Рецензія

на дисертаційну роботу Дрюка Миколи Миколайовича

"Нейроактивні забруднювачі навколишнього середовища: мембрано-асоційовані механізми дії та шляхи подолання нейротоксичності",

представленої на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія, 09 – Біологія.

Токсичні властивості ртуті відомі з давніх-давен. Сполуки ртуті застосовували для різних цілей, у тому числі і як отруту. З давніх часів відома також і металева ртуть, хоча її токсичність спочатку недооцінювали. Ртуть і її сполуки особливо широко застосовували в середні віки, зокрема при виробництві золота та срібних дзеркал (у вигляді амальгам), а також при виготовленні фетру для капелюхів, що викликало хвилю професійних отруєнь. Хронічне отруєння ртуттю тоді називали «хвороба старого капелюшника». Використовували ртуть і в антисептичних цілях, і навіть для навмисного отруєння. У навколишньому середовищі вміст ртуті незначний, проте її токсичні сполуки дуже активні. Слід брати до уваги той факт, що основним джерелом надходження ртуті до довкілля є геологічні та геохімічні процеси в земній корі, а аж ніяк не діяльність людини. Так, антропогенне забруднення навколишнього середовища ртуттю наприкінці 90-х років минулого століття становило приблизно 40% від загальної емісії металу. Інші 60% забезпечувалися за рахунок вулканічної діяльності. У 1971-2006 рр. світове виробництво та використання ртуті скоротилося майже на порядок (з 10400 до 1150 тонн на рік), що призвело до подальшого зниження частки антропогенного забруднення природи цим металом. Але з 2006 року виробництво ртуті почало зростати і в 2018 р. становило 4080 тонн на рік.

Вплив ртуті, особливо в комплексі з іншими техногенними факторами, на організм людини і тварин на сьогодні практично не вивчено. Незважаючи на тривале дослідження молекулярних механізмів впливу токсичних речовин на біологічні системи організму, до цього часу це питання залишається

відкритим. Тому видається важливим встановлення шляхів токсичної дії ртуті на життєво важливі органи ссавців і розробка підходів до створення потенційних адсорбентів ртуті.

Дисертаційну роботу М.М. Дрюка присвячено встановленню молекулярних механізмів гострої нейротоксичної дії іонів ртуті (Hg^{2+}) у пресинаптичних нервових закінченнях головного мозку щурів, дослідженню особливостей комбінованої дії Hg^{2+} та вуглецевих частинок диму, а також оцінці перспективності різних наноматеріалів як потенційних адсорбентів (хелаторів) цього металу в біологічних системах.

Актуальність вибраної теми дисертації. Етіологія нейрологічних розладів досі залишається нез'ясованою, а їх стабільне зростання пов'язують, зокрема, із забрудненням довкілля важкими металами та твердими частинками повітря (PM), що викликає розвиток нейропатологій, таких, як інсульт, хвороби Альцгеймера та Паркінсона, а також розлади у розвитку нервової системи.

Особливу небезпеку становить ртуть, яка здатна накопичуватися в організмі та порушувати функціонування центральної нервової системи. Вплив забруднення повітря твердими частинками призводить до когнітивної дисфункції. Молекулярні механізми розвитку патологій мозку, спричинених забрудненням повітря PM, не вивчено. Забруднювачі повітря мають різну природу та походження, а тому - і різноманітні нейроактивні властивості.

Оскільки ртуть присутня як значний компонент забруднення повітря, води та ґрунту, очікується її взаємодія з твердими вуглецевими частинками диму. Очікується, що нейротоксична дія ртуті та твердих вуглецевих частинок у повітрі може посилюватись у комплексі ртуть-частинки.

Дослідження мультикомпонентного забруднення є дуже перспективними для оцінки якості навколишнього середовища та ризику для здоров'я людини та біологічних організмів в цілому. У цьому контексті оцінка нейротоксичності комбінованого впливу ртуті та вуглецевих частинок

у повітрі є значущою з точки зору сучасного мультикомпонентного підходу оцінки ризиків, однак даних літератури щодо цього питання немає.

Вуглецеві точки (CDs) мають специфічні та унікальні властивості, що робить їх цікавими об'єктами дослідження та перспективними для широкого спектра застосувань, оскільки вони містять численні функціональні групи, які забезпечують ефективне та екологічно безпечне видалення важких металів та використання їх у ролі хелаторів. Враховуючи все вищезазначене, актуальність запропонованої роботи є безсумнівною.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами. Дисертація відповідає основному плану фундаментальних досліджень, які проводяться у відділі нейрохімії Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України за бюджетними темами: «Молекулярні механізми порушення транспортування збуджуючих та гальмівних нейромедіаторів у пресинапсі за умов нейропатологій та шляхи його корегування» (Тема № 3; 0124U000232, з 2024р); «Вивчення механізмів регуляції та рецептор-опосередкованої модуляції екзоцитозу та активного транспорту нейромедіаторів у пресинапсі в нормі та за умов, що призводять до розвитку нейропатологій» (тема № 3, 0119U002509 2019-2023 рр).

Мета і задачі дослідження. Мета роботи полягала у встановленні молекулярних механізмів гострої нейротоксичної дії Hg^{2+} у нервових терміналях головного мозку щурів та оцінці перспективності різних наноматеріалів як потенційних адсорбентів/детоксикантів цього металу в біологічних системах. Для досягнення мети було поставлено завдання дослідити вплив Hg^{2+} на транспортування збуджуючого нейротрансмітера L-[^{14}C]глутамату у нервових терміналях головного мозку щурів; розробити методичний підхід для моніторингу здатності різних частинок/сполук до хелатування Hg^{2+} в біологічних системах; провести аналіз комбінованого впливу Hg^{2+} та твердих вуглецевих частинок диму на ключові параметри

нейропередачі у нервових терміналях; дослідити потенційний нейротоксичний ризик мезопористих кремнеземних наночастинок, функціоналізованих SH-, SO_3H- та NH_2-групами, та їх здатність знижувати нейротоксичну дію Hg^{2+}.

Наукова новизна одержаних результатів. Наукове значення роботи полягає у встановленні нових закономірностей гострої нейротоксичної дії іонів Hg^{2+} на пресинаптичні нервові закінчення головного мозку та з'ясуванні механізмів порушення глутаматергічної і ГАМК-ергічної нейропередачі. Вперше показано, що ексайтотоксичне підвищення позаклітинного рівня глутамату за дії Hg^{2+} обумовлено пригніченням функціональної активності транспортерів глутамату, а не пошкодженням плазматичної мембрани чи посиленням тонічного вивільнення нейромедіатора. Вперше проведено порівняльну оцінку біосумісності та Hg^{2+}-адсорбувальних властивостей карбонових точок різного походження, наноалмазів і функціоналізованих мезопористих кремнеземних наночастинок у моделі нервових терміналей. Встановлено, що лише карбонові точки, синтезовані з лимонної кислоти та сечовини, здатні послаблювати Hg^{2+}-індуковану ексайтотоксичність. Також отримано нові дані щодо адитивного нейротоксичного ефекту комбінованої дії твердих частинок диму та Hg^{2+}, що розширює сучасні уявлення про механізми мультизабруднювальної нейротоксичності.

Практичне значення одержаних результатів. Практичне значення роботи полягає у розробці експериментального підходу з використанням пресинаптичних нервових терміналей головного мозку як високочутливої тест-системи для оцінки біосумісності наноматеріалів, їх нейротоксичності та здатності до адсорбції (хелатування) іонів важких металів у біологічних системах. Отримані результати обґрунтовують перспективність застосування карбонових точок, синтезованих з лимонної кислоти та сечовини, як безпечних наноматеріалів для створення сорбентів та детоксикаційних

препаратів для видалення ртуті з організму. Встановлена висока біосумісність функціоналізованих мезопористих кремнеземних наночастинок свідчить про доцільність їх подальшого використання як наноплатформ для адресної доставки біологічно активних речовин і лікарських засобів. Результати дослідження також може бути використано для розробки нових підходів до оцінки ризиків комбінованого впливу важких металів та вуглецевих твердих частинок диму на нервову систему, а також у дослідженнях з екологічної нейротоксикології, нанобіотехнології та нейрофармакології.

Структура та обсяг дисертації: дисертація складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, результатів дослідження, аналізу та узагальнення результатів, висновків і списку використаної літератури (127 джерел), а її основний зміст викладено на 117 сторінках машинописного тексту; містить 15 рисунків та 7 таблиць.

У **вступі** обґрунтовано актуальність теми дисертації, вказано зв'язок роботи з науковими програмами, визначено мету, завдання, об'єкт і предмет досліджень, методи дослідження, вказано наукову новизну й практичне значення одержаних результатів, наведено дані щодо апробації та публікацій.

В **огляді літератури**, викладеному на 37 сторінках, наведено матеріал щодо впливу шкідливих факторів навколишнього середовища на ключові процеси синаптичної передачі центральній нервовій системі. Показано зв'язок між підвищеним екологічним впливом і інтоксикацією організмів важкими металами та забруднення повітря твердими частинками (PM), з одного боку, та етіологією і патогенезом нейрологічних розладів і нейродегенеративних захворювань, включаючи хворобу Альцгеймера та хворобу Паркінсона з іншого боку. Огляд літератури є змістовним – таким, що демонструє високий рівень теоретичної підготовки автора. Детальний аналіз даних літератури дозволив автору визначити напрямки та основні завдання дисертаційної роботи.

Використані у роботі методи досліджень детально описано у **другому розділі**. Детально описано методи отримання синаптосом, вивільнення/накопичення L-[^{14}C]глутамату і [^{3}H]ГАМК, визначення мембранного потенціалу. На окрему увагу заслуговує метод оптимізації методології синтезу препаратів суспендованих у воді твердих частинок диму від згоряння тополі з наступними біотоксикологічними дослідженнями *in vitro*.

Методи, використані в роботі, не лише сучасні, але й різнопланові. Вважаю, що поєднання біохімічних, фізико-хімічних та фізичних методів дослідження дало можливість вирішити поставлені автором завдання. Якість проведених експериментів не викликає сумніву.

В **третьому розділі** викладено результати, отримані автором. Результати структуровано на підрозділи. В **першому підрозділі** показано, що зниження життєздатності клітин, індуковане $HgCl_2$, суттєво послаблюється за наявності антагоніста N-метил-D-аспартатних (NMDA) рецепторів, що свідчить про залучення глутаматергічних механізмів до реалізації її нейротоксичної дії. Визначено, що загибель нейронів, спричинена сполуками ртуті, значною мірою пов'язана з розвитком глутамат-опосередкованої ексайтотоксичності. Також отримані результати підтвердили можливість застосування агрегометричного підходу для дослідження реакції синаптосом за умови впливу важких металів.

У **другому підрозділі** автором було досліджено модуляторний вплив класичних молекулярних хелаторів, вуглецевих точок та наноалмазів на Hg^{2+}-індуковані ефекти у нервових терміналях. Запропоновано експериментальний підхід для оцінки здатності наноматеріалів до зв'язування Hg^{2+} у біологічних системах. Встановлено, що вуглецеві точки, синтезовані з лимонної кислоти та сечовини, зв'язують Hg^{2+} і послаблюють її ексайтотоксичну дію в нервових терміналях, тоді як наноалмази не виявляють хелатувальних властивостей.

В **третьому підрозділі** показано, що тверді частинки аерозолю диму від згоряння деревини тополі не модифікували Hg^{2+}, а також не впливали на

зміни мембранного потенціалу та закислення синаптичних везикул за умов їх комбінованої дії з Hg^{2+}.

В **четвертому підрозділі** автором показано, що мезопористі наночастинки кремнезему, функціоналізовані групами -SH та $-SO_3H$ та із закріпленими аміногрупами не продемонстрували ознаки гострої нейротоксичності, тобто високу біосумісність. Наночастинки не пом'якшували гостру нейротоксичність, індуковану Hg^{2+}, в нервових закінченнях, і тому не адсорбували цей метал в біологічній системі. Отже, наночастинки мають перспективи для використання як адсорбенти/носії інших речовин, окрім важких металів, у медицині та біотехнології.

В **заключній частині** обговорено і узагальнено наведену інформацію, проаналізовано наукові знахідки в контексті їхнього фундаментального значення та способів їхнього практичного застосування.

Наведені **висновки** відповідають меті та завданням, поставленим авторкою.

Перелік **використаних джерел літератури** містить 127 посилань українською та англійською мовами.

Наостанок слід зазначити, що в дисертаційному дослідженні ретельно виконано великий обсяг експериментальної роботи. Проведення таких досліджень свідчить про кваліфікацію дисертанта і високий науковий рівень роботи в цілому. Достовірність отриманих в роботі результатів і обґрунтованість положень дисертації забезпечуються спектром використаних автором надійних сучасних експериментальних методів.

Таким чином, дисертація Дрюка Миколи Миколайовича **"Нейроактивні забруднювачі навколишнього середовища: мембрано-асоційовані механізми дії та шляхи подолання нейротоксичності"** є завершеною науковою роботою.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті. За матеріалами дисертації опубліковано 4 статті у фахових наукових журналах, які входять до наукометричної бази даних Scopus та Web

of Science: Q1 – 1 стаття, Q1/Q2 – 1 стаття, 2 статті – у вітчизняних виданнях категорії «Б», та 3 тез доповідей на наукових конференціях.

Дисертаційну роботу оформлено належним чином, що відповідає вимогам державних стандартів і МОН України. Матеріал дисертації викладено ясно і послідовно, ретельно оформлено, ілюстрації виконано на належному рівні.

Поряд з наведеною позитивною оцінкою дисертаційної роботи слід виділити такі основні дискусійні **питання, побажання та зауваження**:

1. Виходячи з назви роботи, мова йде про декілька забруднюючих факторів, а матеріал, що представлено, містить результати досліджень токсичної дії тільки ртуті. Може, є потреба конкретизувати назву?

2. Що таке "підвищений екологічний вплив"?

3. Не акцентовано, які молекулярні механізми гострої нейротоксичної дії Hg^{2+} у нервових терміналях головного мозку щурів встановлено в ході досліджень.

4. Матеріал огляду літератури необхідно структурувати.

5. Має бути не рисунок, не таблиця, а Рис. і Таб.

6. Нумерація списку посилань: не 1), а 1.

Утім, вищевказані окремі зауваження не впливають на загальну високу оцінку наукового рівня рецензованої дисертації.

Висновок щодо відповідності дисертаційної роботи встановленим вимогам, які пред'являються до кандидатських дисертацій. Дисертаційна робота Дрюка Миколи Миколайовича "**Нейроактивні забруднювачі навколишнього середовища: мембрано-асоційовані механізми дії та шляхи подолання нейротоксичності**" є цілісною, закінченою науковою працею. За своєю актуальністю, методичним рівнем, науковою новизною і практичною цінністю отриманих результатів, глибиною розкриття поставлених проблем, логічністю і обґрунтованістю висновків дисертація повністю відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових

ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 р. №567, які пред'являються до кандидатських дисертацій, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 - біологія, 09 - біологія.

Заввідділу структури і функції білка
Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна
НАН України, д.б.н. В.О. Чернишенко

Підпис В.О. Чернишенка
ЗАСВІДЧУЮ
Зав. канцелярією
Інституту біохімії ім. О.В.Палладіна
національної академії наук України
"11" 08 2026 р.

Національна академія наук України
Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна
Ідентифікаційний код 05417288
м. Київ