

## ВИСНОВОК

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації  
**Хоми Віри Вячеславівни**

на тему

**«Властивості металотіонеїнів двостулкового молюска за впливу на  
організм стресорних чинників хронічної та короткотривалої дії»**  
представленої на здобуття наукового ступеня доктора філософії  
з галузі знань 09 – Біологія (спеціальність 091 – Біологія)

**Актуальність теми дослідження.** Проблема використання і ресурсозбереження водних екосистем є однією з найбільш актуальних в умовах інтенсивного антропогенного навантаження на довкілля. Спостереження останніх років свідчать про те, що гідрохімічний режим прісних водойм, який визначає якість води в них, тісно пов'язаний із концентрацією так званих «мікроорганічних забруднювачів», які охоплюють широкий спектр речовин, різноманітних за походженням, будовою та характером дії. Ці забруднювачі, навіть у наномолярних концентраціях, можуть проявляти токсичний ефект для водної біоти, а їх токсичність у екологічно реальних сумішах та при екстремальних теплових режимах непередбачувана.

Для біоіндикації стану водойм досить часто використовують двостулкових молюсків, оскільки вони активно адсорбують ксенобіотики завдяки фільтруючому способу живлення та осілому існуванню, і таким чином можуть відображати стан водного середовища у певній місцевості. Певну інформацію про стан водної екосистеми можуть надавати металотіонеїни - універсальні у живому світі металодепонувальні стрес-індуцибельні клітинні протеїни. Вони входять до набору визнаних біомаркерів токсичності водного середовища як біомаркери токсичності металів. Але доцільність використання їх в умовах забруднення полютантами, відмінними від металів, не з'ясована.

Саме цій тематиці присвячена дисертаційна робота Хоми Віри Вячеславівни, в якій авторка досліджує властивості металотіонеїнів двостулкового молюска як метал-депонувальних та потенійно антиоксидантних протеїнів при впливі на організм стресорних чинників хронічної та короткотривалої дії у екологічно реальних за складом сумішах.

Зважаючи на все сказане, актуальність дисертації полягає в оцінці екологічного стану водойм за фізіолого-біохімічними реакціями двостулкових моллюсків як корінних представників водної фауни, чутливих до несприятливих чинників водного середовища.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація виконувалася в межах держбюджетних тем МОН України № 132Б «Екотоксикологічна оцінка впливу гідроелектростанцій на довкілля» (номер державної реєстрації 0118U003123), № М/35-2018 «Мультимаркерний підхід для оцінки впливу гідроелектростанцій на довкілля» номер державної реєстрації 0117U003263) та №№ М/19-2020б М/70-2021 «Розробка набору біопроб - біомаркерів для оцінки впливу фармацевтичних препаратів на водні екосистеми» (номер державної реєстрації 0120U1103537).

Структура та обсяг дисертації Хоми В.В. обумовлені метою та завданнями дисертаційного дослідження. Робота складається із двох анотацій (українською та англійською мовами), вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, результатів роботи та їх обговорення, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел.

В огляді наукової літератури розглянуті сучасні уявлення про структуру та властивості металотіонеїнів двостулкових моллюсків, регуляцію їх експресії, а також роль в гомеостазі та детоксикації металів. Висвітлені також реакції водних організмів на вплив типових ксенобіотиків.

Літературний огляд достатньо інформативний і побудований таким чином, що з нього логічно витікають завдання дослідження.

Розділ «Матеріали та методи» надає достатню інформацію для оцінки та можливості відтворення проведеного експерименту. Наведена інформація свідчить про застосування авторкою сучасних методів препаративної біохімії, ензимного, цитологічного, токсикологічного та фізико-хімічного аналізів, математичної обробки результатів.

Експериментальні результати та їх обговорення подані в розділі 3. В підрозділі 3.1 розглядаються умови хроматографічного виділення

металотіонеїнів з гомогенату травної залози двостулкового молюска. Авторка обирає умови, оптимальні для забезпечення стабільності метал-тіолатних кластерів у коректному співвідношенні цинку, купруму та кадмію у складі, чим верифікує коректність проведеного у роботі аналізу ступеню металювання протеїну. В підрозділі 3.2 дисертантка вивчає функціональні характеристики металотіонеїнів в двостулкового молюска *Unio tumidus* за впливу на організм ксенобіотиків поокремо та у суміші при двох температурах. Було показано, що вплив на організм перлівниці диклофенаку, ніфедипіну та раундапу двох досліджених концентрацій, а також їх суміші, та хлорпромазину у суміші з раундапом порушує акумуляцію та розподіл металів у травній залозі молюска. При цьому встановлено, що концентрація раундапу, яка відповідає найменшій розрахованій межі токсичності, виявляє вплив на металотіонеїни лише при підвищеній температурі. Важливо, що специфічні ефекти фармацевтичних препаратів нівелюються при спільній дії з раундапом.

У підрозділі 3.3 авторка досліджує параметри системи антиоксидантного захисту та прояви окисного ураження молюска за впливу на його організм ксенобіотиків при двох температурах. Дисертанткою встановлено, що комбінований вплив раундапу вищої досліджуваної концентрації зі збільшенням температури викликає пригнічення антиоксидантного захисту, зокрема зниження супероксиддисмутазиної активності та рівня редокс-індексу глутатіону на фоні збільшення рівня продуктів перекисного окиснення ліпідів та окремих модифікацій протеїнів, тобто прооксидантний дисбаланс, що призводить до окисного стресу. Проте нижча концентрація раундапу, навіть при спільній дії чинників, викликає активацію антиоксидантного захисту у травній залозі молюска, зокрема завдяки зростанню рівню низькомолекулярних тіолів.

У підрозділі 3.4 дисертантка досліджує параметри токсичності молюска *Unio tumidus* за впливу на організм ксенобіотиків поокремо та у суміші при двох температурах. Було показано, що вплив раундапу при підвищеній температурі призводить до зменшення стабільності лізосомальних мембран.

Також встановлено, що дія двох концентрацій раундапу та спільна дія раундапу з хлорпромазином викликають активацію ключового цинк-залежного ензиму апоптозу каспази-3. Авторкою відмічено, що вплив ніфедипіну та його сумішей при 18 та 25<sup>0</sup>С, а також раундапу при 25<sup>0</sup>С призводить до зменшення стабільності лізосомальних мембран, тоді як дія хлорпромазину підвищує її. Тільки дія вищої концентрації раундапу у суміші з іншими ксенобіотиками при 18<sup>0</sup>С викликає збільшення відсотка вмісту гемоцитів з ядерними аномаліями (генотоксичний ефект).

У підрозділі 3.5 авторка перевіряє гіпотезу про цинк-хелатуючу дію раундапу та порівнює дії раундапу та хелатора цинку ТПЕНу окремо та у поєднанні з цинком в умовах *ex vivo* на вміст цинку в металотіонеїнах та тканині травної залози двостулкового молюска *Unio tumidus*. Було показано, що дія раундапу, на відміну від дії хелатора цинку ТПЕНу, не блокує акумуляцію цинку у металотіонеїнах, та не впливає на активність цинк-залежної каспази-3. Проте виявлено зменшення загальної активності антиоксидантної системи при дії раундапу та цинку порівняно з контролем, що відповідає опосередкованому впливу раундапу на метал-депонувальну здатність металотіонеїнів.

Четвертий розділ присвячений аналізу та узагальненню одержаних результатів. Проведені дисертанткою дослідження довели високий потенціал мультимаркерного підходу при оцінці ефектів комплексного впливу на водні організми, зокрема молюсків. Авторка вважає, що аналіз металодепонувальної функції металотіонеїнів та антиоксидантного потенціалу їх тіолових груп відображає тонкі біохімічні адаптації до умов існування організму та/або перевищення адаптивного потенціалу, та є адекватним біомаркером для ранньої діагностики впливів довкілля на водні організми. Отримані дисертанткою дані дозволили виявити специфічні ознаки токсичності для кожного з ксенобіотиків, причому за більшістю ознак індивідуальні прояви впливу фармацевтичних препаратів нівелювалися при комплексному впливі. Слід також відмітити що температурний чинник посилював токсичний ефект ксенобіотиків. Важливо,

що окремі ефекти фармацевтичних препаратів, які були вперше відзначені на прикладі двостулкових молюсків, спостерігались у вищих тварин, що привертає увагу до перспектив використання двостулкового молюска як модельного організму.

Одержані дисертанткою дані ґрунтовно проаналізовані на підставі аналізу сучасної наукової літератури та попередніх напрацювань у НДЛ. Висновки дисертації повністю відповідають експериментальним даним. Заслуговує на увагу опрацювання значної кількості сучасної наукової літератури, яка безпосередньо стосується досліджуваної теми. Це свідчить про високу обізнаність, скрупульозність та наукову відповідальність авторки.

**Наукова новизна отриманих результатів** полягає в тому, що авторкою визначені оптимальні умови виділення металотіонеїнів двостулкового молюска із збереженням в їх складі металів. Доведено посилення ефекту двох досліджених концентрацій раундапу у комбінації з лікарськими препаратами хлорпромазином, диклофенаком та ніфедипіном при 18 та 25<sup>0</sup>С. Дисертанткою вперше виявлено, що раундап спричиняє вплив посередництвом прооксидантної дії та опосередковано через цей механізм модулює метал-депонувальні властивості металотіонеїнів як цинк-залежних протеїнів. Визначено також специфічні ознаки впливу фармацевтичних препаратів на стан металотіонеїнів, показники стресу та детоксикації в організмі молюска. Авторкою вперше запропоновано модель *ex vivo* для з'ясування впливу раундапу на функцію металотіонеїнів.

**Теоретичне та практичне значення представленої дисертації.** В дисертації ґрунтовно висвітлена література з досліджуваної тематики. Наукові положення та висновки дисертантки підтверджуються великим обсягом експериментального матеріалу, його глибоким аналізом, застосуванням сучасних токсикологічних, біохімічних та статистичних методів досліджень. На основі цього авторкою запропоновано методологію системної оцінки біобезпеки водного середовища на основі характерних молекулярних стресорних та детоксикаційних систем водних тварин, зокрема двостулкових

моллюсків. Отримані дисертанткою результати щодо рівня металювання металотіонеїнів у тканинах цих гідробіонтів можуть бути використані як оціночний критерій стійкості водних екосистем. Напрацьована авторкою модель *ex vivo* запропонована для ранньої діагностики токсичності суміші ксенобіотиків. Практичні результати дисертації можуть бути цінними для спеціалістів, що працюють у галузі токсикології, екологічної фізіології і біохімії, студентів природничих спеціальностей.

**Повнота викладення матеріалів у публікаціях.** Результати рецензованої роботи відображені у публікаціях авторки в провідних наукових виданнях. За матеріалами дисертаційного дослідження опубліковано 17 праць, в тому числі 7 статей у фахових виданнях, 4 з яких індексуються у наукометричних базах даних Scopus та/або WoS, 9 матеріалів і тези доповідей на з'їздах та конференціях та 1 патент на корисну модель.

### **ВИСНОВОК**

Виходячи із зазначеного, дисертація Хоми В.В. є самостійною, завершеною науковою працею, в якій вирішується актуальна проблема дослідження властивостей металотіонеїнів двостулкового моллюска за впливу на організм стресорних чинників хронічної та короткотривалої дії. Дисертанткою досягнуто поставлених теоретичних і практичних завдань, зміст досліджень розкриває проблему, що розглядається, глибина досліджень достатня для обґрунтування гіпотези. Одержані дані ґрунтовно проаналізовані, обговорені, пов'язані з літературними повідомленнями. Висновки дисертації повністю витікають з експериментальних даних.

На основі усього вище переліченого вважаємо, що дисертаційна робота Хоми В.В. «Властивості металотіонеїнів двостулкового моллюска за впливу на організм стресорних чинників хронічної та короткотривалої дії», яка подана на здобуття наукового ступеня доктора філософії, відповідає вимогам п. 9, 10, 11 «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженому постановою Кабінету Міністрів України від 6 березня 2019 р. № 167 та сучасним вимогам до оформлення дисертацій

затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. № 40, та може бути представлена у спеціалізованій вченій раді для присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – «Біологія» за спеціальністю 091 – «Біологія».

Результати дисертаційної роботи В.В. Хоми обговорено і схвалено на засіданні фахового семінару кафедри хімії та методики її навчання Тернопільського національного педагогічного університету ім. В. Гнатюка за участі представників кафедр загальної біології та методики навчання природничих дисциплін, кафедри ботаніки та зоології Тернопільського національного педагогічного університету ім. В. Гнатюка та кафедри загальної хімії Тернопільського національного медичного університету імені І. Горбачевського 15 червня 2022 р.

#### Голова фахового семінару

Кандидат хімічних наук, доцент  
завідувач кафедри хімії та методики навчання  
Тернопільського національного педагогічного  
університету ім. В. Гнатюка

В. С. Барановський

#### Рецензенти:

доктор біологічних наук, професор  
кафедри хімії та методики її навчання  
Тернопільського національного педагогічного  
університету ім. В. Гнатюка

В. З. Курант

кандидат біологічних наук,  
доцент кафедри хімії та методики її навчання  
Тернопільського національного педагогічного  
університету ім. В. Гнатюка

В. О. Хоменчук

#### Учений секретар

В. Р. Гевко

Підпис  
з а с в і д ч у ю  
Начальник відділу кадрів



В. З. Курант

В. Р. Гевко