

## ВИСНОВОК

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації Іхаба ХАТІБА на тему «Фізіолого-біохімічні механізми адаптації коропових риб на прикладі *Danio rerio* до впливу органофосфатних та триазинових пестицидів», поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія спеціальність 091 Біологія.

Публічну презентацію та обговорення результатів дисертаційної роботи здійснено на розширеному засіданні кафедри загальної біології та методики навчання природничих дисциплін Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка.

ПРОТОКОЛ № 13 від 5 червня 2024 року

### **1. Обґрунтування вибору теми дослідження, зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами**

Органофосфатні та триазинові пестициди (включаючи інсектициди хлорпірифос і гербіциди Раундап та тербутилзин) є широко використовуваними агрохімікатами, глобальні ринки яких швидко зростають. Відтак, хлорпірифос, гліфосат та тербутилазин, а також їх метаболіти все частіше виявляються у зразках поверхневих вод як поокремо так і в суміші, що ускладнює передбачення ефектів їх впливу на живі організми.

Вважається, що риби є ефективними біоіндикаторами довготривалих токсичних впливів та різноманітних умов середовища існування завдяки своїй рухливості, здатності до акумуляції токсикантів, та відносно тривалому періоду життя. Маючи здатність до накопичення у живих організмах, пестициди навіть у незначних концентраціях можуть акумулюватися в тканинах риб, викликаючи при цьому істотні порушення молекулярних та біохімічних процесів з подальшою їх проекцією на організменний та популяційний рівень, що у віддаленій перспективі може викликати зменшення чисельності популяції, і відтак, і біорізноманіття в цілому.

Дослідження показують, що окисний стрес, спричинений дисбалансом між утворенням активних форм кисню та здатністю антиоксидантних систем знешкоджувати ці активні сполуки, є основним механізмом токсичності пестицидів, що, у свою чергу, призводить до метаболічних порушень, накопичення продуктів деструкції ушкодження мембран, ДНК і протеїнів і, зрештою, загибелі клітин та організму.

**2. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконувалась у межах проєкту «Розробка методології інтегральної оцінки біобезпеки забруднення оточуючого середовища пестицидами для цільових та нецільових організмів» (10. 2020 – 12. 2022 р.р.), конкурсу НФДУ «Підтримка досліджень провідних та молодих учених», №90/02/0270 0120U104364.

### **3. Мета і завдання дослідження**

Мета роботи – дослідити відповідь стресочутливих систем рибки *Danio rerio* та встановити ліміти толерантності організму до впливу фосфорорганічних пестицидів та триазинів залежно від концентрації та поєднаного впливу суміші пестицидів.

Для досягнення мети у дисертаційному дослідженні розв'язували наступні завдання:

1. Оцінити стан антиоксидантно-прооксидантної системи коропової рибки *Danio rerio* за впливу фосфорорганічних пестицидів (раундапу, хлорпірифосу та малатіону) та s-хлоротриазинів (тербутилазину) в екологічно реальних та субтоксичних концентраціях на організм за умов індивідуальної та поєднаної дії.

2. Визначити вплив фосфорорганічних пестицидів та триазинів на показники імунної та ендокринної системи і енергетичного забезпечення у тканинах смугастого данію.

3. Дослідити морфо-функціональні характеристики мітохондрій та лізосом данію за умов індивідуального та поєднаного впливу фосфорорганічних пестицидів та триазинів.

4. Оцінити ефективність системи антиоксидантного захисту, детоксикації та репаративних процесів у клітинах данію за впливу фосфорорганічних пестицидів та триазинів за показниками гено- та цитотоксичності та з'ясувати межі адаптивної здатності організму данію до їх дії.

5. За допомогою загальних статистичних лінійних моделей та методів машинного навчання визначити мінімальний набір біомаркерів для оцінки ризиків забруднення довкілля фосфорорганічними пестицидами та триазинами для нецільових організмів та обґрунтувати переваги комплексно аналізу перед визначеннями специфічних біомаркерів їх впливу.

### **4. Об'єкт, предмет та теоретико-методологічна база дисертаційного дослідження**

*Об'єкт дослідження:* молекулярні та фізіолого-біохімічні процеси і організмі смугастого данію.

*Предмет дослідження:* вплив фосфорорганічних пестицидів та триазинів на функціональний стан ключових параметрів окисного стресу, біотрансформації ксенобіотиків, нейро-ендокринної та імунної систем, а також морфо-функціональні характеристики мітохондрій та лізосом рибки данію.

*Методи дослідження:* спектрофотометричні (визначення активності ферментів, концентрації продуктів окисної деструкції, морфологічних порушень структури мітохондрій та лізосом), флуоресцентні (визначення утворення активних форм кисню, окисного ушкодження ДНК), імуноферментні (вміст IgM, кортизолу, триодтироніну), полімеразна ланцюгова реакція в реальному

часі (визначення експресії таргетних генів), статистичні методи та методи машинного навчання (кореляційний, дисперсійний, регресійний, теплова матриця (Heat map), Дискримінантний (Partial least squares – Discriminant Analysis, PLS-DA), рендом форест Random forest).

#### **5. Наукова новизна отриманих результатів, теоретична та практична цінність одержаних результатів**

Встановлено, що у *D. rerio* окисний і карбонільний стрес поряд із розладами ендокринної та імунної систем є важливими механізмами токсичності фосфорорганічних пестицидів та хлоротриазинів. Доведено, що хлорпірифос є сильнішим прооксидантом для смугастого даніо у порівнянні з раундапом відповідно до вищого рівня накопичених продуктів окисної деструкції ліпідів та протеїнів при значно нижчих тестових концентраціях хлорпірифосу, ніж раундапу, низкою ознак цитотоксичності (напр. вихід лактатдегідрогенази у кров) та ураження лізосомальних і мітохондріальних мембран. Також доведено, що раундап в екологічно реальній концентрації викликає у даніо гормезисну відповідь, спрямовану на активацію захисних сил організму, знешкодження активних форм радикалів, видалення продуктів окисного ушкодження та активацію детоксикаційних процесів. Виявлено, що поєднання тербутилазину і малатіону призводить до найбільш істотного карбонільного стресу у даніо. З'ясовано, що фосфорорганічні та триазиновний пестициди викликають у даніо ознаки морфо-функціональних порушень мітохондрій та лізосом, як універсальну відповідь, незалежну від природи діючого чинника, пов'язаних із порушеннями проникності мембран, розладами ланцюга транспорту електронів, розвитком псевдо-гіпоксичного стану та надмірною генерацією активних форм кисню, які в свою чергу на вищих рівнях біологічної організації можуть проявлятися як метаболічні та імунні розлади. На підставі застосування методів машинного навчання вперше визначено мінімальний набір показників для оцінки ризиків пестицидного забруднення для нецільових організмів, який включає на першому етапі показники імунної системи (IgM), ендокринних розладів (вітелогенін Vtg), репарації ДНК (RAD51) та цитотоксичності (LDH), з подальшою деталізацією оцінки стану організму на підставі визначення показників окисного стресу (ТБК-АП, Nrf2, загальної антиоксидантної здатності, GSSG), стрес-гормону кортизолу та ключового ензиму апоптозу Cas3.

*Теоретичне та практичне значення представленої дисертації.* В дисертації ґрунтовно опрацьована та висвітлена література з досліджуваної тематики. Проведена робота дає основу для формування протоколу визначення інтегральної оцінки біобезпеки забруднення середовища пестицидами за допомогою мінімального набору біомаркерів організму даніо для, який включає показники імунної системи (IgM), ендокринних розладів (вітелогенін Vtg),

репарації ДНК (RAD51) та цитотоксичності (LDH) у тканинах риби. За результатами розробленої схеми використання набору біомаркерів отримано патент України на корисну модель способів оцінки якості води.

Практичні результати дисертації можуть бути цінними для спеціалістів, що працюють в охороні водного середовища, екологічної фізіології і біохімії, медицини та фармакології.

#### **6. Наукові публікації, в яких висвітлені основні наукові результати дисертації, повнота опублікованих результатів дисертації**

Апробація результатів роботи. За результатами дисертаційного дослідження опубліковано 1 патент на корисну модель, основні тези доповідались на міжнародних та всеукраїнських конференціях, зокрема:

- 21st International Multidisciplinary Scientific GeoConference (SGEM 2021), 14 - 22 August, 2021, Albena, Bulgaria.

- Second International Conference on Sustainable Futures: Environmental, Technological, Social and Economic Matters (ICSF 2021), 19 - 21 May, 2021 / Kryvyi Rih, Ukraine.

- International Scientific and Practical Conference «Global Challenges Of The 21st Century And The Environment» dedicated to the 10th anniversary of the UNESCO Chair for Sustainable Development within the framework of the 30th anniversary of independence of the Republic of Kazakhstan. Almaty, Kazakhstan, 2-3 December 2021.

За результатами дисертаційного дослідження опубліковано 13 наукових праць, у тому числі 1 патент на корисну модель, 4 статті входять до науково-метричної бази даних *Scopus* (Q1, Q2), 5 – матеріали і тези доповідей на з'їздах і конференціях.

##### Видання, що входять до науково-метричної бази даних Scopus:

1. **Khatib, I.**; Horyn, O.; Bodnar, O.; Lushchak, O.; Rychter, P.; Falfushynska, H. Molecular and Biochemical Evidence of the Toxic Effects of Terbutylazine and Malathion in Zebrafish. *Animals* **2023**, 13, p 1029. <https://doi.org/10.3390/ani13061029>
2. **Khatib, I.**; Rychter, P.; Falfushynska, H. Pesticide Pollution: Detrimental Outcomes and Possible Mechanisms of Fish Exposure to Common Organophosphates and Triazines. *J. Xenobiot.* **2022**, 12, pp 236-265. <https://doi.org/10.3390/jox12030018>
3. Falfushynska, H.; **Khatib, I.**; Kasianchuk, N.; Lushchak, O.; Horyn, O.; Sokolova, I. M. Toxic Effects and Mechanisms of Common Pesticides (Roundup and Chlorpyrifos) and their Mixtures in a Zebrafish Model (*Danio Rerio*). *Sci Total Environ.* **2022**, 10 (833), p 155236. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155236>
4. Bodnar, O., Horyn, O., **Khatib, I.**; Falfushynska, H. Multibiome marker Assessment in Zebrafish *Danio Rerio* after the Effects of Malathion and Chlorpyrifos. *Toxicol. Environ. Health Sci.* **2021**, 13, p 165–174. <https://doi.org/10.1007/s13530-021-00099-1>

##### Видання, що входять до фахових наукових видань категорії «Б»:

5. Боднар, О. І.; **Хатіб, І.**; Горин, О. І.; Сорока, О. В.; Німко, Х. І.; Чернік, І. В.; Ковальська, Г. Б.; Фальфушинська, Г. І. Прояви окисного стресу та метаболічних порушень у *Danio*

- rerio* за дії фосфоорганічних пестицидів. *Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол.* **2021**, № 3-4 (82), С. 43-49. <https://doi.org/10.25128/2078-2357.21.4.5>
6. Горин, О. І.; **Хатіб, І.**; Ковальська, Г.Б.; Познанський, Д. В.; Чернік, І. В.; Боднар, О. І. Вплив екологічно реальних та субтоксичних концентрацій малатиону на нетаргетні організми (на прикладі *Danio Rerio*). *Екологічні науки* **2022**, № 4 (43). С. 208-213. <https://doi.org/10.32846/2306-9716/2022.eco.4-43.35>
  7. Боднар, О. І.; Сенько, С. В.; Осипенко, І. О.; **Хатіб, І.**; Касянчук, Н. М.; Фальфушинська, Г. І. Вивчення ефективності хлорелищодо зменшення цитотоксичних проявів у смугастого данію за впливу орґанофосфатних пестицидів. *Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол.* **2020**, № 3-4 (80), С. 62–72. <https://doi.org/10.25128/2078-2357.20.3-4.8>  
*Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації*
  1. **Khatib, I.**; Zhuk, A. D.; Kovalska, H. B.; Chernik, I. V.; Horyn, O. I.; Bodnar, O. I. Lysosomal alterations in organophosphate-exposed (Roundup, chlorpyrifos and their mixtures) zebrafish. *All-Ukrainian Conference on Molecular and Cell Biology with international participation*. Kyiv, June 15-17. **2022**, p 128.
  2. Falfushynska, H.; Bodnar, O.; **Khatib, I.**; Kovalska, H.; Hulyk S. Zebrafish as a suitable model for studying the mode of action and harmfulness of organophosphate pesticides. *E3S Web of Conferences*. EDP Sciences, **2021**, 280. p 11005. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202128011005>
  3. Falfushynska, H.; **Khatib, I.**; Bodnar, O.; Horyn, O.; Kasianchuk, N. Oxidative damage in zebrafish exposed to environment realistic concentrations of roundup and chlorpyrifos. *International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining Ecology Management : 21st International Multidisciplinary Scientific Geoconference: Ecology, Economics, Education and Legislation, SGEM 2021 (Albena) 16 August 2021 through 22 August 2021*. **2021**, 21 (5.1), p. 159-166. <https://doi.org/10.5593/sgem2021/5.1/s20.043>
  4. Німко, Х. І.; **Хатіб, І.**; Горин, О. І.; Ковальська, Г. Б. Вплив фосфорорганічних пестицидів на стресочутливі системи смугастого Данію. *XI Всеукраїнська конференція «Молоді вчені 2021 – від теорії до практики»* (25 березня 2021 р.), Національна металургійна академія України, м. Дніпро (Україна). 2021, С. 195-199.
  5. Боднар, О. І.; Горин, О. І.; Сорока, О. В.; **Хатіб, І.**; Фальфушинская, Г. И. Оценка воздействия раундапа и малатиона на метаболический статус *Danio rerio*. *International Scientific and Practical Conference GLOBAL CHALLENGES OF THE 21ST CENTURY AND THE ENVIRONMENT* dedicated to the 10th anniversary of the UNESCO Chair for Sustainable Development within the framework of the 30th anniversary of independence of the Republic of Kazakhstan Almaty, Kazakhstan, 2-3 of December **2021**, С. 104-106.  
*Охоронні документи на об'єкти інтелектуальної власності*
  1. Декларативний патент на корисну модель (заявка № u2021 02664) C02F 3/00, C02F 1/00, C02F 3/34 Спосіб оцінки коригуючої здатності мікродоростей щодо забруднення середовища пестицидами / Горин О.І., Фальфушинська Г.І., Боднар О.І., Ковальська Г.Б., **Хатіб І.** №. UA 149979 U; заявл 05.05.2021; опубл. 22.12.2021. Бюл.№ 51.

Усі наукові публікації Іхаба ХАТІБА відповідають пунктам 8, 9 Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затверджено постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44 (зі змінами від 21.03.2022 № 341).

**7. Особистий внесок здобувача.** Автор самостійно проаналізовано літературні джерела за тематикою дисертаційного дослідження, здійснено підготовку та проведення експериментальних досліджень. Біохімічні методи

дослідження та аналіз води проведено спільно із співробітниками НДЛ, а саме: Фальфушинською Г.І., Горин О.І., Ковальською Г.Б.

#### **7. Структура дисертації**

Структура та обсяг дисертації Іхаба Хатіба обумовлені метою та завданнями дисертаційного дослідження. Дисертація викладена на 186 сторінці комп'ютерного набору, робота складається із двох анотацій (українською та англійською мовами), вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів досліджень, результатів роботи та їх обговорення, аналізу та узагальнення результатів, висновків та переліку використаних джерел. Робота містить 38 рисунків, 5 таблиць. Бібліографічний список складає 294 джерел, з них 292 – англійською мовою

#### **8. Особистий внесок здобувача.**

Автором здійснювався самостійно підбір та аналіз літератури з обраної тематики, постановка та реалізація методик дослідження, підготовка лабораторних дослідів та опрацювання отриманих даних. Проведення експерименту здійснювалось спільно з іншими співробітниками лабораторії, у якій виконувалася наукова тематика, та які аналізували спектр показників, не включений у зміст дисертації. Внесок учасників експерименту відображений у публікаціях.

Дисертація виконана українською фаховою мовою з правильним вживанням спеціальної термінології. Стиль викладення в дисертації матеріалів досліджень, наукових положень та висновків забезпечує доступність їх сприйняття. Оформлення дисертаційної роботи відповідає стилю науково-дослідної літератури.

За результатами попередньої експертизи дисертаційного дослідження, виконаного Іхабом Хатібом, а також вивчення повноти публікацій основних результатів дослідження:

#### **ВИСНОВОК**

Констатувати, що за актуальністю, ступенем новизни, обґрунтованістю, науковою та практичною цінністю здобутих результатів дисертаційне дослідження Іхаба Хатіба на тему «**Фізіолого-біохімічні механізми адаптації коропових риб на прикладі *Danio rerio* до впливу органофосфатних та триазинових пестицидів**», відповідає спеціальності 091 «Біологія» та вимогам Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у вищих навчальних закладах (наукових установах), затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 23 березня 2016 року №216 (зі змінами і доповненнями від 03 квітня 2019 року № 283), пунктам 5-7 Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про

присудження ступеня доктора філософії, затверджено постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44.

Рекомендувати дисертацію Іхаба Хатіба на тему «Фізіолого-біохімічні механізми адаптації коропових риб на прикладі *Danio rerio* до впливу органофосфатних та триазинових пестицидів» до захисту на здобуття ступеня доктора філософії у разовій спеціалізованій вченій раді за спеціальністю 091 «Біологія».

**Голова засідання:**

доктор біологічних наук,  
завідувач кафедри загальної біології  
та методики навчання природничих дисциплін  
ТНПУ ім. В. Гнатюка



Василь ГРУБІНКО

