

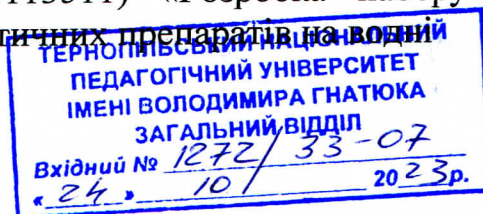
До разової спеціалізованої вченої ради ДФ 58.053.037  
Тернопільського національного педагогічного  
університету імені Володимира Гнатюка  
(46027, м. Тернопіль, вул. Максима Кривоноса, 2)

### **ВІДГУК**

на дисертаційну роботу Вікторії МАРТИНЮК  
«Біохімічні механізми впливу мікропластику на організм двостулкового  
молюска *Unio tumidus* поокремо та за комбінованої дії»,  
подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань  
09 – Біологія, за спеціальністю 091 – Біологія.

**Актуальність обраної теми.** На сьогодні, забруднення водного середовища продуктами антропогенного походження є однією з глобальних екологічних проблем. Серед «новітніх забруднювачів», які викликають занепокоєння у громадськості та науковців, чільне місце належить мікропластику – дрібним частинкам пластику розміром менше 5 мм і вони можуть бути вироблені шляхом розкладання більших пластикових виробів або бути доданими у продуктах, таких як деякі косметичні засоби та засоби для чищення. Останніми роками дослідники виявляють наявність мікропластику у воді з-під крану та в питній бутильованій воді. Це ставить питання про ризики здоров'я для людини, а також про вплив на водні організми. Екотоксичність мікропластику зараз активно вивчається. Водночас, завдяки суттєвому поширенню у водах, довговічності, здатності сорбувати на своїй поверхні гідрофобні, молекули, в тому числі різні ксенобіотики, мікропластик може діяти як вектор посилення транспорту цих речовин у організм водних тварин. Прогноз біологічних наслідків від комбінацій цих чинників (мікропластику та ксенобіотику) у реальному середовищі ускладнюється екологічними факторами, такими як екстремальні теплові впливи та преадаптація організмів у певному біотопі до локальних екологічних особливостей. Тому актуальним є дослідження з пошуку адекватних модельних схем та чутливих біомаркерів для оцінки екотоксичності комбінованого забруднення довкілля мікропластиком та різними ксенобіотиками для водних організмів. У цьому плані двостулкові молюски у зв'язку з їх осілим способом існування, фільтруючим способом живлення та високою пластичністю метаболізму розглядаються як відповідні біоіндикатори у подібних екотоксикологічних дослідженнях. Тому тема дисертаційного дослідження, присвячена впливу мікропластику та поширених фармацевтиків на організм двостулкового молюска *Unio tumidus* поокремо та за комбінованої дії, є актуальною.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.** 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».

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.** Дисертантка разом з науковим керівником чітко сформулювала мету дослідження, яка полягала в оцінці здатності молюска *U. tumidus* акумулювати мікропластик водного середовища та пошуку потенційних молекулярних мішеней, задіяних у біохімічній відповіді на його вплив окремо та у поєднанні з супутніми фармацевтиками, ібупрофеном та саліноміцином, за субхронічної обробки. Мета роботи та поставлені завдання реалізовані в повному обсязі через виконання значного і достатнього обсягу експериментальних досліджень, з використанням необхідної для отримання статистично достовірних даних кількості організмів та відповідних контролів. Результати проведених досліджень статистично опрацьовані. На підставі аналізу отриманих результатів досліджень були сформульовані обґрунтовані висновки. Для пояснення отриманих результатів дисертантка провела ґрунтовний порівняльний аналіз з відповідними експериментальними роботами інших авторів. Дисертаційна робота написана державною мовою. Порушень норм академічної доброчесності не виявлено.

**Структура дисертації.** Дисертація Вікторії МАРТИНЮК загальним обсягом 158 сторінок 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 263 джерела (з них 260 джерел англійською мовою). Робота ілюстрована 30 рисунками та 10 таблицями.

**Анотація** висвітлює коротко зміст дисертації від формулювання актуальності та мети роботи до викладення основних результатів дослідження, їх новизни та рекомендацій щодо практичного використання.

**В огляді літератури** висвітлено сучасний стан забруднення водного середовища найбільш поширеними видами мікропластику та проаналізовано механізми його впливу на водні організми. Обґрунтовано, що мікропластик може посилювати токсичну дію інших забруднювачів, зокрема фармацевтиків ібупрофену та саліноміцину. Вказано на можливість використання біохімічних показників перлівниці, таких як вміст металотіонеїнів, для оцінки водного середовища та стану гідроекосистем. Літературний огляд складається з посилань останніх років та є достатньо інформативним.

**Розділ матеріали та методи** містить ґрунтовний опис всіх застосованих у роботі фізико-хімічних та біохімічних методів (спектрофотометричні, спектральні, мікроскопічні, електрофорез). Використаний широкий арсенал сучасних методів дослідження відповідає меті та завданням роботи.

Особливої уваги заслуговує той факт, що для визначення акумуляційної здатності двостулкових молюсків використаний метод, який розробила дисертантка разом з науковим керівником.



**Експериментальні результати та їх обговорення** подані в розділі 3, який складається з 4 підрозділів. У підрозділі 3.1 авторка визначала здатність двостулкового молюска накопичувати мікропластик в лабораторних та в природніх умовах існування. Було встановлено високу акумулятивну здатність організму, що створює перспективи використання цього організму для індикації забруднення середовища мікропластиком. У підрозділі 3.2 авторка проаналізувала роль металотіонеїнів у адаптації організму до дії мікропластику двох розмірів та фармацевтичних препаратів (саліноміцин, ібупрофен) за двох температурних режимів та демонструє, що дія мікропластику розміром 0,1-0,5 мм поокремо та в суміші викликають зменшення вмісту металотіонеїнів, тоді як мікропластик розміром 2 мкм поокремо та у комбінації із фармацевтиком, навпаки збільшує їх вміст.

У підрозділі 3.3 дисертантка досліджувала параметри системи антиоксидантного захисту у травній залозі молюска за впливу ксенобіотиків. Реакція системи окисного/відновного стресу більше залежала від адаптивного потенціалу, сформованого у певній популяції ніж від впливу досліджуваних чинників. Популяція із референтної місцевості виявилась менш стресостійкою (окисний стрес був більше виражений у представників цієї території), ніж організми із антропогенно навантаженої території.

Параметри апоптозу та лізосомальної функціональності в організмі *U. tumidus* авторка досліджувала у підрозділі 3.4. За дії ксенобіотиків у травній залозі двостулкового молюска спостерігали значні зміни у активності систем апоптозу/аутофагії. Зміни систем визначались адаптивною здатністю організмів сформованої у певній популяції (активація каспази-3 та катепсину Д у антропогенно забрудненій популяції) та розміром частинок мікропластику (за дії мікропластику розміром 2 мкм – активація каспази-3). Тепловий чинник нівелював реакцію ензимів на спільну дію ксенобіотиків.

У розділі 4 була проведена статистична обробка результатів дослідження з використанням сучасних методів математичного аналізу. Наведено узагальнюючу схему відповідей організму на вплив досліджуваних ксенобіотиків. Виявлено неспецифічні біохімічні зміни у функціонуванні травної залози молюска, які характеризують чутливість до мінливих змін середовища існування та здатність адаптуватись до них. Також було вивчено особливості взаємодії фармацевтичних препаратів та мікропластиків різних розмірів у організмі молюска.

За допомогою факторного аналізу було проаналізовано зв'язок між окремими відповідями двостулкового молюска *U. tumidus* у обох серіях дослідження, як за окремих впливів мікропластиків, так і у поєднанні з поширеними фармацевтиками. Отримані результати виявили, що у проведених серіях дослідження існують схожі закономірності відповідей біомаркерів, які з високою ймовірністю визначають реакцію системи.

З отриманих результатів авторка формує 5 висновків, які повністю відповідають завданням дослідження.

**Новизна основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій, а також проведених наукових досліджень та отриманих результатів.** У дисертаційній роботі встановлено високий акумуляційний



потенціал організму двостулкового молюска *U. tumidus*, що створює перспективи використання їх для ідентифікації мікропластику у водному середовищі. Авторка встановила відмінності між реакцією перлівниці на вплив мікропластику двох розмірів та було підтверджено синергічний ефект мікропластику за комбінованого впливу з поширеними у водному середовищі фармацевтиками. Дисертанткою вперше виявлено ознаки редуکتивного стресу, як найбільш послідовну і чутливу реакцію на пошкоджуючі впливи різної природи у організмі двостулкового молюска. Встановлено акумулюючу роль металотіонеїнів щодо цинку, що є неспецифічним проявом за впливу на організм несприятливих чинників. Доведено вирішальний вплив адаптаційного потенціалу, сформованого у певній популяції, на здатність молюска до реакції на стрес та стратегії кінцевих наслідків несприятливих впливів.

**Повнота викладу основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій в опублікованих працях.** За матеріалами дисертації опубліковано 15 праць, у тому числі 2 патенти на корисну модель, 5 статей у фахових виданнях, з яких 4 входять до науково-метричної бази Scopus (дві статті у журналах Q1 та одна у журналі – Q2), 8 – матеріали і тези доповідей на з'їздах і конференціях. Основні наукові положення дисертаційного дослідження повністю, на професійному рівні викладені у представлених публікаціях та обговорені на наукових зібраннях.

#### **Дискусійні питання, побажання та зауваження:**

Принципових недоліків у роботі мною не виявлено, але є ряд питань дискусійного або уточнювального характеру та зауваження до оформлення.

1. Виявлені біохімічні зміни в травній залозі перлівниці за впливу мікропластику різного розміру 0,5-1 мкм та 2 мкм дисертанткою пояснюються виключно різницею у розмірі частинок. Але ж мікропластик також був різного хімічного складу: 0,5-1 мкм МР – це були ПЕТ (поліетилентерефталат) частинки, а 2 мкм МР – частинки полістиролу. Чи може тип частинок, а не лише розмір, зумовлювати одержані ефекти?
2. Варто пояснити детальніше, чому для оцінки впливу температури взяли власне температуру 25°C, тобто наскільки комфортною ця температура є для молюска *Unio tumidus*. І чи піддаються впливу такої температури молюски у природніх водоймах, з яких вони були зібрані?
3. Молюски з референтної водойми мали вищий вміст металотіонеїнів, вищу потужність антиоксидантних ферментів та вищий вміст глутатіону, ніж особини антропогенно навантаженої ділянки після періоду акліматизації. Які потенційні пояснення цього можуть бути? Бо пояснення на кшталт «Можна припустити, що в організмів із референтної місцевості наявні кращі умови для біосинтезу металотіонеїнів, ніж в організмів, які перебувають під хронічним впливом токсикантів» виглядають не зовсім науково. Н-д, чи міг це бути результат гормезису? Бо навіть у відносно чистій воді молюски могли зазнати впливу низьких доз різних речовин чи стресів.



4. Зменшення у балансі  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  аргументуються тим, що молюски факультативні анаероби – і могли переходити з аеробного дихання на анаеробне дихання. Чи можна було б це перевірити додатково?

5. Таблиця 4.1.1. Чому зростання рівня відновленого глутатіону – ознака окисного стресу, а зниження – то редукційного? І дисертантка по тексту часто оперує поняттями окисний та редукційний (редуктивний стрес), але самого пояснення, що вкладено у ці поняття не має. У вступі коротко згадано, що «актуальним є дослідження характеристик редукційного стресу, а саме відновного статусу функціональних груп їх біомолекул». У цьому контексті відновлений глутатіон також показник відновного статусу.

6. Вплив мікропластику поокремо та у комбінації з ксенобіотиками на системи автофагії та апоптозу обговорюється окремо від впливу на систему антиоксидантного захисту та процеси окислення. Але очевидно ж між ними є взаємозв'язок, який варто було б обговорити.

7. Наявні дрібні друкарські огріхи, як-то відсутність ком та крапок та помилки у словах, вживання русизмів: «у якості біохімічних мішеней» замість «як біохімічні мішені»; «у свою чергу» замість «своєю чергою»; «у порівнянні з» замість «порівняно з»; «в залежності від» замість «залежно від». Анотація англійською мовою містить стилістичні помилки.

8. Є некоректно сформульовані фрази:

– «водні молюски є облігатними анаеробами» (стор. 24), хоча далі по тексту вказується, що молюски – факультативні анаероби.

– «Вплив МР концентрацією 0,26 мг/л на *Dicentrarchus labrax* спричиняла у мозку» (стор. 32).

– «загибеллю клітин у нейронах» (стор. 47).

– «до специфічних ефектів ібупрофену можна віднести антиоксидантну активність», – у тому контексті, що вживає далі дисертантка – ібупрофен стимулює антиоксиданту систему організму, але не є власне антиоксидантом.

9. Є неточності у цитуваннях, н-д:

– стор. 37. – абзац про вплив саліноміцину транспорт  $\text{K}^+$  з мітохондрій – цитує джерело по антимікробній активності саліноміцину і де описані механізми не згадуються.

– стор. 79 – фраза про «співвідношення вмісту  $\text{Zn}/\text{Cu}$  вважають одним із діагностичних показників патологій» – а у посиланні література, яка описує акумуляцію  $\text{Cd}$  та  $\text{Zn}$ .

Загалом, наведені коментарі не знижують цінність роботи та не впливають на загальну оцінку.

### **Висновок**

Дисертаційна робота Вікторії МАРТИНЮК «Біохімічні механізми впливу мікропластику на організм двостулкового молюска *Unio tumidus* поокремо та за комбінованої дії», 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, завідувач кафедри біохімії та біотехнології  
Прикарпатського національного університету  
імені Василя Стефаника

Марія БАЙЛЯК

