

## АНОТАЦІЯ

Коваленко І.В. «Антимікробна дія декаметоксину та фторхінолонів і їх вплив на аргіназа/NO-синтазну та антиоксидантну системи лімфоцитів крові» - кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія (03.00.04 – біохімія). – Інститут біології тварин НААН, Львів, 2020.

Дисертацію присвячено вивченню антимікробної дії антисептика декаметоксину та антибіотиків фторхінолонового ряду та їх впливу на аргіназа/NO-синтазну та антиоксидантну системи лімфоцитів крові людини.

Показано, що декаметоксин (ДКМ) і його лікарська форма декасан (ДС) проявляли однакову мікробоцидну активність щодо музейних штамів *E. coli* (15,62 мкг/мл), *C. albicans* (16 мкг/мл), *E. faecalis* (0,97 мкг/мл), *Bac. subtilis* (0,24 мкг/мл). ДС був менш мікробоцидно активним щодо *S. aureus* (0,48 мкг/мл) у порівнянні з ДКМ (0,24 мкг/мл). Також ДС був менш мікробоцидно активним щодо *P. aeruginosa* (250 мкг/мл), ніж ДКМ (62,5 мкг/мл).

Аналіз результатів дослідження чутливості клінічних штамів мікроорганізмів до ДКМ та ДС показав високу бактерицидну дію на штами *S. epidermidis* (від  $(1,16 \pm 0,14)$  до  $(1,45 \pm 0,15)$  мкг/мл); *S. aureus* (від  $(1,19 \pm 0,59)$  до  $(1,52 \pm 0,67)$  мкг/мл); *E. coli* (від  $(15,62 \pm 1,3)$  до  $(18,46 \pm 1,8)$  мкг/мл); *P. Aeruginosa* (від  $(36,5 \pm 7,91)$  до  $(39,48 \pm 6,85)$  мкг/мл), фунгіцидну дію на *C. albicans* (від  $(13,39 \pm 1,12)$  до  $(15,63 \pm 1,13)$  мкг/мл). Таким чином, обидва препарати, ДКМ і ДС мікробоцидно діють на стафілококи, ентерококи, кишкову паличку та *Candida albicans*. Проте патентований взірець ДКМ за мікробоцидною дією переважає ДС.

На підставі результатів досліджень встановлено, що ДКМ та ДС в різних бактериостатичних (МБсК) і бактерицидних (МБцК) концентраціях суттєво впливають на адгезивну здатність грампозитивних (стафілококи) та грамнегативних (ешерихії) бактерій. За МБсК антисептиків відсоток адгезованих бактеріальних клітин стафілококів зменшився як за присутності

ДКМ, так і за присутності ДС, на 58-59 %. МБсК лікарських антибактеріальних препаратів значно інтенсивніше пригнічували адгезивний процес ешерихій.

Щодо резистентності мікроорганізмів, то встановлено, що штами стафілококів повільно формували стійкість до ДКМ. Після п'яти пасажів резистентність двох штамів стафілококу збільшилась у два рази, а 30-ти кратне пасажування показало, що резистентність до ДКМ у *S. aureus* ATCC 25923 зросла в 64 рази, а в *S. aureus* 27 – у 32 рази. Резистентність до ДКМ у *Candida albicans* формувалася повільно. Так, після 30 пасажів на поживних середовищах у присутності ДКМ стійкість у *Candida albicans* зросла в 16 разів.

Дослідження формування стійкості до лікарських форм показало, що *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* 27 формували резистентність до ДС, яка зросла в 4-8 разів (1,95 мкг/мл) після 10 пасажів культивування. Після 30 пасажів зросла в 64 рази, відповідно. Формування резистентності штамів *C. albicans* 14, *C. albicans* 51 до ДС продемонстровано, що їх стійкість збільшилась після 10 пасажу у 8 разів, а після 30 пасажів тест-штами *C. albicans* були в 32 рази стійкішими порівняно з вихідним рівнем.

Таким чином, доведено, що у стафілококів, *C. albicans* повільно формується стійкість *in vitro* до декаметоксину та декасану, яка після 30 пасажів збільшується у 16-64 рази.

В сучасних умовах, доцільним залишається вивчення чутливості *S. aureus* до фторхінолонів, які постійно застосовують в лікуванні важко хворих з гнійно-запальними захворюваннями. За результатами проведених досліджень вперше отримані прогностичні аналітичні вирази динаміки чутливості до фторхінолонів клінічних штамів *S. aureus*, які спричиняли у хворих із важкими опіками гнійно-запальні ускладнення. У клінічних штамів золотистого стафілококу прогнозована чутливість до ципрофлоксацину має тенденцію до зниження, зростає до левофлоксацину. Високою є чутливість *S. aureus* до моксифлоксацину (92,5 %).

Оскільки декаметоксин володіє гідрофільними та ліпофільними властивостями, він через ранові поверхні, слизові оболонки, шкіру, бронхи може проникати в клітини, кров, лімфу, розноситись кров'ю до різних органів і тканин пацієнта і, таким чином, спричиняти різноманітні біохімічні ефекти, зокрема

щодо регуляторних NO-синтазної та антиоксидантної систем клітин. У цьому плані біологічна дія декаметоксину практично не досліджена.

Показано, що декаметоксин у концентраціях  $10^{-5}$ – $10^{-2}$  М дозозалежно призводить до зростання аргіназної активності. При  $10^{-2}$  М концентрації - в 1,4 раза щодо контрольних значень ( $p < 0,05$ ). При дії на лімфоцити крові фторхінолонів також спостерігається концентраційнозалежне зростання ензиматичної активності аргінази, з виходом на плато. При цьому активність зростала в ряді: контроль → ципрофлоксацин → левофлоксацин → моксифлоксацин. Ці дані прямо корелюють з поколіннями фторхінолонів. Найвища активність спостерігається при дії моксифлоксацину, який належить до IV покоління.

Розрахунок кінетичних параметрів активності аргінази засвідчив, що зростання активності аргінази в лімфоцитах при дії фторхінолонів відбувається за рахунок зростання числа обертів ензиму ( $V_{max}$  зростає), хоча спорідненість субстрату до ензиму знижується ( $K_{L-arg}$  – зростає).

Оскільки L-аргінін є субстратом не тільки для аргінази, але й для всіх ізоформ NO-синтази, наступним етапом роботи було вивчення активності окремих ізоформ NO-синтази та їх кінетичних особливостей при дії декаметоксину та фторхінолонів.

Показано, що активність конститутивної ізоформи NO-синтази в контролі складала ( $71,4 \pm 6,9$ ), а активність індукбельної ізоформи ( $1,58 \pm 0,18$ ) нмоль NADPH( $H^+$ )/хв на 1 мг протеїну. За дії ДКМ в концентрації  $10^{-5}$  М активність cNOS знижувалась в 1,25 раза ( $p < 0,05$ ), а активність iNOS зростала в 10,8 раза ( $p < 0,001$ ).

В результаті проведених досліджень щодо впливу фторхінолонів на активність окремих ізоформ NO-синтази встановлено, що у концентраціях  $10^{-5}$  М моксифлоксацин зумовлює зниження активності cNOS в 10,2 ( $p < 0,001$ ), левофлоксацин – у 5,5 ( $p < 0,001$ ) та левофлоксацин – у 4,2 раза ( $p < 0,001$ ).

При вивченні впливу фторхінолонів на активність iNOS лімфоцитів, виділених із крові практично здорових жінок, її активації ми не спостерігали, а інгібуючий ефект неможливо було визначити через низьку активність. Для індукування активності iNOS в лімфоцитах крові використовували оксидативний стрес, преінкубуючи лімоцити з  $H_2O_2$ . Преінкубація лімфоцитів із

0,2 мМ Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> призводить до зростання активності iNOS в 31,3 раза. На фоні активації iNOS гідроген пероксидом, ципрофлоксин призводить до інгібування активності ензиму в 1,2 (p<0,05), левофлоксацин – у 1,4 (p<0,05), а моксифлоксацин – у 2,3 раза (p<0,001)

При дії на організм ксенобіотиків, зокрема ліків у клітинах часто ініціюються окиснювальні вільнорадикальні процеси.

Нами проведено порівняльне дослідження процесів ПОЛ і системи глутатіону в лімфоцитах периферичної крові при дії декаметоксину. Показано незначне інгібування процесів ПОЛ за дії різних концентрацій декаметоксину. Так, у контролі концентрація МДА у лімфоцитах крові складає (62,3±4,6) мкмоль/мг протеїну. При дії різних концентрацій декаметоксину (10<sup>-5</sup>–10<sup>-2</sup> М) ця величина дещо знижується, однак недостовірно (p>0,001). Одночасно з незначним зниженням процесів ПОЛ, виявлені відповідні зміни в активності ензимів системи глутатіону. Так, показано, що в контролі глутатіонпероксидазна активність лімфоцитів складає (154,2±13,4) нмоль GSH/хв на 1 мг протеїну. За дії декаметоксину 10<sup>-2</sup> М ця активність дозозалежно зростає (p<0,05).

Щодо активності глутатіонредуктази, то в контролі вона складала (51,7±4,2) нмоль NADPH/хв на 1 мг протеїну. При дії декаметоксину в концентраціях 10<sup>-5</sup>–10<sup>-2</sup> М ця активність дозозалежно зростала, в 1,2 раза (p<0,05).

Глутатіон-S трансферазна активність в контролі складала (12,2±9,2) нмоль GSH/хв на 1 мг протеїну. Додавання в інкубаційне середовище декаметоксину в концентраціях 10<sup>-5</sup>–10<sup>-2</sup> М дозозалежно активувало цей ензим, активність якого зростала в 1,4 раза (p<0,05).

Таким чином, показано, що антисептик декаметоксин суттєво впливає на регуляторні механізми клітини, зокрема лімфоцитів крові, активуючи ензими глутатіонової антиоксидантної системи.

Нами також проведено порівняльне дослідження процесів ПОЛ і системи глутатіону в лімфоцитах периферичної крові при дії фторхінолонів II – IV поколінь. У всіх випадках показано активацію процесів ПОЛ. Так, у лімфоцитах крові контрольної групи концентрація МДА дорівнює (4,1±0,4) мкмоль/л. При дії ципрофлоксацину (II покоління) процеси ПОЛ інтенсифікуються в 1,7 раза

щодо показників у групі контролю ( $p < 0,001$ ). За дії на лімфоцити левофлоксацину (III покоління) процеси ПОЛ ще більше активуються, концентрація МДА зростає в 1,8 раза щодо контрольних значень ( $p < 0,001$ ). Подібна ситуація спостерігається і при визначенні концентрації МДА у лімфоцитах крові при дії моксифлоксацину (IV покоління), який призводить до зростання МДА в 1,9 раза ( $p < 0,001$ ). Можна бачити пряму залежність активації процесів ПОЛ від покоління антибіотиків у ряді: моксифлоксацин > левофлоксацин > ципрофлоксацин

Одночасно з інтенсифікацією процесів ПОЛ, виявлені відповідні зміни і в активності ензимів системи глутатіону. Так, глутатіонпероксидазна активність лімфоцитів при дії ципрофлоксацину зростала в 1,1 ( $> 0,05$ ), при дії левофлоксацину – в 1,2 ( $p > 0,05$ ), а при дії моксифлоксацину – в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ). Тобто, достовірне зростання активності глутатіонпероксидази відбувається тільки при дії моксифлоксацину.

Щодо активності глутатіонредуктази, то в лімфоцитах в контролі вона складала ( $51,7 \pm 4,2$ ) нмоль NADPH/ хв на 1 мг протеїну. При дії ципрофлоксацину вона знижувалась в 1,2 ( $p < 0,05$ ), левофлоксацину – в 1,2 ( $p < 0,05$ ), а при дії моксифлоксацину – в 1,3 раза ( $p < 0,05$ ).

Активність глутатіон-S трансферази в лімфоцитах в контролі складала ( $112,2 \pm 9,2$ ) нмоль GSH/хв на 1 мг протеїну. При дії ципрофлоксацину вона зростає в 2,3 ( $p < 0,001$ ), левофлоксацину – в 3,1 ( $p < 0,001$ ), а моксифлоксацину – в 3,8 раза ( $p < 0,001$ ).

Таким чином, отримані нами результати щодо дії декаметоксину та фторхінолонів вказують на суттєві зміни аргіназо-NO-синтазної та глутатінової антиоксидантної систем лімфоцитів крові, що призводить до їх дисбалансу і порушення регуляторної ролі.

**Ключові слова:** декаметоксин, фторхінолони, мікроорганізми, стафілокок, сальмонели, адгезія, антибіотики, антисептики, резистентність, лімфоцити, аргіназа, NO-синтаза, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, глутатіонтрансфераза.

## SUMMARY

*Kovalenko I.V.* «Antimicrobial action of decamethoxine and fluoroquinolones and their effect on the arginase/NO synthase and antioxidant system of blood lymphocytes» – a qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for a Doctor of Philosophy Degree in specialty 091 Biology (03.00.04 – Biochemistry). – Institute of Animal Biology NAAS of Ukraine, Lviv, 2020.

The dissertation is devoted to the study of antimicrobial action of decamethoxine anesthetics and antibiotics of fluoroquinolone series and their effect on arginase/NO synthase and antioxidant system of human blood lymphocytes.

It is shown that decamethoxin (DCM) and its dosage form decasan (DS) showed the same microbicidal activity against *E. coli* museum strains (15.62 µg/ml), *C. albicans* (16 µg/ml), *E. faecalis* (0,97 µg/ml), *Bac. subtilis* (0.24 µg/ml). DS was less microbocidally active against *S. aureus* (0,48 µg/ml) compare to DMC (0.24 µg/ml).

DS was also less microbicidal active against *P. aeruginosa* (250 µg/ml) than DCM (62.5 µg/ml).

Analysis of the study results of the clinical strains microorganisms sensitivity to DCM and DS showed a high bactericidal effect on strains *S. epidermidis* (from (1.16±0.14) to (1.45±0.15) µg/ml); *S. aureus* (from (1.19±0.59) to (1.52±0.67) µg/ml); *E. coli* (from (15.62±1.3) to (18.46±1.8) µg/ml); *P. aeruginosa* (from (36.5±7.91) to (39.48±6.85) µg/ml), fungicidal action against *C. albicans* (from (13.39±1.12) to (15.63±1.13) µg/ml). Thus, both drugs, DCM and DS have microbicidal effect against staphylococci, enterococci, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. However, the patented DCM model outweighs the microbicidal DS.

Based on the results of studies, it was established that DCM and DS in different bacteriostatic (MBsC) and bactericidal (MBcC) concentrations significantly affect the adhesive capacity of gram-positive (staphylococci) and gram-negative (*Escherichia*) bacteria. At the presence of MBsC antiseptics, the percentage of bacterial cells adhesion of staphylococci decreased both in the presence of DCM and in the presence

of DS by 58-59 %. MBsC of antibacterial drugs inhibited the adhesion process of *Escherichia* much more intensively.

Regarding the resistance of microorganisms, it was found that strains of staphylococci slowly formed resistance to DCM. After five passages the resistance of two strains of staphylococcus increased twice and the 30 passages showed that resistance of *S. aureus* ATCC 25923 to DCM increased in 64 times and *S. aureus* 27 in 32 times. The resistance of *Candida albicans* to DCM was forming slowly. Thus, after 30 passages on nutrient media at the presence of DCM, resistance of *Candida albicans* increased in 16 times.

A study of the resistance formation to dosage forms showed that *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* 27 formed resistance to DC, which increased in 4-8 times (1,95 мг/мл) after 10 passages of cultivation. After 30 passages it increased in 64 times respectively. Formation of *C. albicans* 14, *C. albicans* 51 strains resistance to DC has shown that their resistance increased after 10 passages in 8 times and test-strains of *C. albicans* were in 32 times more stable than the baseline after 30 passages.

Thus, it has been proved that for staphylococci, *C. albicans* the resistance to decamethoxine and decasan slowly in vitro forms, which increases in 16-64 times after 30 passages.

In modern conditions, it is advisable to study the sensitivity of *S. aureus* to fluoroquinolones, which are constantly used in the treatment of seriously ill patients with purulent-inflammatory diseases. According to the results of the researches, the prognostic analytical expressions of sensitivity dynamics to fluoroquinolones of *S. aureus* clinical strains, which caused purulent-inflammatory complications in patients with severe burns, were first obtained. In clinical strains of *Staphylococcus aureus*, the predicted sensitivity to ciprofloxacin tends to decrease and increases to levofloxacin. The sensitivity of *S. aureus* to moxifloxacin is high (92.5 %).

Since decamethoxine has hydrophilic and lipophilic properties, it can penetrate into cells, blood, through surfaces of wounds, mucous membranes, skin, etc., and can be transmitted by blood to different organs and tissues, and thus, to cause a variety of biochemical effects, in particular, regarding to the regulatory NO-synthase system of

cells. In this respect, the biological action of decamethoxine has not yet been substantially investigated.

It has been shown that at concentrations of  $10^{-5}$ – $10^{-2}$  M decamethoxine dose-dependently leads to an increase of arginase activity. At  $10^{-2}$  M concentration in 1.4 times relative to control ( $p < 0.05$ ) in lymphocytes under the action of fluoroquinolones. Effect on blood lymphocytes of fluoroquinolones also shows a concentration-dependent increase of arginase enzymatic activity, reaching the plateau. Simultaneously the activity increased in the range: control → ciprofloxacin → levofloxacin → moxifloxacin. These data directly correlate with generations of fluoroquinolones. The highest activity is observed with the action of moxifloxacin belonging to the fourth generation.

Calculation of the kinetic parameters of arginase activity showed that an increase of arginase activity in lymphocytes under the action of fluoroquinolones is due to the increase in the number of the enzyme revolutions ( $V_{max}$  increases), although the substrate affinity for the enzyme is reduced ( $K_{L-arg}$  increases).

Since, L-arginine is a substrate not only for arginase but also for all NO-synthase isoforms, the next step was to study the activity of individual NO-synthase isoforms and their kinetic features under the action of fluoroquinolones.

It was shown that the activity of the constitutive isoform of NO synthase in control was ( $71.4 \pm 6.9$ ) and the activity of the inducible isoform ( $1.58 \pm 0.18$ ) nmol NADPH( $H^+$ )/min per 1 mg of protein. With the action of decamethoxine at a concentration of  $10^{-5}$  M the activity of cNOS decreased in 1.25 times ( $p < 0.05$ ) and the activity of iNOS increased in 10.8 times ( $p < 0.001$ ).

Studies on the effect of fluoroquinolones on the activity of individual isoforms of NO synthase revealed that  $10^{-5}$ M concentration of moxifloxacin causes a decrease of cNOS activity in 10,2 times ( $p < 0.001$ ), levofloxacin in 5.5 times ( $p < 0.001$ ) and levofloxacin in 4.2 times ( $p < 0.001$ ) compare to the control group ( $p < 0.001$ ).

When studying the effect of fluoroquinolones on the activity of iNOS in lymphocytes isolated from the blood of healthy women, we did not observe its activation and the inhibitory effect could not be determined due to its low activity.



Oxidative stress was used to induce iNOS activity in blood lymphocytes by preincubating lymphocytes with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Lymphocyte preincubation with 0.2 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> leads to iNOS activity increase in 31.3 times. During iNOS activation by hydrogen peroxide, ciprofloxacin leads to inhibition of enzyme activity in 1,2 times (p<0.05), levofloxacin in 1.4 times (p<0.05), and moxifloxacin in 2.3 times (p<0.001)

When the action on the body of xenobiotics in particular drugs free-radical oxidative processes are often initiated in cells.

A comparative study of processes of LPO and the glutathione system in peripheral blood lymphocytes under the action of decamethoxin was conducted. It is shown a slight inhibition of LPO processes under the action of different concentrations of decamethoxine. Thus, the concentration of MDA in blood lymphocytes is (62.3±4.6) nmol/mg protein of the control group. Under the influence of the different concentrations of decamethoxine (10<sup>-5</sup>–10<sup>-2</sup> M) this numeric value decreases but it is non significant (p>0.001).

Simultaneously, with a slight decrease in process LPO appropriate changes in the activity of glutathione system enzymes were revealed. Thus, it was shown that lymphocyte glutathione peroxidase activity is (154.2±13.4) nmol GSH/min·mg protein in control. Under the action of decamethoxine, this activity increases dose-dependently (p<0.05).

Regarding glutathione reductase its activity was (51.7±4.2) nmol NADPH/min·mg protein in a control. With the action of decamethoxine in concentrations of 10<sup>-5</sup>–10<sup>-2</sup> M this activity increased in 1.2 times (p<0,05) dose-dependently.

The activity of glutathione-S transferase in a control was (12.2±9.2) nmol GSH/min·mg of protein. At an addition of decamethoxine in 10<sup>-5</sup>–10<sup>-2</sup> M concentrations to the incubation medium this enzyme was activated dose-dependently, which activity increased in 1.4 times (p<0.05).

Thus, it has been shown that antiseptic decamethoxine significantly influences the regulatory mechanisms of the cell, in particular blood lymphocytes, by activating enzymes of the glutathione antioxidant system.

A comparative study of the processes of LPO and glutathione system in peripheral blood lymphocytes under the influence of fluoroquinolones of II-IV

generations. In all cases, the activation of the LPO processes is shown. Thus, in the blood lymphocytes of a control, the concentration of MDA is  $(4.1 \pm 0.4) \mu\text{mol/l}$ . With the action of ciprofloxacin (II generation), the processes of LPO intensify in 1.7 times regarding indicators in the control group ( $p < 0.001$ ). Due to levofloxacin (III generation) lymphocytes, the processes of LPO are further activated, the concentration of MDA increases in 1.8 times relative to control values ( $p < 0.001$ ). A similar situation is observed when determining the concentration of MDA in blood lymphocytes under the action of moxifloxacin (IV generation), which leads to an increase of MDA in 1.9 times ( $p < 0.001$ ). A direct dependence can be seen of the LPO processes activation on antibiotics generation in a number: moxifloxacin > levofloxacin > ciprofloxacin.

Along with the intensification of the processes of LPO, the corresponding changes in the activity of enzymes of the glutathione system have been revealed. Thus, glutathione peroxidase activity of lymphocytes under the action of ciprofloxacin increased in 1.1 times ( $p > 0.05$ ), under the action of levofloxacin in 1.2 times ( $p > 0.05$ ) and under the action of moxifloxacin in 1.3 times ( $p < 0.05$ ). That is a significant increase in the activity of glutathione peroxidase occurs only under the action of moxifloxacin.

Regarding glutathione reductase activity in lymphocytes, it was  $(51.7 \pm 4.2) \text{ nmol NADPH/min mg of protein}$  of a control. With ciprofloxacin, it decreased in 1.2 times ( $p < 0.05$ ), levofloxacin in 1.2 times ( $p < 0.05$ ), and with moxifloxacin in 1.3 times ( $p < 0.05$ ).

Glutathione-S transferase activity in lymphocytes of a control was  $(112.2 \pm 9.2) \text{ nmol GSH/min} \cdot \text{mg protein}$ . With ciprofloxacin it increased in 2.3 times ( $p < 0.001$ ), levofloxacin in 3,1 times ( $p < 0.001$ ), and with moxifloxacin in 3,8 times ( $p < 0.001$ ).

Thus, the results obtained regarding the action of decamethoxin and fluoroquinolones indicate significant changes in the arginase-NO-synthase and glutathione antioxidant systems of blood lymphocytes, which leads to their imbalance and impaired regulatory role.

**Keywords:** decamethoxine, fluoroquinolones, microorganisms, staphylococcus, salmonella, adhesion, antibiotics, antiseptics, resistance, lymphocytes, arginase, NO-synthase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione-S transferase.

*Список публікацій здобувача:*

1. Kovalenko IV, Onufrovych OK, Vorobets NM, Melnyk OV, Vorobets ZD. Arginase/NO-synthase system characteristics in blood lymphocytes under effect fluoroquinolones. Regulatory Mechanisms in Biosystems. 2019;10(2):203-08 (Web of Science). *(Дисертантом особисто проведено лабораторні дослідження, матеріали до друку підготовлено у співавторстві).*
2. Kovalenko IV, Onufrovych OK, Melnyk OV, Korchynska OS, Vorobets NM, Vorobets ZD. Effect of fluoroquinolones on the activity of the glutathione system in the peripheral blood lymphocytes. Experimental and Clinical Physiology and Biochemistry. 2019;3(87):23-9. *(Дисертантом особисто проведено лабораторні дослідження, матеріали до друку підготовлено у співавторстві).*
3. Kovalenko IV, Onufrovych OK, Fafula RV, Vorobets ZD. Fluoroquinolones influence on the L-arginine/NO system activity in blood lymphocytes. Slovak International Scientific Journal. 2020;1(39):3-6. *(Дисертантом особисто проведено лабораторні дослідження, матеріали до друку підготовлено у співавторстві).*
4. Kovalenko IV, Onufrovych OK, Fafula RV, Melnyk OV, Vorobets ZD. Characteristics of antioxidant and NO-synthase systems of blood lymphocytes under the action of decamethoxine. Experimental and Clinical Physiology and Biochemistry. 2020;1(88):15-22. *(Дисертантом особисто проведено лабораторні дослідження, матеріали до друку підготовлено у співавторстві).*
5. Kovalenko IV, Onufrovych OK, Fafula RV, Vorobets ZD. Characteristics of kinetic indicators of arginase and NO-synthase isoforms in peripheral blood lymphocytes under the action of fluorohinolones. Polish Journal of Science. 2020;28(2):7-13. *(Дисертантом особисто проведено лабораторні дослідження, матеріали до друку підготовлено у співавторстві).*
6. Коваленко ІВ, Воробець ЗД. Вплив антибіотиків фторхінолонового ряду на активність аргіназо-NO-синтазної системи лімфоцитів крові. Збірник

праць XIII Міжнаодної міждисциплінарної наук.-практ. конф. Сучасні аспекти збереження здоров'я людини; 2020 квіт. 3-4; Ужгород; 2020, с. 286-91. *(Дисертантом особисто проведено лабораторні дослідження, матеріали до друку підготовлено у співавторстві).*

7. Палій ГК, Назарчук ОА, Нагайчук ВІ, Осадчук НІ, Палій ДВ, Коваленко ІВ. Аналітичне прогнозування чутливості стафілококу до фторхінолонів. Світ медицини та біології. 2015;3(51):103-6. *(Дисертантом особисто проведено лабораторні дослідження, матеріали до друку підготовлено у співавторстві).*
8. Гончар ОО, Назарчук ОА, Палій ДВ, Коваленко ІВ, Яцула ОВ, Буркот ВМ. Дослідження дії декаметоксину та його лікарських форм на адгезію бактерій. Світ медицини та біології. 2015;4(54):109-12. *(Дисертантом особисто проведено лабораторні дослідження, матеріали до друку підготовлено у співавторстві).*
9. Назарчук ОА, Палій ДВ, Коваленко ІВ, Гончар ОО, Яцула ОВ. Мікробіологічна характеристика резистентності мікроорганізмів до антисептичних препаратів. Вісник проблем біології і медицини. 2015;2(125):282-6. *(Дисертантом особисто проведено лабораторні дослідження, матеріали до друку підготовлено у співавторстві).*
10. Гончар ОО, Назарчук ОА, Палій ДВ, Коваленко ІВ, Буркот ВМ. Антимікробні властивості генериків декаметоксину. Медична та клінічна хімія. 2015;4(61):43-6. *(Дисертантом особисто проведено лабораторні дослідження, матеріали до друку підготовлено у співавторстві).*
11. Палій ГК, Назарчук ОА, Бобир ВВ, Гончар ОО, Гридін ТЯ, Палій ДВ, та ін. Оцінка антибактеріальних та протигрибкових властивостей сучасних антисептиків. Мікробіологія і біотехнологія. 2015;4(32):67-74. *(Дисертантом особисто проведено лабораторні дослідження, матеріали до друку підготовлено у співавторстві).*
12. Гончар ОО, Назарчук ОА, Палій ДВ, Коваленко ІВ, Яцула ОВ. Вивчення антимікробних властивостей лікарських антисептичних препаратів, що містять декаметоксин. Український біофармацевтичний журнал.

- 2016;1(42):74-8. *(Дисертантом особисто проведено лабораторні дослідження, матеріали до друку підготовлено у співавторстві).*
13. Палій ДВ, Яцула ОВ, Дудар АО, Коваленко ІВ. Вивчення дії антимікробних препаратів на адгезивні властивості бактерій. Вісник проблем біології і медицини. 2016;2(128):174-7. *(Дисертантом особисто проведено лабораторні дослідження, матеріали до друку підготовлено у співавторстві).*
14. Палій ГК, Назарчук ОА, Гончар ОО, Коваленко ІВ, Яцула ОВ. Дослідження фізико-хімічних, протимікробних властивостей лікарського препарату «декаметоксин». Медична та клінічна хімія. 2016;18(1):36-40. *(Дисертантом особисто проведено лабораторні дослідження, матеріали до друку підготовлено у співавторстві).*
15. Коваленко ІВ, Онуфрович ОК, Корнійчк ОП, Воробець ЗД. Вплив фторхінолонів на регуляторну систему аргіназа/NO-синтаза лімфоцитів крові. Підсумкова LXII наук.-прак. конф. присвячена 165-річчю від дня народження І.Я. Горбачевського. Здобутки клінічної та експериментальної медицини. 2019 черв.13; Тернопіль; 2019, с. 86-7.
16. Коваленко ІВ, Онуфрович ОК, Корчинська ОС, Корнійчук ОП. Реакція аргіназно-NO-синтазної системи лімфоцитів крові на дію антибіотиків фторхінолонового ряду. 6-th Ukrainian congress for cell biology with international representation. 2019 Jun 18-21; Yaremche, Ukraine; 2019, p. 57.
17. Коваленко ІВ, Онуфрович ОК, Мельник ОВ, Корчинська ОС, Корнійчук ОП. Кінетичний аналіз активності ензимів NO-синтазної системи лімфоцитів крові за дії антибіотиків фторхінолонового ряду. Medical and Clinical Chemistry. 2019;3(80):96-7.
18. Палій ДВ, Коваленко ІВ, Салдан ЮЙ, Гончар ОО. Властивості збудників інфекційних захворювань і їх чутливість до антибіотиків, антисептиків. Матеріали всеукраїнської наук.-практ. конф. за участю міжнародних спеціалістів. Актуальні питання боротьби з інфекційними захворюваннями; 2015 трав. 14-15; Харків; 2015, с. 46.

19. Гончар ОО, Коваленко ІВ. Оцінка формування резистентності у мікроорганізмів до антибіотиків і антисептиків. Матеріали VI міжнародної наук.-практ. конф. молодих вчених; 2015 трав. 15; Вінниця; 2015, с. 38.
20. Назарчук ОА, Коваленко ІВ. Аналіз ефективності сучасних антибіотиків, антисептиків щодо збудників госпітальної інфекції. Матеріали щорічної 12-ої наук.-практ. конф. з міжнародною участю приуроченої до дня науки, 75-річчя інституту, 105-річчя Г.С. Мосінга; 2015 трав. 21-22; Львів; 2015, с. 113-4.
21. Paliy D, Nazarchuk O, Gonchar O, Saldan Yu, Kovalenko IV. Microbiology study of modern antiseptic remedies. Abstracts of the International conference for young scientists. Actual problems of microbiology and biotechnology; 2015 Jun 1-4; Odesa; 2015, с. 43.
22. Nazarchuk OA, Nahaichuk VI, Saldan YuJ, Kovalenko IV, Burkot VM. The research of the qualities in non-enzymatic bacteria, isolated from patients with infectious complications. Abstracts book of the II International scientific conference. Microbiology and immunology – the development outlook in the 21st century; 2016 Apr 14-15; Kyiv; 2016, с. 79-80.
23. Зарицький ОО, Коваленко ІВ. Дослідження антисептичних препаратів у пацієнтів з інфекційними ускладненнями після травми. Матеріали Міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених. Перший крок в науку – 201; 2017 квіт. 26-28; Вінниця; 2017. с. 35.
24. Коваленко ІВ, Онуфрович ОК, Воробець ЗД. Вплив декаметоксину на активність ензимів аргіназо-NO-синтазної та антиоксидантної систем лімфоцитів крові. Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю. Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження, присвяченій 75-й річниці університету та 20-й річниці створення фармацевтичного факультету; 2020 трав. 19-20; Івано-Франківськ; 2020. с. 126-7.