

ВІДЗИВ

офіційного опонента про дисертацію

Коваленко Ірини Володимирівни

«АНТИМІКРОБНА ДІЯ ДЕКАМЕТОКСИНУ ТА ФТОРХІНОЛОНІВ І ЇХ ВПЛИВ НА АРГІНАЗА/NO-СИНТАЗНУ ТА АНТИОКСИДАНТНУ СИСТЕМИ ЛІМФОЦИТІВ КРОВІ»

представлену на здобуття наукового ступеня

доктора філософії

за спеціальністю 091 Біологія (03.00.04 – біохімія)

Пошук і впровадження в клінічну практику нових антимікробних препаратів, до яких буде залишатися висока чутливість збудників інфекційно-запальних захворювань, та вивчення біохімічних механізму їх дії на організм людини є актуальним завданням сучасної медицини. Антисептик декаметоксин та антибіотики фторхінолони широко використовуються при лікуванні бактеріальних інфекцій. Вони володіють широким спектром антимікробної дії, низькою токсичністю та добрими фармакокінетичними характеристиками. Зазначені препарати мають виражений бактерицидний вплив на стафілококи, стрептококи, дифтерійну та синьогнійну палички. Водночас інформація щодо мікробіологічних властивостей цих лікарських засобів та можливості утворення до них стійких форм мікроорганізмів не є достатньою, що ускладнює подальшу розробку і застосування декаметоксину та нових поколінь фторхінолонів в медичній практиці.

Декаметоксин і фторхінолони володіють амфіфільними властивостями, тому через ранові поверхні, слизові оболонки, шкіру тощо легко проникають в кров, а тому здатні чинити різноманітні біохімічні ефекти в тканинах і органах. Існують відомості, що фторхінолони можуть індукувати оксидативний стрес і впливати на активність ензимів антиоксидантного захисту. Для з'ясування впливу фармпрепаратів на перебіг біохімічних і фізіологічних процесів йде пошук нових біохімічних маркерів їх можливих змін. Наразі увагу дослідників привертає аргіназна та NO-синтазна системи, активність які відображає, відповідно, інтенсивність перебігу неокисного і

окисного метаболізму *L*-аргініну. Численні патологічні процеси в організмі людини супроводжуються зростанням інтенсивності перебігу аргіназної реакції та зниженням активності конститутивних NO-синтаз, натомість зростає експресія і активність індукцйбельної ізоформи NO-синтази. Вважається, що лімфоцити периферичної крові віддзеркалюють метаболічні зміни на рівні цілісного організму і тому можуть слугувати моделлю для вивчення впливу антисептиків і фторхінолонів на організм людини.

Отже, мета дисертаційної роботи **Коваленко Ірини Володимирівни**, а саме: з'ясувати особливості дії декаметоксину та фторхінолонів на грампозитивні та грамнегативні мікроорганізми та їх вплив на аргіназа/NO-синтазну та глутатіонову антиоксидантну системи лімфоцитів крові, є сучасною і актуальною. У відповідності до мети дисертанткою коректно сформульовані задачі дослідження.

Структура рукопису відповідає класичній схемі. Він включає інформацію щодо сучасного стану проблеми та ряду нез'ясованих питань, опис методичних підходів автора, наведено результати власних досліджень із відповідним обговоренням. Текст дисертаційної роботи закінчується висновками та списком використаних джерел. Розділ «Огляд літератури» містить достатньо повний аналіз сучасних даних з питань особливостей антимікробної дії декаметоксину, фторхінолонів та їх впливу на регуляторні системи клітини, характеристики та ролі аргіназної та NO-синтазної систем лімфоцитів, процесів пероксидації ліпідів та систем антиоксидантного захисту. Надана також коротка морфо-функціональна характеристика об'єкту експериментальної роботи - лімфоцитів крові.

В розділі «Матеріали і методи досліджень» подано опис сучасних адекватних поставленим задачам методів, які було використано дисертанткою, зокрема біохімії, мікробіології і інш.

В рубриці «Результати досліджень» (розділи 3-5, а також розділ 6 – «Аналіз та узагальнення результатів дослідження») авторкою викладено основні експериментальні результати з їхнім аналізом. В процесі проведення

експерименту Коваленко І.В. охарактеризована антимікробна дія декаметоксину та фторхінолонів. Декаметоксин і декасан мікробоцидно діють на стафілококи, ентерококи, кишкову паличку та *C. albicans*, проте перший препарат більш ефективно. Досліджувані антисептики суттєво знижують адгезивні властивості стафілококів та ентерококів. Дисертанткою доведено, що у стафілококів та *C. albicans* повільно формується стійкість *in vitro* до декаметоксину та декасану, причому має місце значне пригнічення біологічних властивостей бактерій, що, ймовірно, зумовлено порушенням функціональної активності їхніх ензимів. В дисертаційній роботі вперше отримані прогнози чутливості до фторхінолонів клінічних штамів *S. aureus*. Зокрема, у клінічних штамів золотистого стафілококу прогнозована чутливість до левофлоксацину має тенденцію до зростання. Також високою є чутливість *S. aureus* до моксифлоксацину. Ці дослідження свідчать про перспективність подальшого застосування досліджуваних антибіотиків у клінічній практиці.

Коваленко І.В. вивчено впливу декаметоксину та фторхінолонів на аргіназу та NO-синтазу системи лімфоцитів крові. Розраховано основні кінетичні параметри аргіназної реакції за L-аргініном в контролі та за дії досліджуваних сполук. З'ясовано, що під впливом фторхінолонів зростання активності аргінази відбувається за рахунок збільшення числа обертів ензиму на фоні зниження його спорідненості до субстрату. Встановлено, що за дії декаметоксину у лімфоцитах крові знижується активність конститутивних ізоформ NO-синтази із одночасною активацією індукцбельної ізоформи цього ензиму. У лімфоцитах крові при дії фторхінолонів інгібується синтез NO за участю як cNOS, так iNOS. Проаналізовано основні кінетичні параметри цих NO-синтазних реакцій. На основі отриманих результатів дисертантка зробила припущення, що за умови впливу фторхінолонів на лімфоцити крові порушується співвідношення NO-синтазного та аргіназного метаболізму L-аргініну. Показано, що декаметоксин активує ензими глутатіонової антиоксидантної системи лімфоцитів крові не впливаючи на вміст ТБК-

реактивних продуктів як маркерів пероксидації. Водночас, фторхінолони активують процеси пероксидації ліпідів у лімфоцитах крові. Фторхінолони не впливають на концентрацію відновленого глутатіону, однак всі вони, як і декаметоксин, приводять до зростання активностей глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази. В ряді випадків ефекти фторхінолонів прямо корелювали з поколінням антибіотиків.

Таким чином, в ході виконання дисертаційної роботи з'ясовано особливості функціонування аргіназної, NO-синтазної та антиоксидантної систем лімфоцитів крові за дії декаметоксину та фторхінолонів. Представлені в дисертації результати розширюють уявлення про біохімічні механізми дії цих широковживаних в клінічній практиці нашої країни протимікробних ліків. Отримані дані обґрунтовують розробку нових додаткових методів діагностики функціонального стану макроорганізму за активностями ензимів глутатіонової антиоксидантної та аргіназної/NO-синтазної систем. Одержані дані щодо мікробіологічних властивостей досліджуваних субстанцій важливі для подальшої розробки і застосування декаметоксину та нових поколінь фторхінолонів в лікарській практиці. Отже, **наукове і практичне значення зробленої роботи безсумнівне.**

Наведені в кінці дисертації висновки впливають з завдань і є правомірними. Рисунки демонстративні, наведена коректна статистична обробка експериментальних результатів. Використано класичні добре перевірені методи дослідження, які повністю відповідають меті та завданням роботи. Структура і написання дисертації відповідають вимогам ДАК МОН України. Результати досліджень ілюстровано 29 рисунками і 12 таблицями. Список літератури достатньо великий (221 посилань) і містить значну кількість сучасних посилань. Результати досліджень, які викладені в дисертації, опубліковані в відкритому друці у вигляді 24 публікацій, серед них 10 статей в фахових виданнях, які затверджено ДАК МОН України та 1 включена до наукометричної бази Web of Science, 10 тез доповідей у збірниках

матеріалів конференцій, конгресів та з'їздів. Привертає увагу значна кількість публікацій у фахових журналах.

Позитивною рисою роботи є комплексний підхід до вирішення наукових задач, зокрема поєднання мікробіологічних та біохімічних методів досліджень. Здійснено аналіз значної кількості біохімічних та мікробіологічних показників, використані методи математичного моделювання. Покращують сприйняття роботи короткі висновки після експериментальних підрозділів та узагальнююча схема мікробіцидних і біохімічних ефектів досліджуваних сполук. Втім, при аналізі рукопису виник **ряд зауважень і запитань.**

Зауваження:

1. В анотації і основному тексті роботи зустрічаються невдалі конструкції фраз.

2. Вираз «аргіназа/NO-синтазна» система не є вдалим. Краще було б говорити про активності аргінази та NO-синтаз. Це зауваження стосується також виразу «про-/антиоксидантна система», оскільки дисертантка вивчала лише глутатіон-залежну антиоксидантну систему і рівень МДА як показник ПОЛ.

3. Дисертантка паралельно використовує англійські і українські аббревіатури однакових сполук.

4. В кінці літературного огляду бажаний заключний розділ, який спрямовує увагу читача на невирішені питання і підкреслює актуальність подальших експериментальних досліджень.

5. Краще в таблицях (табл. 4.3) та у випадку представлення матеріалу у вигляді стовпчиків (рис. 4.1, 4.7, 4.9, 5.2, 5.3 тощо) зазначати рівні вірогідності різниці між досліджуваними параметрами за допомогою зірочок або інших позначень.

Запитання:

1. Як поєднуються протимікробні властивості фторхінолінів, які, згідно Ваших результатів та даних літератури, зумовлені, принаймні частково,

гіперпродукцією активних форм кисню та посиленням процесів ПОЛ, із зниженням активності iNOS?

2. Як дія досліджуваних лікарських препаратів на біохімічні показники лімфоцитів крові буде впливати на ефективність роботи імунної системи людини?

Наведені зауваження не знижують науково-практичну цінність проведеного дослідження. Характеризуючи роботу в цілому можна стверджувати, що вона відповідає профілю 03.00.04 - біохімія. За актуальністю досліджуваної теми, науковою новизною, теоретичною і практичною цінністю, об'ємом експериментального матеріалу, самостійного внеску автора і зроблених висновків дисертація є окремим завершеним дослідженням і відповідає вимогам п.п. 11, 13 "Порядку присудження наукових ступенів", затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 зі змінами, внесеними згідно з постановою Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015. Вважаю, що Коваленко Ірина Володимирівна заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія (03.00.04 – біохімія).

доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник,
провідний науковий співробітник
відділу біохімії м'язів

Інституту біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України  Данилович Ю.В.

24.09.20 р.

