

# Облікова картка дисертації

## I. Загальні відомості

**Державний обліковий номер:** 0821U102875

**Особливі позначки:** відкрита

**Дата реєстрації:** 20-12-2021

**Статус:** Захищена

**Реквізити наказу МОН / наказу закладу:**



## II. Відомості про здобувача

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Горин Оксана Ігорівна

2. Horyn Oksana Ihorivna

**Кваліфікація:**

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Вид дисертації:** доктор філософії

**Аспірантура/Докторантура:** так

**Шифр наукової спеціальності:** 091

**Назва наукової спеціальності:** Біологія. Біологія

**Галузь / галузі знань:**

**Освітньо-наукова програма зі спеціальності:** Не застосовується

**Дата захисту:** 16-12-2021

**Спеціальність за освітою:** "Біологія"

**Місце роботи здобувача:** Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка

**Код за ЄДРПОУ:** 02125544

**Місцезнаходження:** вул. М. Кривоноса, буд. 2, м. Тернопіль, Тернопільський р-н., Тернопільська обл., 46027, Україна

**Форма власності:**

**Сфера управління:** Міністерство освіти і науки України

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

### **III. Відомості про організацію, де відбувся захист**

**Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради):** ДФ 58.053.014

**Повне найменування юридичної особи:** Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка

**Код за ЄДРПОУ:** 02125544

**Місцезнаходження:** вул. М. Кривоноса, буд. 2, м. Тернопіль, Тернопільський р-н., Тернопільська обл., 46027, Україна

**Форма власності:**

**Сфера управління:** Міністерство освіти і науки України

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

### **IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію**

**Повне найменування юридичної особи:** Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка

**Код за ЄДРПОУ:** 02125544

**Місцезнаходження:** вул. М. Кривоноса, буд. 2, м. Тернопіль, Тернопільський р-н., Тернопільська обл., 46027, Україна

**Форма власності:**

**Сфера управління:** Міністерство освіти і науки України

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

### **V. Відомості про дисертацію**

**Мова дисертації:**

**Коди тематичних рубрик:** 34.33.33, 34.39.53

**Тема дисертації:**

1. "Фізіолого-біохімічні реакції коропових риб на вплив новітніх біоризиків"
2. "Physiological and Biochemical Reactions of Cyprinid Fish to the Novel Biorisks Effects"

**Реферат:**

1. У наш час все актуальнішою стає проблема поширення ціанобактерій, насамперед представників ряду Nostocales, в поверхневих водах Європи і збільшення кількості випадків цвітіння води за їх участі (Taganu et al. 2015). Як було недавно показано, очікується експансія цієї групи організмів в нові місця проживання із наступною інтеграцією їх в екосистеми, а відтак – порушення стійкості останніх. Це підтверджується, наприклад, збільшенням частоти поширення *Raphidiopsis raciborskii* за останні десятиліття, особливо в зонах з помірним кліматом (Rzymiski et al. 2018). Таке явище можна пояснити високою фенотиповою пластичністю, зміною клімату та антропогенною евтрофікацією (Cirés and Ballot 2016). Цито- та генотоксичні властивості циліндроспермопсину – алкалоїду біосинтезованого певними видами ціанобактерій – широко вивчені на

експериментальних моделях *in vitro* та *in vivo*. За допомогою кількох незалежних досліджень було по окремо встановлено роль урацилу, гуанідину та гідроксильної групи у його токсичності (Evans and Murphy 2011; Cartmell et al. 2017). У ході пропонованого дослідження з використанням нормальних гепатоцитів коропа в умовах *in vitro* було перевірено токсичність п'яти синтетичних аналогів циліндроспермопсину, усі з яких містили у своїй структурі урациловий компонент, але віднізнялися комбінаціями інших притаманних йому компонентів та функціональних груп. Усі тестовані аналоги викликали генерацію активних форм оксинену, окиснення ліпідів та фрагментацію ДНК. Найбільше зростання вмісту ТБК-АП та активності каспази-3 (маркера апоптозу) було продемонстровано аналогом, який, подібно до циліндроспермопсину, містить групи гуанідину, гідроксилу та урацилу, але не має його складної трициклічної структури. Зроблені в процесі роботи спостереження підтверджують гіпотезу, що токсичність циліндроспермопсину є результатом взаємодії компонентів урацилу, гуанідину та гідроксильної групи. Відомо, що окремі види ціанобактерій та зелених водоростей виробляють ліпофільні поліметокси-1-алкени, які можуть викликати тератогенні прояви *in vivo*. Зважаючи на недостатній рівень інформації щодо ПМА у *Arthospira* sp. (комерційно відома як спіруліна) та *Chlorella* sp., які культивуються для виробництва харчових біодобавок, ми проаналізували рівень біобезпеки харчових добавок на основі хлорели (n = 10) та спіруліни (n = 13), зареєстрованих у ЄС з використанням реакцій молекулярних маркерів *Danio rerio* (*in vivo*). Мас-спектрометричний аналіз фракціонованих екстрактів досліджуваних матеріалів не виявив жодних сполук, споріднених з ПМА. Аналізовані зразки не проявляли тератогенної дії, за винятком викривлення хорди, викликаного фракціями двох препаратів на основі хлорели. Разом з тим, проаналізовані біодобавки викликали прояви окисного стресу та цитотоксичності у тканинах печінки даніо, на що вказує підвищений рівень активних форм кисню, активність каталази, пероксидне окиснення ліпідів та збільшення рівня фрагментації ДНК. Більшість (60 %) фракцій з препаратів на основі хлорели викликали активацію холінестерази у мозку даніо, тоді як вплив 61,5 % фракцій з препаратів на основі спіруліни викликав протилежну реакцію - її пригнічення. Наслідки впливу ліпофільних екстрактів, особливо з препаратів на основі хлорели, на *D. rerio* були схожими на реакцію у відповідь на вплив екстрактів ціанобактерій, що може свідчити про схожість токсичних метаболітів, продукованих обома групами організмів, чи забруднення біодобавок ціанобактеріями. Застосування до досліджуваних зразків розробленого на основі описаних вище досліджень способу виявлення потенційно токсичних синьо - зелених водоростей (Фальфушинська та Горин, 2019) показало, що при впливі C15,7 та Sp 12 відповідь ізольованих клітин тканин коропа *Surginus caprio* можна оцінити як «стрес», а для C16 та Sp2, 6 - «передстресовий стан» (адаптивна реакція на пошкоджуючий вплив). Відтак, незважаючи на те, що проведені нами дослідження підтверджують відсутність у проаналізованих препаратах на основі хлорели та спіруліни тератогенних сполук класу поліметокси-1-алкенів, їх цитотоксичний ефект свідчить про необхідність подальших досліджень з даного напрямку. Ключові слова: ціанобактерії, ціанотоксини, коропові риби, біомаркери, окисний стрес, цитотоксичність, генотоксичність, нейротоксичність.

2. Nowadays, there is an active spread of cyanobacteria, primarily of the Nostocales order, in the surface waters of Europe and an increase in the number of cases of water blooms with their involvement (Taranu et al. 2015). As recently shown, the Nostocales are expected to expand into new habitats and then integrate into ecosystems, thus disrupting their resilience. This is proven, for example, by the increase in the prevalence of *Raphidiopsis raciborskii* in recent decades, especially in temperate climates (Rzymiski et al. 2018). This phenomenon can be explained by high phenotypic plasticity, climate change and anthropogenic eutrophication (Cirés and Ballot 2016). It is obvious that freshwater reservoirs with a steadily elevated temperature regime provide a favorable environment for the expansion of toxic species of cyanobacteria to new areas with their subsequent spread. Based on the data that the expansion of potentially toxic cyanobacteria began in latitudes with tropical and subtropical climates, we chose for the study reservoirs characterized by elevated temperatures due to geographical location (Kasperivtsi Reservoir and the Seret River below its dam) or operating conditions (Netishyn Reservoir). Phytoplankton analysis showed that cyanobacteria were the dominant fraction in all cases with a more visible predominance in summer. In particular, several potential producers of potent toxins were identified:

Raphidiopsis raciborskii, Aphanizomenon gracile, Dolichospermum flos-aquae. However, screenings for dissolved or partial cylindrospermopsin, microcystins (-LR, -YR, and -RR), and toxoid were negative. The cyto- and genotoxic properties of cylindrospermopsin, an alkaloid biosynthesized by certain species of cyanobacteria, have been extensively studied in experimental in vitro and in vivo models. Several independent studies have separately identified the role of uracil, guanidine, and the hydroxyl group in CYN toxicity (Evans and Murphy 2011; Cartmell et al. 2017). In the proposed study on a model of normal carp hepatocytes in vitro, the toxicity of five synthetic simplified analogues was tested, all of which contained a uracil component in their structure, but differed in combinations of other components and functional groups inherent in CYN. All tested analogues caused the reactive oxygen species, lipid peroxidation and increased levels of DNA fragmentation/ The greatest increase in TBARS content and activity of caspase-3 (a marker of apoptosis) was demonstrated by an analogue that, like CYN, contains functional groups of guanidine, hydroxyl and uracil, but does not have its complex tricyclic structure. Observations made in the course of this work confirm the hypothesis that the toxicity of CYN is the result of the interaction of the components of uracil, guanidine and the hydroxyl group. Certain species of cyanobacteria and green algae are known to produce lipophilic polymethoxy-1-alkenes, which can cause teratogenicity in vivo. Due to the insufficient level of information on PMA in Arthrospira sp. (commercially known as spirulina) and Chlorella sp., which are cultivated for the production of food additives, we analyzed the level of biosafety of food additives Chlorella (n = 10) and Spirulina (n = 13) registered in the EU. Mass spectrometric analysis of the fractionated extracts did not reveal any potentially related chemical compounds in the studied materials. The analyzed samples did not show teratogenic effects, except for curvature of the spine caused by fractions of two chlorella drugs. However, the analyzed supplements caused oxidative stress and cytotoxicity in zebrafish liver tissue, as indicated by increased levels of reactive oxygen species, catalase activity, lipid peroxidation and increased levels of DNA fragmentation. The majority (60%) of chlorella fractions caused cholinesterase activation in zebrafish brain, while the effect of 61.5% of spirulina fractions caused the opposite reaction - its suppression. The effects of lipophilic extracts, especially Chlorella, on Danio rerio were similar to the response to cyanobacterial extracts, which may indicate the similarity of toxic metabolites produced by both groups or contamination of bioadditives with blue-green algae. Application to the studied samples of the method of detection of potentially toxic blue-green algae developed on the basis of the studies described above (Falfushynska and Horyn, 2019) showed that for Ch5,7 and Sp 12 the level of biosafety corresponds to the indicator "stress" (acute stress response), and for Ch6 and Sp2, 6 - "pre-stress state" (adaptive response to damage). Therefore, although our studies confirm the absence of teratogenic compounds belonging to the class of polymethoxy-1-alkenes in the Chlorella and Spirulina preparations, their cytotoxic effect attests the necessity of further research. Key words: cyanobacteria, cyanotoxins, carp fish, biomarkers, oxidative stress, cytotoxicity, genotoxicity, neurotoxicity.

**Державний реєстраційний номер ДіР:**

**Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки:**

**Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності:**

**Підсумки дослідження:**

**Публікації:**

**Наукова (науково-технічна) продукція:**

**Соціально-економічна спрямованість:**

**Охоронні документи на ОПВ:**

**Впровадження результатів дисертації:**

**Зв'язок з науковими темами:**

## **VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)**

### **Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Фальфушинська Галина Іванівна
2. Falfushynska Halyna I.

**Кваліфікація:** д. б. н., 03.00.04

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

## **VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів**

### **Офіційні опоненти**

#### **Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Гандзюра Володимир Петрович
2. Gandzura Volodumur Petrovich

**Кваліфікація:** д.б.н., 03.00.16

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

#### **Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Коновець Ігор Миколайович
2. Konovets Ihor M.

**Кваліфікація:** к.б.н., 03.00.04, 10.30.01

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

**Рецензенти**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Курант Володимир Зіновійович

2. Kurant Volodymyr Zinoviyovych

**Кваліфікація:** д.б.н., 03.00.10

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Хоменчук Володимир Олександрович

2. Khomenchuk Volodymyr Oleksandrovyuch

**Кваліфікація:** к. б. н., 03.00.04

**Ідентифікатор ORCID ID:** Не застосовується

**Додаткова інформація:**

**Повне найменування юридичної особи:**

**Код за ЄДРПОУ:**

**Місцезнаходження:**

**Форма власності:**

**Сфера управління:**

**Ідентифікатор ROR:** Не застосовується

## **VIII. Заключні відомості**

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові  
голови ради**

Грубінко Василь Васильович

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові  
головуючого на засіданні**

Грубінко Василь Васильович

**Відповідальний за підготовку  
облікових документів**

**Реєстратор**

**Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є  
відповідальним за реєстрацію наукової  
діяльності**



Юрченко Т.А.