

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 молюска *Unio tumidus* поокремо та за комбінованої дії»,
представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань
09-«Біологія» за спеціальністю 091-«Біологія»

Поверхневі води України зазнають прогресуючого впливу забруднювачів різного генезису. На сьогодні в урбанізованих та аграрних районах на перший план виступають фармацевтичні препарати, наноматеріали, пестициди, продукти та відходи харчового виробництва. Також дедалі більше занепокоєння викликає забруднення поверхневих вод мікропластиками, які здебільшого представлені дрібнодисперсними поліестерами, поліамідами, поліетиленом, поліакрилатами тощо. При цьому особливу небезпеку предсаляє сорбція на мікрочастинках пластику вищенаведених новітніх супертоксикантів, що посилює їх контакт з гідробіонтами (збільшує їх надходження до організму гідробіонтів).

Саме даній проблематиці приурочена дисертаційна робота Мартинюк Вікторії Валентинівни, в якій авторка досліджує біоаккумулятивні та детоксикаційні здатності прісноводного молюска *Unio tumidus* щодо дії мікропластиків, окремо та у комбінації з ксенобіотиками в залежності від температури.

Дисертаційна 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»

Наукова новизна роботи полягає в тому, авторкою уперше досліджено здатність двостулкового молюска *U. tumidus* акумулювати мікропластик з

середовища, та встановлено високий акумуляційний потенціал їх організму, що створює перспективи використання моллюсків для ідентифікації мікропластику у водоймах. Було визначено відмінності між реакцією перлівниці на вплив мікропластика двох розмірів. Вперше виявлено ознаки редуکتивного стресу у організмі перлівниці за впливу цих токсикантів. З'ясовано акумулюючу роль металотіонеїнів щодо цинку як неспецифічну реакцію на вплив на організм несприятливих чинників. Вперше продемонстровано залежність резистентності моллюсків до комбінованого впливу мікропластику та саліноміцину від температури.

Практичне значення одержаних результатів. Авторкою запропоновано використовувати як оціночний критерій забруднення водних екосистем пластиком акумуляційну здатність його тканинами двостулкових моллюсків.

Біохімічні реакції моллюсків відповідають відомим ефектам для вищих тварин, що дозволяє використовувати дані модельні організми для вивчення впливу поширених ксенобіотиків.

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 Мартинюк В.В. викладена на 158 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 263 посилань (з них 260 латиною). Робота ілюстрована 30 рисунками та 10 таблицями.

В огляді літератури проаналізовано механізми впливу мікропластику на водні організми, показано як мікропластик може посилювати токсичну дію інших новітніх забруднювачів водойм, проаналізовано можливість використання біохімічних показників двостулкових моллюсків для біомоніторингу водного середовища та оцінки стану гідроекосистем. 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 розподільчої хроматографії, електрофорезу, спектрофотометричні, спектральні, мікроскопічні, статистичні. Особливо імпонує використання у дослідженнях сучасних біомаркерних показників (концентрація мікропластику, металотіонеїнів, глутатіону, активність СОД, каталази, катепсинів), які дозволяють оцінити стан організму за інтоксикацій

Експериментальні результати та їх обговорення подані в розділі 3.

В підрозділі 3.1 авторкою розглядаються питання Накопичення мікропластику у організмі двостулкового молюска в експериментальних та польових умовах існування. Встановлено високу здатність накопичувати частинки пластику у організмі двостулкових молюсків, що створює перспективи використання цього показника для індикації забруднення середовища.

В підрозділі 3.2 дисертантка проаналізувала роль металотіонеїнів у адаптації організму *U. tumidus* до дії мікропластику різного розміру та фармацевтичних препаратів (ібупрофену, саліноміцину) за двох температурних режимів. Показано, що частинки мікропластику умовно великого розміру (0,1-0,5 мм) поокремо та в суміші викликають зменшення вмісту металотіонеїнів у тканині травної залози, тоді як МР розміром 2 мкм, навпаки, збільшує їх вміст у тканині. За комбінованої дії з саліноміцином та тепловим чинником їх вміст зменшується. Дія на організм мікропластику та ібупрофену зменшує вміст металотіонеїнів у травній залозі. Разом з тим, вміст металюваного протеїну (Zn-МТ) зростав майже у всіх експериментальних групах за впливу МР обох розмірів, забезпечуючи резерв Цинку у тканині. Зміни у рівні металювання металотіонеїнів та дисбаланс Цинку і Купруму у експериментальних групах дозволяє припустити зміни у редокс балансі за участю тіолів за впливу на організм молюска МР та фармацевтичних препаратів.

У підрозділі 3.3 авторка досліджує параметри системи антиоксидантного захисту у травній залозі молюсків *U. tumidus* за впливу на організм мікропластику різного розміру та фармацевтичних препаратів. Відмічено, що реакція системи окисного/відновного стресу на вплив мікропластика та ібупрофену поокремо та у комбінації більше залежала від адаптивного потенціалу, сформованого у популяції, ніж від природи діючого чинника. При цьому популяція із референтної

місцевості виявилась менш стресостійкою, оскільки окисний стрес був більше виражений у групах з цієї території (за ознаками пригнічення Cu,Zn-SOD та зростанням рівня TBARS). У групах із антропогенно навантаженої території проявлялась малоспецифічна до природи діючого чинника активація SOD та зменшення окисного ураження протеїнів.

Мікропластик з розміром частинок 2 мкм не викликав змін системи окисного стресу у молюсків. Проте, його суміш з саліноміцином, особливо за температури 18°C, активувала ензими антиоксидантного захисту Mn-SOD та каталазу. Показники системи глутатіону зазнавали більшого ураження за впливу на організм мікропластику малого розміру. Препарати ібупрофен та саліноміцин в цілому не впливали на стан системи глутатіону.

У підрозділі 3.4 Мартинюк В.В. досліджує параметри апоптозу та лізосомальної функціональності в організмі *U. tumidus* за дії мікропластику та фармацевтичних препаратів поокремо та у комбінаціях.

Було встановлено, що за дії мікропластику та фармацевтичних препаратів у травній залозі молюска мали місце значні зміни у активності систем апоптозу/аутофагії, що визначаються адаптаціями, сформованими у популяції (узгоджена активація каспази-3 та катепсину Д у популяції із антропогенно трансформованої місцевості) та розміром частинок мікропластику (активація каспази-3 MP за дії 2 мкм). Ібупрофен активував лізосомальний шлях загибелі клітин, а саліноміцин викликав узгоджену активацію цитоплазматичного та лізосомального шляхів. Тепловий вплив нівелював реакцію ензимів апоптозу/аутофагії на дію суміші ксенобіотиків.

Четвертий розділ роботи був приурочений аналізу та узагальненню одержаних результатів. Проведено досконалу статистичну обробку результатів дослідження з використанням факторного, канонічного дискримінантного, кореляційного аналізу тощо. Наведено узагальнюючу схему реакцій досліджуваних показників на вплив мікропластику (0.1–0.5 мм та 2 мкм), фармпрепаратів ібупрофену та саліноміцину та їх сумішей за температур 18°C та 25°C на організм *U. tumidus* з антропогенно-трансформованої та референтної місцевостей за характеристиками травної залози при субхронічному експерименті. Виявлено неспецифічні біохімічні зміни у функціонуванні травної

залози молюска, які характеризують його чутливість до змін середовища і здатність адаптуватися до них.

Проаналізовано вплив на організм мікропластиків різних розмірів на характер біохімічних реакцій молюска. Так мікропластик більшого розміру мав більш виражений прооксидантний вплив, а частинки меншого розміру стимулювали узгоджену активність проапоптичних чинників, спрямовану на знешкодження уражених клітин.

Також було вивчено особливості взаємодії між мікропластиком та фармацевтичними препаратами у організмі молюска. На основі дискримінантного аналізу показано, що дія ібупрофену має відмінні ознаки у двох популяціях перлівниці, а ознаки поєднаної дії ібупрофену та мікропластика, особливо у референтній популяції молюсків, мають значні відмінності від реакцій на індивідуальну дію. Для обох фармацевтичних препаратів, ібупрофену та саліноміцину, було виявлено принципову відмінність між їх фізіолого-біохімічними впливами. В цілому, поєднана дія МР та ібупрофену або саліноміцину викликала непрогнозовані на підставі даних про їх поодинокую дію реакції організму перлівниці, причому ці ознаки (за дослідженого впливу ібупрофену або впливу підвищеної температури у серії мікропластику та саліноміцину), відрізнялися за поєднанням із ще одним супутнім чинником.

Популяція, адаптована до антропогенно модифікованого середовища, виявилась більш резистентною до додаткових екологічно реальних навантажень складниками, які є типовими мікрополутантами таких водойм – мікропластика та нестероїдного протизапального препарату. З іншого боку, у популяції, яка у своїй життєвій історії не мала досвіду реагування на такі полутанти, кожний з них викликав більш специфічну і чутливу реакцію систем стресу та детоксикації.

З використанням факторного аналізу 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 та 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.

Одержані дисертанткою дані ґрунтовно проаналізовані, обговорені, пов'язані з літературними повідомленнями. Висновки дисертації повністю витікають з експериментальних даних. Заслуговує 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. Чому обрали мікропластики, які відрізнялися за розмірними характеристиками приблизно у 50-250 разів (0,1-05 мм ПЕТ; 2 мкм полістирол)? Чи не були саме розмірні характеристики МР визначальними у токсичній дії на молюсків?
2. У Вас неодноразово згадується поняття «адаптаційний потенціал молюсків». Що Ви розумієте під цією категорією? Які критерії використовували для його встановлення?
3. Один із показників, який Ви визначали співвідношення $NAD^+/NADH$. При цьому дане співвідношення зростає, що Ви констатуєте як відновний стрес. На перший погляд це виглядає не зовсім зрозуміло, адже збільшується кількість відновних еквівалентів у клітині. Можливо тут мається на увазі певною мірою гіпоксія? Як це пояснити?
4. В роботі неодноразово вказується, що преадаптація, як правило, збільшує опірність організму до несприятливих чинників. Чи завжди так відбувається?
5. У висновках сказано «Тепловий вплив нівелює реакцію ензимів апоптозу/аутофагії на дію суміші ксенобіотиків». На Вашу думку це сприятливий вплив температурного чинника на молюсків чи просто виснаження організму?

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 15 праць, у тому числі 2 патенти на корисну модель 5 статей у фахових виданнях, з яких 3 у виданнях з сумарним імпаکت-фактором 11,66, $h=6$ згідно баз даних Scopus, та 8 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 Мартинюк Вікторії Валентинівни на тему «Біохімічні механізми впливу мікропластику на організм двостулкового молюска *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:

кандидат біологічних наук,

доцент кафедри хімії та методики її навчання

Тернопільського національного педагогічного

університету імені Володимира Гнатюка

Володимир ХОМЕНЧУК

