкою доведено, що система антиоксидантного захисту морського молюска *M. galloprovincialis* за умов експозиції до мікропластику, кофеїну та їх суміші забезпечує збалансовану реакцію редокс-гомеостазу без зростання маркерів окисного ушкодження. Так, у групі «мікропластик» спостерігається зростання рівня GSH та його редокс-індексу, що супроводжується підвищенням загального вмісту MT-SH із високим ступенем металонасичення. Натомість за дії кофеїну та сумісної дії чинників захисний ефект забезпечується зміщенням балансу металотіонеїнової системи у бік деметалюваних апо-форм. Реакція тіолової ланки у мідії характеризується помірною інтенсивністю та специфічністю залежно від природи діючого чинника.

Встановлено, що дія хлорпромазину ( $12 \text{ нг}\cdot\text{л}^{-1}$  та  $12 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ ) на *M. galloprovincialis* призводила до зниження інтегрального індексу (АПБ) на понад 50 %. Окисний стрес призводив до зростання активності SOD та пригнічення CAT. За умов такої ензиматичної дисфункції компенсаторну роль виконують низькомолекулярні тіоли: спостерігається активація глутатіонової системи зі зростанням пулу відновленого глутатіону в обох експозиціях та накопиченням окисненої форми за нижчої дози хлорпромазину. Паралельно мобілізується металотіонеїнова ланка — підвищується вміст MT-SH та частка їх цинк-зв'язаної форми. Металювання MT свідчить про цілісність тіолатних кластерів і специфічний вплив хлорпромазину на внутрішньоклітинний гомеостаз металів, що забезпечує базову адаптивну клітинну відповідь на тлі загального прооксидантного пошкодження.

В підрозділі 3.2 дисертантка проаналізувала роль систем метаболічної детоксикації ксенобіотиків. Встановлено, що функціонування системи біотрансформації ксенобіотиків у досліджуваних видів молюсків залежить від природи токсиканта та виду організму. В прісноводного молюска перша фаза детоксикації (EROD) активується лише кофеїном, тоді як хлорпромазин та суміш пригнічують цей процес. Натомість у *M. galloprovincialis* низькі дози хлорпромазину індукували активність EROD, підтверджуючи участь цитохрому P450 у його метаболізмі. Реакція другої фази (GST) у обох видів найбільш вразлива до мікропластику. Характерною особливістю *M. galloprovincialis* є активація GST під дією хлорпромазину. За комбінованого впливу у обох видів спостерігається нівелювання екстремальних змін активності ензимів, що свідчить про модифікацію детоксикаційних шляхів та часткову взаємокомпенсацію ефектів окремих чинників.

У підрозділі 3.3 Юнко К.Б. дослідила параметри апоптозу та лізосомальної стабільності в організмі молюсків за дії мікропластику та психотропних препаратів поокремо та у комбінаціях. Встановлено, що універсальним проявом цитотоксичності для обох видів молюсків є пошкодження лізосомальних мембран. Лізосомальні мембрани обох видів виявилися найбільш чутливою мішенню та продемонстрували втрату стабільності вже за низьких концентрацій ксенобіотиків, особливо хлорпромазину. Разом з тим, реакція апоптотичного каскаду має виражену видоспецифічність: у *U. tumidus* мало місце інгібування активності каспази-3, що спричинялося дією хлорпромазину, тоді як у *M. galloprovincialis* аналогічний ефект викликав кофеїн. Характерною особливістю комбінованого впливу чинників у обох видів є активація каспази-3.

Четвертий розділ дисертаційної роботи був приурочений аналізу та узагальненню одержаних результатів. Проведено досконалу статистичну

обробку результатів дослідження з використанням факторного, канонічного дискримінантного, кореляційного аналізу тощо. За результатами диференційного аналізу доведено, що присутність мікропластику у модельних дво- та трьохкомпонентних сумішах викликає у обох видів молюсків неадитивну реакцію систем окисного стресу та детоксикації ксенобіотиків (антагонізм) із вираженим редуційним зміщенням, пригніченням ензимів біотрансформації та активацією апоптозу.

Було виокремлено та проаналізовано комплекс біомаркерів для відображення ранньої метаболічної відповіді молюсків на токсичний вплив досліджуваних ксенобіотиків. Універсальним неспецифічним індикатором стресу визначено дестабілізацію лізосомальних мембран та мобілізацію низькомолекулярних тіолів глутатіону та металотіонеїнів. Специфічними стосовно виду організму маркерами впливу несприятливих чинників визначено посилення ПОЛ у перлівниці та пригнічення каталази у мідії. Відзначено подібність реакцій двостулкових молюсків до відповідей аналогічних маркерів вищих тварин (активація EROD за впливу кофеїну та чутливість гомеостазу цинку), що може бути використано для тестування токсичності фармацевтичних препаратів.

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

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

1. Хотілося б більш детально почути про механізм сумісної дії ксенобіотиків. Токсичність зростає чи знижується? Так, в одних випадках показники за сумісної дії не змінюються (активність SOD та каталази у *U. tumidus*) в інших (система глутатіону) варіації в групі «MIX» найвищі.
2. Авторка стверджує «У межах проведеного експерименту вплив мікропластику виявився найслабшим з-поміж усіх досліджуваних чинників...» ст. 96, проте загальна активність супероксиддисмутази (SOD total) *U. tumidus* достовірно підвищувалася лише за впливу мікропластику, а Mn-SOD зростала у групах MP та Caff. Також відмічений значний вплив MP на систему GSH ↔ GSSH. У морського виду *M. galloprovincialis* вміст металотіонеїнів у травній залозі зростав лише за дії MP. За ступенем зростання індексу IBR, який показує інтенсифікацію стресового навантаження група MP поступається лише комбінованому впливу ((IBR — Crz (1,8) < Caff (2,4) < C (2,8) < MP (3,3) < Mix (4,4)).

3. В роботі Ви визначали співвідношення  $\text{NADH}/\text{NAD}^+$  - один із ключових показників енергетичного статусу клітин. Чому такий різновекторний характер змін пулу метаболітів (мікропластик та кофеїн знижують співвідношення  $\text{NADH}/\text{NAD}^+$  тоді, то дія хлопромазин та суміші підвищує цей індекс, сприяючи накопиченню відновних еквівалентів). Як це можна пояснити?
4. Як можна пояснити активацію металотіонеїнової системи дією досліджуваних токсикантів? Чому знижується співвідношення  $\text{Zn}/\text{Cu}$  і які наслідки це може мати для клітинного метаболізму?
5. Як можна пояснити більшу чутливість до досліджених токсикантів (мікропластик, кофеїн) прісноводних молюсків порівняно з морськими (показники вмісту продуктів окисного пошкодження ліпідів та ензимів антиоксидантного захисту)? Чи може це бути обумовлено різним ступенем адаптованості прісноводних та морських молюсків за рахунок різних концентрацій токсикантів у прісних та морських гідроекосистемах?
6. Поясніть, будь ласка, чим обумовлена величезна різниця у дослідних концентраціях хлорпромазину у 1000 разів ( $12 \text{ нг} \cdot \text{л}^{-1}$  (Срз I) та  $12 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$  (Срз II)). І як Ви вважаєте, чому зміни антиоксидантно-прооксидантного балансу у групах (Срз I) та (Срз II) практично однакові (зниження індексу на 52,8% та 50,8% порівняно з контролем)?

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

#### Апробація роботи.

За матеріалами дисертації опубліковано 14 праць, у тому числі 1 патент на корисну модель 7 статей у фахових виданнях, з яких 5 у виданнях що індексуються в базах даних Scopus, та 6 матеріалів і тез доповідей на з'їздах і конференціях.

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

Праця написана змістовно, літературною мовою, стиль викладення матеріалу науковий, думки висловлені логічно та послідовно.

На основі всього вище переліченого вважаю, що дисертаційна робота Юнко Катерини Богданівни на тему «Порівняльне дослідження системи окисно-відновного гомеостазу двостулкових молюсків *Unio tumidus* та *Mytilus galloprovincialis* за впливу на організм психоактивних препаратів та мікропластику водного середовища», 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:**

кандидат біологічних наук,  
доцент кафедри хімії та методики її навчання  
Тернопільського національного педагогічного  
університету імені Володимира Гнатюка

Володимир ХОМЕНЧУК

Підпис *Хоменчук*  
з а с в і д ч у ю:  
Мачальник відділу кадрів



*Хоменчук*