

ПРАКТИЧНИЙ ДОСВІД ДОСЛІДЖЕННЯ КОМПЛЕКСНИХ НЕСПРИЯТЛИВИХ ВИКЛИКІВ ДОВКІЛЛЯ НА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ МОДЕЛІ ДВОСТУЛКОВОГО МОЛЮСКА

Вікторія МАРТИНЮК

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка

Актуальність. Існування живих організмів в сучасному світі знаходиться під небезпекою, адже на сьогоднішній день спостерігається глобальне забруднення середовища та різка зміна клімату. Спільна дія цих чинників важко прогнозується [2]. Хоча біомаркери водних організмів є інформативними, тобто селективними та чутливими, показниками впливу цих чинників, проте, за комплексної дії чинників довкілля, окремі біомаркери не можуть давати адекватних результатів щодо стану організмів [5]. У останні роки змінюється структура хімічного забруднення середовища, що поєднується із різкою зміною температури довкілля, що у поєднанні прогнозовано перевищує адаптивні можливості організмів. Існує досвід використання різноманітних модельних організмів для з'ясування впливу довкілля на людину. Важливе місце серед цих моделей займають двостулкові молюски, які ведуть осілий спосіб життя, фільтрують та акумулюють речовини з водного середовища, мають високий рівень реактивності геному та, за низкою ознак, подібну реакцію на екстремальні впливи до вищих хребетних.

Метою даної роботи стало оцінити вплив комплексних несприятливих викликів довкілля на організм двостулкового молюска *Unio tumidus* за умов їх існування у природних популяціях.

Матеріали та методи: спектрофотометричні, морфометричні та статистичні, аналітичні (вивчення досвіду вітчизняних та іноземних науковців).

Результати досліджень. Як модель для дослідження комплексних несприятливих викликів використовується модель молюсків з водойм, які піддавались постійному впливу техногенного забруднення (водойми ГЕС). Ця модель є новою і практично не використовувалась у світовому досвіді із залученням біохімічних маркерів.

Серед біомаркерів, подібних у молюсків та вищих хребетних, варто відзначити активність ключових інструментів апоптозу, тобто керованого самознищення клітин. Серед них на особливу увагу заслуговує ензим протеолітичної дії каспаза-3. Інформація щодо активності каспаз у двостулкових молюсків досить обмежена. Обидва шляхи, зовнішній і внутрішній, реалізуються через її активацію довів Romero A., що гени каспаз у *Mytilus galloprovincialis* мають екстремально високий рівень експресії у травній залозі та зябрах [4]. Це забезпечує, у свою чергу, високий рівень видалення ушкоджених клітин. Проте, довготривала аклімация до підвищеної температури (30 діб при 34 °C) у щурів призводила до виникнення апоптоз-резистентного фенотипу [1].

Інша система апоптозу, яка може бути залучена до автофагії та некрозу – це функціонування лізосом. Стосовно участі лізосом у забезпеченні апоптозу у молюсків інформація обмежена. Як відомо, лізосоми у клітинах молюсків є органелами інтенсивного внутрішньоклітинного травлення. Вони відповідальні за аутофагію – вилучення ушкоджених протеїнів та органел та внутрішньоклітинне травлення. У останні роки було показано, що лізосоми є мішенню широкого кола забруднювачів та присутні у всіх ядерних клітинах, тобто не мають видової специфічності. Підвищена катаболічна активність та ураження лізосом можуть провокувати, як віддалений наслідок, вихід кислотних гідролаз у цитозоль, що, у свою чергу, може викликати більш тяжке ураження та смерть клітини [3]. Вихідним чинником для ураження лізосом може бути не лише пряме пошкодження їх мембрани, але і активація або ж розбалансування кальцій та тирозинкіназно-залежних клітинних сигнальних шляхів [1]. Підтримання стабільності лізосомальних мембран в експериментальних умовах протягом більше 20 хв вважається показником нормального стану, її зменшення до діапазону

20-10 хв – ознакою компенсованого стресу, а до часу менше 10 хв – ознакою тяжкого стресу і патології.

Ми дослідили, що стабільність лізосом та активність і розподіл між лізосомами та позалізосомальним оточенням катепсину D, як однієї з ключових протеаз, виявились чутливими показниками стану молюсків залежно від місця їх оселення (у резервуарі Касперівської ГЕС та у ділянці після дамби). Повідомлялося, що дестабілізація лізосом відбувалася за теплового стресу, особливо за екстремальних умов середовища.

У естремальних умовах змінюються енергетичні вимоги організму. Відзначено сезонну залежність (зменшення восени на порядок) концентрацій лактату і пірувату у травній залозі молюсків. У молюсків, зібраних у літній період, відзначено вищий рівень пірувату у травній залозі. Співвідношення концентрацій лактату та пірувату становить 5,5 – 5,8 у молюсків за нормальних умов. Концентрацій лактату та пірувату становить 3,3 та 6,6 за підвищеного температурного фону, що є свідченням істотних відмінностей у режимі оксигенації.

Відтак, показники апоптозу дозволяють чутливо диференціювати вплив умов існування в умовах забруднення та підвищеної температури.

Висновки: Отримані результати дослідження дозволили визначити природу чинників, які діють на двостулкових молюсків за допомогою використання біомаркерів апоптозу, метаболічної активності та токсичності.

Відзначено низький рівень стабільності лізосомальних мембран у відібраних молюсків.

Спостерігаються метаболічні зміни у організмі молюсків у зв'язку з існуванням у водоймі, що зазнає комплексного впливу хімічного та теплового забруднення.

Таким чином, наше дослідження дозволило адекватно оцінити вплив техногенного забруднення на живі організми, зокрема молюсків *Unio tumidus*, що може служити для подальшого аналізу наслідків антропогенної активності та ураження кінцевої ланки ланцюга цієї активності – власне людини.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Faggio C., Tsarpali V., Dailianis S. Mussel digestive gland as a model tissue for assessing xenobiotics: An overview. *Science of the Total Environment*. 2018. Vol. 636. P. 220–229.
2. Gnatyshyna L., Khoma V., Mishchuk O., Martinyuk V., Sprinġe G., Stoliar O. Multi-marker study of the responses of the *Unio tumidus* from the areas of small and micro hydropower plants at the Dniester River Basin, Ukraine. *Environmental Science and Pollution Research*. 2020. Vol. 27. P.11038–11049.
3. Moore M. N., Allen J. I., McVeigh A., Shaw J. Lysosomal and autophagic reactions as predictive indicators of environmental impact in aquatic animals. *Autophagy*. 2006. Vol. 2, No. 3. P. 217–220.
4. Romero A., Estévez-Calvar, N., Dios S. et al. New insights into the apoptotic process in mollusks: characterization of caspase genes in *Mytilus galloprovincialis*. PLoS ONE. 2011. Vol. 6, No. 2. P. e17003
5. Khoma V., Gnatyshyna L., Martinyuk V, Rarok Yu., Mudra A., Stoliar O. Biochemical responses of the bivalve mollusk *Unio tumidus* inhabiting a small power plant reservoir on the Dniester River basin, Ukraine. *Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology*. #BECT-D-20-00270R1, article as in press.