

UDC 594:504.5

Тетяна Тюпова, Галина Ткаченко, Ольга Мекед, Наталія Курхалюк

ВІДПОВІДІ НА ОКСИДАЦІЙНИЙ СТРЕС
У НАЗЕМНИХ МОЛЮСКІВ ЯК БІОМАРКЕРИ
ДЛЯ ОЦІНКИ ВПЛИВУ ТОКСИКАНТІВ

Tetiana Tiupova, Halyna Tkaczenko, Olha Mekhed, Natalia Kurhaluk

RESPONSES TO OXIDATIVE STRESS
IN TERRESTRIAL MOLLUSCS AS BIOMARKERS
FOR ASSESSING THE EFFECTS OF TOXICANTS

DOI: 10.58407/bht.1.23.4

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© Тюпова, Т., Ткаченко, Г., Мекед, О., Курхалюк, Н., 2023

АНОТАЦІЯ

Останніми роками помітно посилюється інтерес до систем біоіндикаторів. Використання біомаркерів оксидативного стресу становить потенційний інтерес для оцінки впливу забруднювачів або сезонних коливань у тварин в польових умовах. Крім того, взаємодія між ксенобіотиками та компонентами систем антиоксидантного захисту відіграє важливу роль в екотоксикологічній реакції організму на вплив чинників навколишнього середовища.

Мета роботи: оцінка впливу різних типів забруднень на кілька видів равликів з використанням біомаркерів оксидативного стресу для цілей біомоніторингу.

Методологія. Опрацьовано результати досліджень тварин-індикаторів, що включали різноманітні характеристики з метою оцінки їх як ранній попереджувачий індикаторний організм щодо потенційних ризиків забруднення для населення. Вивчення потенційних програм, визначених для видів-індикаторів, що включають моніторинг навколишнього середовища, виявлення нових потенційно небезпечних впливів у результаті спостереження за змінами в популяціях тварин, а також підтримку оцінки ризиків на кількох етапах процесу.

Наукова новизна роботи полягає у тому, що вперше комплексно вивчено відповіді на оксидативний стрес у наземних моллюсків як біомаркери для оцінки впливу токсикантів.

Висновки. Моніторинг забруднення навколишнього середовища може мати дві головні цілі: кількісно визначити розподіл забруднювача та виміряти його вплив на біоту забруднених середовищ існування. Дедалі більше використання равликів як чутливих біоіндикаторів забруднення навколишнього середовища набуло великого значення та застосування для інтеграції сигналу забруднення на певній території або в певний період часу, якщо є достатні знання про джерела та мобільність забруднювачів в екосистемах, для вивчення кінетики їх поглинання в екосистемах. Фізіологічна реакція равликів на забруднення може водночас відображати якість навколишнього середовища в природно збіднених екосистемах з метою оцінки впливу ряду забруднювачів. Використання равликів у біотестах на токсичність є важливим методом, оскільки равликів легко культивувати в лабораторії, їх можна тримати на штучних дієтах із бажаною кількістю металів, і вони швидко реагують на забруднення металами в діапазоні сублетальних доз. Кілька видів наземних, прісноводних і морських равликів характеризуються високим потенціалом біомоніторингу та біочутливості. Різні біомаркери, такі як маркери оксидативного стресу, антиоксидантний захист, експресія білків теплового шоку та металотіонеїнів в організмі, є важливими біомаркерами *in vivo* для біомоніторингу забруднення. Помічено, що равлики відображають екологічно чистий підхід до біомоніторингу, виявляючи численні фізіологічні, біохімічні, генетичні та гістологічні біомаркери в своєму тілі.

Ключові слова: біоіндикація, біомаркер, моллюски, оксидативний стрес, равлики

ABSTRACT

Interest in bioindicator systems has grown significantly in recent years. The use of biomarkers of oxidative stress is of potential interest for assessing exposure to pollutants or seasonal variations in animals in the field. In addition, the interaction between xenobiotics and components of antioxidant protection systems plays an important role in the ecotoxicological response of the organism to the influence of environmental factors.

Purpose: assessment of the impact of different types of pollution on several species of snails using biomarkers of oxidative stress for biomonitoring purposes.

Methodology. The results of studies of indicator animals, which included various characteristics in order to evaluate them as an early warning indicator organism regarding the potential risks of pollution for the population, were elaborated. Study of potential applications identified for indicator species, including environmental monitoring, identification of new potentially hazardous impacts as a result of monitoring changes in animal populations, and support for risk assessment at several stages of the process.

The scientific novelty of the work lies in the fact that for the first time the responses to oxidative stress in terrestrial molluscs were comprehensively studied as biomarkers for assessing the effects of toxicants.

Conclusions. Environmental pollution monitoring can have two main goals: to quantify the distribution of the pollutant and to measure its impact on the biota of the polluted habitats. Increasingly, the use of snails as sensitive bioindicators of environmental pollution has gained great importance and application to integrate the pollution signal in a certain area or in a certain period of time, if there is sufficient knowledge about the sources and mobility of pollutants in ecosystems, to study the kinetics of their absorption in ecosystems. The physiological response of snails to pollution can simultaneously reflect the quality of the environment in naturally depleted ecosystems in order to assess the impact of a number of pollutants. The use of snails in toxicity bioassays is an important technique because snails are easy to culture in the laboratory, can be maintained on artificial diets with desired amounts of metals, and respond rapidly to metal contamination in the sublethal dose range. Several species of terrestrial, freshwater and marine snails are characterized by high potential for biomonitoring and biosensing. Various biomarkers such as markers of oxidative stress, antioxidant defense, expression of heat shock proteins and metallothioneins in the body are important *in vivo* biomarkers for pollution biomonitoring. Snails have been observed to reflect an environmentally friendly approach to biomonitoring by detecting numerous physiological, biochemical, genetic and histological biomarkers in their body.

Key words: bioindication, biomarker, molluscs, oxidative stress, snails

Постановка проблеми

Системи біоіндикаторів є життєво важливими для моніторингу забруднюючих речовин у всьому світі. Вплив змін навколишнього середовища можна відстежувати, використовуючи чутливу поведінку равликів. Важкі метали та органічні забруднювачі впливають на їх розмноження, смертність і нормальний обмін речовин. Ці тварини також можуть реагувати на різноманітні чинники з різних підсистем навколишнього середовища, які включають біосферу, літосферу, антропосферу, кріосферу та гідросферу (Dhiman & Pant, 2021). Потенційні програми, визначені для видів-індикаторів, включають моніторинг навколишнього середовища, виявлення нових потенційно небезпечних впливів у результаті спостереження за змінами в популяціях диких тварин, а також підтримку оцінки ризиків на кількох етапах процесу. Крім того, вони можуть запропонувати потенційні причини та наслідки шкідливого процесу (Van der Schalie et al., 1999). Молюски широко використовуються для прогнозування ризику

забруднення для навколишнього середовища, оскільки вони знаходяться на низькому рівні трофічного ланцюга і є вхідними дверима для хімічних елементів у ньому (Burger & Gochfeld, 2001).

Відомо, що забруднення навколишнього середовища є однією з найвагоміших проблем у міських регіонах (Abdel-Halim et al., 2013). Важкі метали, залежно від ступеня окиснення, можуть бути високоактивними і, як наслідок, токсичними для більшості організмів. Вони утворюються в результаті розширення різноманітних антропогенних джерел, таких як промислова діяльність, транспорт, переробка, спалювання вичерпаного палива та певні сільськогосподарські роботи (Hanfi et al., 2019; Vareda et al., 2019). Цитотоксичність металів широко пов'язана з окисним пошкодженням клітин і тканин живих організмів (Valko et al., 2005). Хоча вже відомо, що багато металів викликають оксидативний стрес, але в присутності перехідних металів, таких як залізо та мідь, H_2O_2 може генерувати радикал $OH\cdot$ в реакції

Фентона (Halliwell, 1992). Інші іони неперехідних металів також можуть бути причетні до утворення активних форм кисню та азоту (АФК/АФА) у мітохондріях. Відомо, наприклад, що кадмій генерує АФК завдяки інгібуючій дії на транспорт електронів у мітохондріях (Stohs et al., 2000, 2001).

Використання біомаркерів оксидативного стресу становить потенційний інтерес для оцінки впливу забруднювачів або сезонних коливань у тварин в польових умовах (Radwan et al., 2020; El-Gendy et al., 2021; Kurhaluk & Tkachenko, 2022; Kurhaluk et al., 2022). Крім того, взаємодія між ксенобіотиками та компонентами систем антиоксидантного захисту відіграє важливу роль в екотоксикологічній реакції організму на вплив чинників навколишнього середовища (Koivula & Eeva, 2010; Tkachenko & Kurhaluk, 2012; Castaño-Sánchez et al., 2020). Наземні равлики широко використовуються як індикаторні види для оцінки забруднення металами наземних екосистем (Gomot de Vaufleury & Pihan, 2000; Notten et al., 2006; Regoli et al., 2006). Равлики є важливим компонентом фауни рослинної і детритоїдних тварин у багатьох екосистемах, а також вони можуть бути основною здобиччю для ссавців, птахів і великих безхребетних (Carbone & Faggio, 2019). Вони здатні накопичувати значну кількість важких металів із забрудненого середовища (Carbone & Faggio, 2019). Різні види наземних равликів популярні в дослідженнях мікросвіту, оскільки вони накопичують високі концентрації певних слідів металів через оральний, шкірний та респіраторний шляхи (Regoli et al., 2006; Scheifler et al., 2006). З цієї причини вони є перспективними екологічними індикаторами в біомоніторингу середовища (Carbone & Faggio, 2019).

Метою цього огляду є оцінка впливу різних типів забруднень на кілька видів равликів з використанням біомаркерів оксидативного стресу для цілей біомоніторингу.

Виклад основного матеріалу

Фізіологічні реакції наземних безхребетних можна використати як інструменти біомоніторингу. Зокрема, наземні равлики широко використовуються як індикаторні види для оцінки забруднення металами наземних екосистем (Gomot de Vaufleury &

Pihan, 2000; Notten et al., 2006; Regoli et al., 2006). Равлики є важливим компонентом фауни рослинної і детритоїдних тварин у багатьох екосистемах, а також вони можуть бути основною здобиччю для ссавців, птахів і великих безхребетних (Carbone & Faggio, 2019). Вони здатні накопичувати значну кількість важких металів із забрудненого середовища (Carbone & Faggio, 2019). Різні види наземних равликів популярні в дослідженнях мікросвіту, оскільки вони накопичують високі концентрації певних слідів металів через оральний, шкірний та респіраторний шляхи (Regoli et al., 2006; Scheifler et al., 2006). З цієї причини вони є перспективними екологічними індикаторами в біомоніторингу середовища (Carbone & Faggio, 2019). Серед наземних безхребетних червононогі *Helix* spp. мають здатність накопичувати різні класи хімічних речовин і служать відповідними індикаторними видами для моніторингу присутності залишків металів, агрохімікатів, міського забруднення та впливу електромагнітного поля (Berger & Dallinger, 1993; Gomot de Vaufleury & Pihan, 2000; Regoli et al., 2005; Snyman et al., 2000). Також були описані інші біологічні ефекти, включаючи пригнічення росту, погіршення репродуктивної здатності та індукцію синтезу металотіонеїнів (МТ) – специфічних білків, які беруть участь у гомеостазі та детоксикації металів (Dallinger, 1996; Gomot-de Vaufleury & Kerhoas, 2000). Забруднювачі, накопичені різними шляхами, транспортуються клітинами крові до травної залози, яка також є основним органом-мішенню для процесів метаболізму та детоксикації (Regoli et al., 2005).

Маркери оксидативного стресу у наземного равлика *Helix aspersa* як індикаторного організму для оцінки екотоксикологічних ефектів забруднення міста важкими металами було представлено в дослідженні Abdel-Halim et al. (2013). Маркери оксидативного стресу у травній залозі равлика *Helix aspersa* вважаються біоіндикаторами забруднення атмосфери важкими металами з кількох галузей промисловості та транспортного руху в місті Кафр-ель-Хаят (Єгипет). Залежно від умов існування, значно різнились рівні перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), активність ферментів тощо. Таким чином, використання садових равликів може бути відносно простим

процесом покращення фактичних методів моніторингу навіть за відсутності місцевих організмів (Abdel-Halim et al., 2013).

Основною метою дослідження, проведеного Regoli et al. (2006), була розробка інтегрованого екотоксикологічного підходу з наземним равликом *Helix aspersa* для моніторингу як накопичення металів, так і токсикологічних ефектів, викликаних міськими забруднювачами, включаючи вихлопи транспорту та інші хімічні речовини, пов'язані з виготовленням шин, які потрапляють у середовище з дорожнього покриття. Серед специфічних реакцій, індукція МТ, цитохрому P₄₅₀ і проліферація пероксисом були обрані як біоіндикатори для оцінки впливу металів і органічних ароматичних забруднювачів. Хоча шлях біотрансформації цитохрому P₄₅₀ часто не є послідовним у безхребетних, є деякі докази його участі в метаболізмі ксенобіотиків у черевоногих (Ismert et al., 2002). Проліферація пероксисом також була задокументована як токсикологічний ефект впливу кількох хімічних речовин на моделях як хребетних, так і безхребетних (Lock et al., 1989; Cancio & Cajaraville, 2000). Загальний шлях токсичності для кількох забруднювачів опосередковується посиленням генерації внутрішньоклітинних АФК, які часто модулюють появу пошкоджених клітин (Regoli et al., 2002, 2003). У дослідженні Regoli et al. (2006) вимірювали зміни антиоксидантного захисту як біомаркерів про- і антиоксидантного станів, опосередкованого забрудненнями. Загальну сприйнятливість до умов оксидативного стресу також оцінювали за допомогою аналізу загальної здатності поглинання оксирадикалів (анг. *the total oxyradical scavenging capacity*, TOSC), які кількісно визначають здатність нейтралізувати специфічні АФК, такі як пероксильні радикали (ROO·) і гідроксильні радикали (HO·) (Regoli, 2000; Regoli et al., 2004).

Для подальшого дослідження оксидативної токсичності, опосередкованої забруднювачами, Regoli et al. (2006) оцінили стабільність лізосомальної мембрани та втрату цілісності ДНК як типові мішені впливу забруднень навколишнього середовища, які діють через прямі механізми або посилене утворення оксирадикалів (Moore et al., 2004; Regoli, 2000; Regoli et al., 2004). У дослідженні Regoli et al. (2006) екотоксико-

логічний підхід виявився цінним інструментом для моніторингу якості повітря в міських районах. Равлик *H. aspersa* був ефективним біоіндикатором, який накопичував біодоступні забруднення та дозволяв інтегрувати ці дані з токсикологічними реакціями.

Наземні равлики виду *Theba pisana* мають великий потенціал в оцінці ризику забрудненого ґрунту та є відповідними організмами-біоіндикаторами для оцінки чистоти екосистем (De Vaufleury et al., 2006; Radwan et al., 2010a), оскільки демонструють швидку реакцію на ранній вплив різноманітних забруднювачів.

Radwan et al. (2010) вивчали вміст біомаркерів оксидативного стресу та накопичення важких металів для оцінки екотоксикологічного впливу забруднення металів (на прикладі міста Александрія, Єгипет). Це дослідження було проведено на травній залозі придорожніх равликів *Theba pisana*, отриманих із шести різних пунктів у місті. Також досліджено зв'язок між концентрацією важких металів (Zn, Cu, Pb, Cd) та маркерами оксидативного стресу. Ці біомаркери, доповнені показниками накопичення металів в травних залозах равликів, можуть стати істотними показниками для оцінки забруднення навколишнього середовища металами (Radwan et al., 2010a).

В іншому дослідженні Radwan et al. (2010b) досліджували *in vivo* токсичні ефекти 48-годинної сублетальної аплікації 40 і 80 % LD₅₀ хімічних елементів [мідь (Cu), свинець (Pb) і цинк (Zn)] на біомаркери оксидативного стресу в травній залозі *Theba pisana*. Індивідуальні порушення окиснення оцінювали шляхом вимірювання неферментативних (глутатіону – GSH) і ферментативних (каталази – CAT; глутатіонпероксидази – GPx; глутатіон-S-трансферази – GST) антиоксидантів у травних залозах равликів. Також оцінювали рівень ПОЛ як маркер пошкодження клітин.

Оцінка *in vivo* біомаркерів оксидативного стресу в травній залозі *Theba pisana* за впливу сублетальних доз пестицидів на основі міді (40 % і 80 % LD₅₀ через 48 годин; оксихлорид міді, гідроксид міді та сульфат міді) було досліджено El-Gendy et al. (2009). Це дослідження свідчить про те, що посилення активності антиоксидантних ферментів, підвищення рівня ПОЛ і зниження вмісту

GSH пов'язані з оксидативним стресом у цього виду равликів (El-Gendy et al., 2009).

Cantareus aspersus став об'єктом багатьох досліджень з кількох причин, серед яких: його розповсюдження в усьому світі, його особливе положення на межі ґрунт-повітря-рослина, а також його незначна екологічна роль (Dallinger et al., 2001). Дійсно, *C. aspersus* є основним споживчим фіто- та сапрофагом, який під час живлення поглинає ґрунт (Gomot et al., 1989; Barker, 2001; Chevalier et al., 2001; Dallinger et al., 2001). Крім того, завдяки накопичувальним здібностям видів наземних равликів вони можуть брати участь у трофічній біодоступності металів, тобто у їх передачі у трофічних ланцюгах (Laskowski & Hopkin, 1996).

Дослідження Mleiki et al. (2017) полягало у вивченні потенціалу зеленого садового равлика *Cantareus apertus*, як біомонітора та індикатора для інтегративної оцінки забруднення металами в ґрунтах. Це польове дослідження показує, що *C. apertus* можна використовувати як вид в біомоніторингових дослідженнях для виявлення забруднення металами придорожного ґрунту та як індикаторний вид для оцінки впливу забруднення на фізіологічні процеси живих організмів на основі біохімічних біомаркерів. Біомаркери оксидативного стресу та нейротоксичності є істотним біологічним інструментом для біомоніторингу забруднення металами в ґрунтах, особливо в поєднанні з хімічним аналізом їх перенесення в системі ґрунт – рослина – равлик (Mleiki et al., 2017).

Оцінка активності GST і CAT у травній залозі та нозі сухопутного равлика *C. apertus*, підданих різним номінальним споживчим концентраціям Pb (25 та 2500 мг Pb/кг), Cd (5 і 100 мг Cd/кг) та їх комбінації (25 мг Pb + 5 мг Cd/кг і 2500 мг Pb + 100 мг Cd/кг) впродовж 7 і 60 днів була здійснена Mleiki et al. (2015). Активність CAT була різною у двох досліджуваних органах, але в обох випадках це призвело до збільшення її активності після 7 і 60 днів впливу цих металів. Отже, можна зробити висновок, що ферменти GST і CAT у травній залозі та нозі *C. apertus* реагують на зміни біоаккумуляції Cd, Pb та їх комбінацію, завдяки чому ці ферменти можуть бути придатними для включення їх у список біомаркерів для оцінки здоров'я екосистем, забруднених металами ґрунтів, використо-

вуючи цей вид равликів як індикаторний (Mleiki et al., 2015).

Пізніше ці дослідники досліджували біоаккумуляцію та розподіл Pb і Cd у клітинах і тканинах зеленого садового равлика *C. apertus*, підданого впливу різних номінальних споживчих концентрацій Pb (25, 100 і 2500 мг Pb/кг), Cd (5, 10 та 100 мг Cd/кг) та їх комбінації (25 мг Pb+10 мг Cd/кг та 2500 мг Pb+100 мг Cd/кг) протягом 1 та 8 тижнів (Mleiki et al., 2016). Результати дослідження порівняні з результатами, отриманими на інших наземних равликах в інших регіонах, і тому вони абсолютно підтверджують те, що *C. apertus* підходить як вид в біомоніторингових дослідженнях для оцінки рівнів Pb і Cd та їх біологічних ефектів у ґрунті екосистем (Mleiki et al., 2016).

Зміни антиоксидантного захисту та загальну чутливість до оксидативного стресу наземного равлика *C. apertus* під впливом карбаматного пестициду Carbaryl у низькій екологічно сприйнятливій концентрації вивчали Leomanni et al. (2015). Равликів *Lactuca sativa* піддавали експозиції 1 мкМ Carbaryl протягом 1 години. Часову динаміку реакцій оцінювали за допомогою вимірювань на 3, 7 та 14 добу експозиції. Результати вказали на високу чутливість антиоксидантних та оксидативних реакцій, пов'язаних з впливом Carbaryl в екологічно сприйнятливій концентрації, демонструючи їх корисність у моніторингу навколишнього середовища та оцінці ризику забруднення. Дослідження також підкреслює значущість наземного равлика *C. apertus* як потенційного виду-біоіндикатора для оцінки ризику забруднення навколишнього середовища пестицидами (Leomanni et al., 2015).

Яблучні равлики *Pomacea canaliculata* відповідають вимогам виду, який можна використовувати в екологічному моніторингу (Elder і Collins, 1991), а кілька польових і лабораторних досліджень показують, що ці тварини здатні накопичувати різні хімічні елементи (Hayes et al., 2009; Vega et al., 2012).

Повідомлялося про накопичення Cu, Cd, Pb і Zn в голові, нозі та внутрішніх органах ампуляриїв родів *Pila*, *Lanistes* і *Pomacea* (Hayes et al., 2015). Hoang et al. (2008) продемонстрували поглинання та очищення міді з води молодими особинами *P. paludosa*. *P. scalaris*, обмежений зоною видобутку золота,

здатний підвищувати концентрацію Hg у м'яких тканинах (Callil & Junk, 2001), які містять пігментовані симбіотичні тільця, подібні до тих, що знаходяться в *P. canaliculata* (Castro-Vazquez et al., 2002). *P. canaliculata*, після впливу стічних вод свинцево-цинкової шахти на півдні Китаю, накопичує високі концентрації цих елементів (Deng et al., 2008), але їх концентрації в тканинах не корелюють з концентраціями в осадових відкладеннях. Крім того, повідомлялося про накопичення Hg, As та U у *P. canaliculata* з джерел питної води (Vega et al., 2012). Лабораторне дослідження показало розподіл потенційно токсичних елементів у тканинах, яйцях і симбіонтах *P. canaliculata* (Vega et al., 2012). Травна залоза і нирки є основними місцями накопичення різних металів. У травній залозі велика частка елементів зберігається в симбіонтах (11,7 - 79,7 %), які можуть діяти як внутрішньоклітинні центри детоксикації. Місцем детоксикації ртуті було ідентифіковано нирки (Hayes et al., 2015).

Vega et al. (2012) досліджували диференціальну здатність тканин, ендосимбіонтів та яєць яблучного равлика біоакмулювати кілька металів (Sb, As, Ba, Br, Zn, Cr, Fe, Hg, Se та U). Висновки Vega et al. (2012) показали, що залоза середньої кишки (і симбіонти, що містяться в ній), нирки та ноги *P. canaliculata* можуть бути корисними біоіндикаторами забруднення Hg, As та U прісноводних водойм.

Равлик *Pomacea canaliculata* використано також в токсикологічних дослідженнях деяких пестицидів. Зокрема, дослідження Xu et al. (2017) перевірило гіпотези про те, чи допоможе екологічна здатність гліфосату контролювати поширення інвазійного равлика *Pomacea canaliculata*, чи сприятиме зростанню його популяції в усьому світі. Сублетальні концентрації гліфосату можуть бути корисними для боротьби з інвазійними видами. Чи впливає екологічна значимість гліфосату (≤ 2 мг/л) на зростання популяції *P. canaliculata*, досі не доведено, що вимагає подальших польових досліджень (Xu et al., 2017).

Пізніше, Arrighetti et al. (2018) оцінили різні біомаркери в яблучному равлику *P. canaliculata*, підданому дії інсектициду циперметрину (CYP). Біохімічні ефекти не залежали ані від концентрації, ані від часу. Результати цього дослідження показують,

що гістопатологічні зміни є найбільш чутливо залежними від часу та дози біомаркера токсичності, індукованої CYP у *P. canaliculata* (Arrighetti et al., 2018).

Травні залози та нирки *P. canaliculata* є чутливими тканинами для біомоніторингу забруднення екосистем важкими металами. Це підтверджують дослідження Campoy-Diaz et al. (2018), які вивчали здатність тканин равликів і симбіонтів біоконцентрувати та очищати ртуть, миш'як і уран. Результати цього дослідження показали, що симбіонти, травні залози та нирки *P. canaliculata* є чутливими місцями для біомоніторингу Hg, As та U (Campoy-Diaz et al., 2018).

Дані показали, що всі вищезазначені маркери оксидативного стресу та антиоксидантної системи захисту наземних червононогих молюсків є важливими інструментами для діагностики несприятливих впливів забруднення. Будь-які зміни, що відбуваються в тканинах і органах молюсків, ймовірно, пов'язані з активацією оксидативного стресу, змінами в енергетичних резервах та/або ендокринними порушеннями. Крім того, ці організми мають ряд біологічних реакцій на токсичні речовини, що робить їх цінними допоміжними об'єктами в діагностиці забруднення, і тому їх рекомендують як корисні біоіндикатори в екотоксикологічних дослідженнях і програмах моніторингу. Таким чином, равлики виявилися важливими інструментами біомоніторингу та індикаторами раннього попередження забруднення (Dhiman & Pant, 2021).

Висновки

Моніторинг забруднення навколишнього середовища може мати дві головні цілі: кількісно визначити розподіл забруднювача та виміряти його вплив на біоту забруднених середовищ існування. Дедалі більше використання равликів як чутливих біоіндикаторів забруднення навколишнього середовища набуло великого значення та застосування для інтеграції сигналу забруднення на певній території або в певний період часу, якщо є достатні знання про джерела та мобільність забруднювачів в екосистемах, для вивчення кінетики їх поглинання в екосистемах. Фізіологічна реакція равликів на забруднення може водночас відображати якість навколишнього середовища в природно збіднілих

екосистемах з метою оцінки впливу ряду забруднювачів. Використання равликів у біотестах на токсичність є важливим методом, оскільки равликів легко культивувати в лабораторії, їх можна тримати на штучних дієтах із бажаною кількістю металів, і вони швидко реагують на забруднення металами в діапазоні сублетальних доз. Вивчення впливу металів та інших забруднень на

фізіологію організмів призводить до розробки кількох тестів на токсичність, які можна використовувати як інструмент для оцінки забруднення навколишнього середовища. Кілька видів наземних, прісноводних і морських равликів характеризуються високим потенціалом біомоніторингу та біочутливості.

References

- Abdel-Halim, K. Y., Abo El-Saad, A. M., Talha, M. M., Hussein, A. A., & Bakry, N. M. (2013). Oxidative stress on land snail *Helix aspersa* as a sentinel organism for ecotoxicological effects of urban pollution with heavy metals. *Chemosphere*, 93(6), 1131–1138. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.06.042>
- Arrighetti, F., Ambrosio, E., Astiz, M., Capítulo, A. R., & Lavarías, S. (2018). Differential response between histological and biochemical biomarkers in the apple snail *Pomacea canaliculata* (Gasteropoda: Amullariidae) exposed to cypermethrin. *Aquatic toxicology* (Amsterdam, Netherlands), 194, 140–151. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.11.014>
- Berger, B., & Dallinger, R. (1993). Terrestrial snails as quantitative indicators of environmental metal pollution. *Environ. Monit. Assess.*, 25(1), 65–84. <https://doi.org/10.1007/BF00549793>
- Burger, J., & Gochfeld, M. (2001). On developing bioindicators for human and ecological health. *Environmental monitoring and assessment*, 66(1), 23–46. <https://doi.org/10.1023/a:1026476030728>
- Callil, C.T., & Junk, W.J., (2001). Aquatic Gastropods as Mercury Indicators in the Pantanal of Poconé Region (Mato Grosso, Brasil). *Water, Air & Soil Pollution*, 125, 319–330
- Campoy-Diaz, A. D., Arribére, M. A., Guevara, S. R., & Vega, I. A. (2018). Bioindication of mercury, arsenic and uranium in the apple snail *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda, Ampullariidae): Bioconcentration and depuration in tissues and symbiotic corpuscles. *Chemosphere*, 196, 196–205. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.12.145>
- Cancio, I., & Cajaraville, M. P. (2000). Cell biology of peroxisomes and their characteristics in aquatic organisms. *International review of cytology*, 199, 201–293. [https://doi.org/10.1016/s0074-7696\(00\)99005-3](https://doi.org/10.1016/s0074-7696(00)99005-3)
- Carbone, D., & Faggio, C. (2019). *Helix aspersa* as sentinel of development damage for biomonitoring purpose: A validation study. *Molecular reproduction and development*, 86(10), 1283–1291. <https://doi.org/10.1002/mrd.23117>
- Castaño-Sánchez, A., Hose, G. C., & Reboleira, A. S. P. S. (2020). Ecotoxicological effects of anthropogenic stressors in subterranean organisms: A review. *Chemosphere*, 244, 125422. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125422>
- Castro-Vazquez, A., Albrecht, E. A., Vega, I. A., Koch, E., & Gamarra-Luques, C. (2002). Pigmented corpuscles in the midgut gland of *Pomacea canaliculata* and other Neotropical apple-snails (Prosobranchia, Ampullariidae): a possible symbiotic association. *Biocell*, 26(1), 101–109
- Chevalier, L., Desbuquois, C., Le Lannic, J., & Charrier, M. (2001). Poaceae in the natural diet of the snail *Helix aspersa* Müller (Gastropoda, Pulmonata). *Comptes rendus de l'Academie des sciences. Serie III, Sciences de la vie*, 324(11), 979–987. [https://doi.org/10.1016/s0764-4469\(01\)01382-8](https://doi.org/10.1016/s0764-4469(01)01382-8)

- Dallinger, R. (1996). Metallothionein research in terrestrial invertebrates: synopsis and perspectives. *Comparative biochemistry and physiology. Part C, Pharmacology, toxicology & endocrinology*, 113(2), 125–133. [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(95\)02078-0](https://doi.org/10.1016/0742-8413(95)02078-0)
- Dallinger, R. (2001). Spectroscopic characterization of metallothionein from the terrestrial snail, *Helix pomatia*. *Eur. J. Biochem.*, 268(15), 4126–4133 <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2001.02318.x>
- Deng, P. Y., Shu, W. S., Lan, C. Y., & Liu, W. (2008). Metal contamination in the sediment, pondweed, and snails of a stream receiving effluent from a lead/zinc mine in southern China. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 81(1), 69–74. <https://doi.org/10.1007/s00128-008-9428-3>
- Dhiman, V., & Pant, D. (2021). Environmental biomonitoring by snails. *Biomarkers*, 26(3), 221–239. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2020.1871514>
- Elder, J. F., & Collins, J. J. (1991). Freshwater molluscs as indicators of bioavailability and toxicity of metals in surface-water systems. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 122, 37–79. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-3198-1_2
- El-Gendy, K. S., Gad, A. F., & Radwan, M. A. (2021). Physiological and behavioral responses of land molluscs as biomarkers for pollution impact assessment: A review. *Environmental research*, 193, 110558. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110558>
- El-Gendy, K. S., Radwan, M. A., & Gad, A. F. (2009). *In vivo* evaluation of oxidative stress biomarkers in the land snail, *Theba pisana* exposed to copper-based pesticides. *Chemosphere*, 77(3), 339–344. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.07.015>
- Gomot, A., Gomot, L., Boukraa, S., Bruckert, S. (1989). Influence of soils on the growth of the land snail *Helix aspersa*. An experimental study on the absorption route for the stimulating factors. *Journal of Molluscan Studies*, 55(1), 1-7
- Gomot de Vaufleury, A., & Pihan, F. (2000). Growing snails used as sentinels to evaluate terrestrial environment contamination by trace elements. *Chemosphere*, 40(3), 275–284. [https://doi.org/10.1016/s0045-6535\(99\)00246-5](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(99)00246-5)
- Gomot-de Vaufleury, A., & Kerhoas, I. (2000). Effects of cadmium on the reproductive system of the land snail *Helix aspersa*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 64(3), 434–442. <https://doi.org/10.1007/s001280000019>
- Halliwell, B. (1992). Reactive oxygen species and the central nervous system. *Journal of neurochemistry*, 59(5), 1609–1623. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1992.tb10990.x>
- Hanfi, M. Y., Mostafa, M. Y. A., & Zhukovsky, M. V. (2019). Heavy metal contamination in urban surface sediments: sources, distribution, contamination control, and remediation. *Environmental monitoring and assessment*, 192(1), 32. <https://doi.org/10.1007/s10661-019-7947-5>
- Hayes, K. A., Cowie, R. H., Thiengo, S. C. (2009). A global phylogeny of apple snails: Gondwanan origin, generic relationships, and the influence of outgroup choice (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 95, 61-76
- Hayes, K. A., Burks, R. L., Castro-Vazquez, A. et al. (2015). Insights from an Integrated View of the Biology of Apple Snails (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Malacologia*, 58(1-2), 245–302. <https://doi.org/10.4002/040.058.0209>
- Hoang, T. C., Rogevich, E. C., Rand, G. M., Gardinali, P. R., Frakes, R. A., & Bargar, T. A. (2008). Copper desorption in flooded agricultural soils and toxicity to the Florida apple snail (*Pomacea paludosa*): implications in Everglades restoration. *Environmental pollution* (Barking, Essex: 1987), 154(2), 338–347. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.09.024>

- Ismert, M., Oster, T., & Bagrel, D. (2002). Effects of atmospheric exposure to naphthalene on xenobiotic-metabolising enzymes in the snail *Helix aspersa*. *Chemosphere*, 46(2), 273–280. [https://doi.org/10.1016/s0045-6535\(01\)00124-2](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(01)00124-2)
- Koivula, M. J., & Eeva, T. (2010). Metal-related oxidative stress in birds. *Environmental pollution* (Barking, Essex: 1987), 158(7), 2359–2370. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.03.013>
- Kurhaluk, N., Tkachenko, H., & Kamiński, P. (2022). Biomarkers of oxidative stress, metabolic processes, and lysosomal activity in the muscle tissue of the great tit (*Parus major*) living in sodium industry and agricultural areas in Inowrocław region (central part of northern Poland). *Environmental research*, 210, 112907. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.112907>
- Kurhaluk, N., & Tkachenko, H. (2022). Habitat-, age-, and sex-related alterations in oxidative stress biomarkers in the blood of mute swans (*Cygnus olor*) inhabiting pomeranian coastal areas (Northern Poland). *Environmental science and pollution research international*, 29(18), 27070–27083. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-18393-3>
- Laskowski, R. and Hopkin, S.P. (1996) Effect of Zn, Cu, Pb, and Cd on Fitness in Snails (*Helix aspersa*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 34, 59-69. <https://doi.org/10.1006/eesa.1996.0045>
- Leomanni, A., Schettino, T., Calisi, A., Gorbi, S., Mezzelani, M., Regoli, F., & Lionetto, M. G. (2015). Antioxidant and oxidative stress related responses in the Mediterranean land snail *Cantareus apertus* exposed to the carbamate pesticide Carbaryl. Comparative biochemistry and physiology. *Toxicology & pharmacology: CBP*, 168, 20–27. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2014.11.003>
- Lock, E. A., Mitchell, A. M., & Elcombe, C. R. (1989). Biochemical mechanisms of induction of hepatic peroxisome proliferation. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 29, 145–163. <https://doi.org/10.1146/annurev.pa.29.040189.001045>
- Mleiki, A., Irizar, A., Zaldibar, B., El Menif, N. T., & Marigómez, I. (2016). Bioaccumulation and tissue distribution of Pb and Cd and growth effects in the green garden snail, *Cantareus apertus* (Born, 1778), after dietary exposure to the metals alone and in combination. *The Science of the total environment*, 547, 148–156. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.12.162>
- Mleiki, A., Marigómez, I., & El Menif, N. T. (2015). Effects of Dietary Pb and Cd and Their Combination on Glutathion-S-Transferase and Catalase Enzyme Activities in Digestive Gland and Foot of the Green Garden Snail, *Cantareus apertus* (Born, 1778). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 94(6), 738–743. <https://doi.org/10.1007/s00128-015-1542-4>
- Mleiki, A., Marigómez, I., & El Menif, N. T. (2017). Green garden snail, *Cantareus apertus*, as biomonitor and sentinel for integrative metal pollution assessment in roadside soils. *Environmental science and pollution research international*, 24(31), 24644–24656. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0091-2>
- Moore, M. N., Depledge, M. H., Readman, J. W., & Paul Leonard, D. R. (2004). An integrated biomarker-based strategy for ecotoxicological evaluation of risk in environmental management. *Mutation research*, 552(1-2), 247–268. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2004.06.028>
- Notten, M. J., Oosthoek, A. J., Rozema, J., & Aerts, R. (2006). Heavy metal pollution affects consumption and reproduction of the landsnail *Cepaea nemoralis* fed on naturally polluted *Urtica dioica* leaves. *Ecotoxicology* (London, England), 15(3), 295–304. <https://doi.org/10.1007/s10646-006-0059-3>
- Radwan, M. A., El-Gendy, K. S., & Gad, A. F. (2020). Biomarker responses in terrestrial gastropods exposed to pollutants: A comprehensive review. *Chemosphere*, 257, 127218. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127218>
- Radwan, M. A., El-Gendy, K. S., & Gad, A. F. (2010a). Biomarkers of oxidative stress in the land snail, *Theba pisana* for assessing ecotoxicological effects of urban metal pollution. *Chemosphere*, 79(1), 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.01.056>

- Radwan, M. A., El-Gendy, K. S., & Gad, A. F. (2010b). Oxidative stress biomarkers in the digestive gland of *Theba pisana* exposed to heavy metals. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 58(3), 828–835. <https://doi.org/10.1007/s00244-009-9380-1>
- Regoli, F., Frenzilli, G., Bocchetti, R., Annarumma, F., Scarcelli, V., Fattorini, D., & Nigro, M. (2004). Time-course variations of oxyradical metabolism, DNA integrity and lysosomal stability in mussels, *Mytilus galloprovincialis*, during a field translocation experiment. *Aquatic toxicology* (Amsterdam, Netherlands), 68(2), 167–178. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.03.011>
- Regoli, F., Gorbi, S., Fattorini, D., Tedesco, S., Notti, A., Machella, N., Bocchetti, R., Benedetti, M., & Piva, F. (2006). Use of the land snail *Helix aspersa* as sentinel organism for monitoring ecotoxicologic effects of urban pollution: an integrated approach. *Environmental health perspectives*, 114(1), 63–69. <https://doi.org/10.1289/ehp.8397>
- Regoli, F., Gorbi, S., Frenzilli, G., Nigro, M., Corsi, I., Focardi, S., & Winston, G. W. (2002). Oxidative stress in ecotoxicology: from the analysis of individual antioxidants to a more integrated approach. *Marine environmental research*, 54(3-5), 419–423. [https://doi.org/10.1016/s0141-1136\(02\)00146-0](https://doi.org/10.1016/s0141-1136(02)00146-0)
- Regoli, F., Gorbi, S., Machella, N., Tedesco, S., Benedetti, M., Bocchetti, R., Notti, A., Fattorini, D., Piva, F., & Principato, G. (2005). Pro-oxidant effects of extremely low frequency electromagnetic fields in the land snail *Helix aspersa*. *Free radical biology & medicine*, 39(12), 1620–1628. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.08.004>
- Regoli, F., Winston, G. W., Gorbi, S., Frenzilli, G., Nigro, M., Corsi, I., & Focardi, S. (2003). Integrating enzymatic responses to organic chemical exposure with total oxyradical absorbing capacity and DNA damage in the European eel *Anguilla anguilla*. *Environmental toxicology and chemistry*, 22(9), 2120–2129. <https://doi.org/10.1897/02-378>
- Regoli, F. (2000). Total oxyradical scavenging capacity (TOSC) in polluted and translocated mussels: a predictive biomarker of oxidative stress. *Aquatic toxicology* (Amsterdam, Netherlands), 50(4), 351–361. [https://doi.org/10.1016/s0166-445x\(00\)00091-6](https://doi.org/10.1016/s0166-445x(00)00091-6)
- Scheifler, R., de Vaufleury, A., Coeurdassier, M., Crini, N., & Badot, P. M. (2006). Transfer of Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn in a soil-plant-invertebrate food chain: a microcosm study. *Environmental toxicology and chemistry*, 25(3), 815–822. <https://doi.org/10.1897/04-675r.1>
- Snyman, R. G., Reinecke, S. A., & Reinecke, A. J. (2000). Hemocytic lysosome response in the snail *Helix aspersa* after exposure to the fungicide copper oxychloride. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 39(4), 480–485. <https://doi.org/10.1007/s002440010130>
- Stohs, S. J., Bagchi, D., Hassoun, E., & Bagchi, M. (2000). Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions. *Journal of environmental pathology, toxicology and oncology*, 19(3), 201–213
- Stohs, S. J., Bagchi, D., Hassoun, E., & Bagchi, M. (2001). Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions. *Journal of environmental pathology, toxicology and oncology*, 20(2), 77–88
- Tkachenko, H., & Kurhaluk, N. (2012). Pollution-induced oxidative stress and biochemical parameter alterations in the blood of white stork nestlings *Ciconia ciconia* from regions with different degrees of contamination in Poland. *Journal of environmental monitoring : JEM*, 14(12), 3182–3191. <https://doi.org/10.1039/c2em30391d>
- Valko, M., Morris, H., & Cronin, M. T. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Current medicinal chemistry*, 12(10), 1161–1208. <https://doi.org/10.2174/0929867053764635>
- Van der Schalie, W. H., Gardner, H. S., Jr, Bantle, J. A., De Rosa, C. T., Finch, R. A., Reif, J. S., Reuter, R. H., Backer, L. C., Burger, J., Folmar, L. C., & Stokes, W. S. (1999). Animals as sentinels of human health hazards of environmental chemicals. *Environmental health perspectives*, 107(4), 309–315. <https://doi.org/10.1289/ehp.99107309>

Vareda, J. P., Valente, A. J. M., & Durães, L. (2019). Assessment of heavy metal pollution from anthropogenic activities and remediation strategies: A review. *Journal of environmental management*, 246, 101–118. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.05.126>

Vega, I. A., Arribére, M. A., Almonacid, A. V., Ribeiro Guevara, S., & Castro-Vazquez, A. (2012). Apple snails and their endosymbionts bioconcentrate heavy metals and uranium from contaminated drinking water. *Environmental science and pollution research international*, 19(8), 3307–3316. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-0848-6>

Xu, Y., Li, A. J., Li, K., Qin, J., & Li, H. (2017). Effects of glyphosate-based herbicides on survival, development and growth of invasive snail (*Pomacea canaliculata*). *Aquatic toxicology* (Amsterdam, Netherlands), 193, 136–143. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.10.011>

Received: 22.04.2023. Accepted: 12.05.2023. Published: 20.07.2023.

Ви можете цитувати цю статтю так:

Cite this article in APA style as:

Тюпова Т., Ткаченко Г., Мехед О., Курхалюк Н. Відповіді на окисдаційний стрес у наземних молюсків як біомаркери для оцінки впливу токсикантів. *BHT: Biota, Human, Technology*, 2023. №1. С. 41-51.

Tiupova, T., Tkaczenko, H., Mekhed, O., & Kurhaluk, N. (2023). Responses to oxidative stress in terrestrial molluscs as biomarkers for assessing the effects of toxicants. *BHT: Biota, Human, Technology*, 1, 41-51 (in Ukrainian)

Information about the authors:

Tiupova T. [*in Ukrainian: Тюпова Т.*] ¹, student, e-mail: ttyupova@gmail.com
ORCID: 0000-0003-0929-8205

Department of Zoology and Animal Physiology, Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk
22B Arciszewskiego Street, Słupsk, 76-200, Poland

Tkaczenko H. [*in Ukrainian: Ткаченко Г.*] ², Dr. of Biol. Sc., Prof., email: halyna.tkachenko@apsl.edu.pl
ORCID: 0000-0003-3951-9005

Department of Zoology and Animal Physiology, Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk
22B Arciszewskiego Street, Słupsk, 76-200, Poland

Mekhed O. [*in Ukrainian: Мехед О.*] ³, Candidate of biological sciences, Doctor of Pedagogical Sciences, Associate professor, email: mekhedolga@gmail.com

ORCID: 0000-0001-9485-9139 Scopus Author ID: 6506181994 ResearcherID: AAC-7333-2021
Department of Biology, T.H. Shevchenko National University "Chernihiv Colehium"
53 Hetmana Polubotka Street, Chernihiv, 14013, Ukraine

Kurhaluk N. [*in Ukrainian: Курхалюк Н.*] ⁴, Dr. of Biol. Sc., Prof., email: natalia.kurhaluk@apsl.edu.pl
ORCID: 0000-0002-4669-1092

Department of Zoology and Animal Physiology, Institute of Biology and Earth Sciences, Pomeranian University in Słupsk
22B Arciszewskiego Street, Słupsk, 76-200, Poland

¹ Study design, data collection, statistical analysis, manuscript preparation.

² Study design, data collection, statistical analysis, manuscript preparation.

³ Manuscript preparation.

⁴ Study design, data collection, statistical analysis, manuscript preparation.