

РЕЦЕНЗІЯ

офіційного рецензента, доктора біологічних наук Штапенко Оксани Всеволодівни, провідного наукового співробітника Інституту біології тварин НААН, на дисертацію **Зеленіної Оксани Михайлівни «Метаболічні процеси в організмі щурів за дії енрофлорсаціну, пегельованого ПЕГ-400»** на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія», що подана в спеціалізовану вчену раду ДФ 35.368.003 Інституту біології тварин НААН для разового захисту

1. Актуальність теми дисертаційного дослідження.

Актуальність дисертаційної роботи Зеленої О. М. обумовлена пошуком нових інноваційних методів створення високоефективних та безпечних антибактеріальних засобів, зокрема, за допомогою нанополімерів. Розробка таких лікарських форм антибактеріальних препаратів дозволила б підвищити ефективність, забезпечила їх стабілізацію і таргетну доставку, сповільнила деструкцію та виведення з організму. На даний час проводяться інтенсивні дослідження з пошуку нових антибіотиків, розробки комбінованої терапії для зменшення антимікробної резистентності, що є однією з найважливіших викликів сьогодення. Так само дослідження антимікробної дії модифікованого препарату та його вплив на метаболічні процеси в організмі лабораторних тварин має важливе фундаментальне значення для визначення ефективності та безпечності для організму. У зв'язку з цим актуальним було дослідження *in vitro* антимікробної дії прототипа (традиційного) та модифікованого антибіотику енрофлорсаціну, а також вплив їх внутрішньом'язового введення лабораторним тваринам на стан гемопоезу, гемостазу, резистентність, антиоксидантну систему, рівень гепатотоксичності та нефротоксичності.

Дисертаційна робота стосується важливого питання сучасної ветеринарії та медицини, що потребує пошуку ефективних антимікробних засобів та має велику перспективу практичного застосування у фармакології, що вказує на доцільність проведеного дослідження та повністю відповідає запитам сьогодення.

2. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Представлена дисертаційна робота виконана відповідно до плану наукових досліджень впродовж 2018–2022 років у лабораторії молекулярної біології та клінічної біохімії Інституту біології тварин НААН. Мікробіологічні дослідження проведено у Державному науково-дослідному контрольному інституті ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів, а гістологічні дослідження тканин – на кафедрі нормальної і патологічної морфології та судової ветеринарії Одеського державного аграрного університету (ОДАУ). Створення та синтез пегелювання антибіотика енрофлорсаціну проведено на кафедрі органічної хімії Національного університету «Львівська політехніка».

3. Ступінь обґрунтування основних положень і висновків сформульованих у дисертації, їх достовірність.

Дисертаційна робота виконана на достатньому методичному рівні з використанням мікробіологічних, гематологічних, біохімічних і гістологічних методів, а також ПАГ електрофорезу та статистичного аналізу. Вибрані методи дослідження сучасні, високоінформативні та повністю достатні для досягнення поставленої мети та визначених завдань. Встановлені результати ілюстровано якісними мікрофотографіями гістологічних препаратів, рисунками та таблицями зі статистично опрацьованими цифровими даними, що підкреслює ступінь обґрунтованості роботи, полегшує сприйняття матеріалу при порівнянні відмінностей щодо структурної організації тканин, гематологічних, біохімічних, показників антиоксидантного захисту за введення щурам традиційного та пегельованого енрофлоксацину. Для обговорення результатів дослідження використано достатню кількість сучасних літературних джерел. Аналіз отриманих результатів дозволив дисертантці сформулювати основні положення та висновки, які відповідають змісту роботи і отриманим результатам власних досліджень.

4. Наукова новизна досліджень та отриманих результатів.

У дисертаційній роботі дисертанткою одержано наступні наукові результати:

– уперше проведено пегелювання антибіотика енрофлоксацину та комплексно досліджено його вплив на музейні штами мікроорганізмів *Escherichia coli* ATCC 11105 та *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, польові штами грампозитивних (*Streptococcus epidermidis*) та грамнегативних (*Enterobacter*) мікроорганізмів. Встановлено, що пегелювання антибіотика енрофлоксацину покращує антимикробні властивості щодо музейних штамів мікроорганізмів *Escherichia coli* ATCC 11105;

– отримано нові дані дії пегельованого антибіотика енрофлоксацину на метаболічні процеси в організмі лабораторних тварин. Показано, що введення пегельованого антибіотика енрофлоксацину не спричиняє патологічних змін гемопоезу в організм щурів, не має негативного впливу на фактори згортання крові, не спричиняє запальної реакції, має незначну та короткотривалу дію на стан антиоксидантної системи організму;

– проведено порівняння пегельованого антибіотика енрофлоксацину з традиційним антибіотиком енрофлоксацином і нанополімером ПЕГ-400, які використовувалися для його створення. Встановлено низьку гепатотоксичність та нефротоксичність пегельованого антибіотика енрофлоксацину порівняно з антибіотиком енрофлоксацином у традиційній формі.

5. Теоретичне та практичне значення роботи й впровадження отриманих результатів.

Результати дисертаційного дослідження Зеленіної О. М. розширюють існуючі та доповнюють напрацювання інших науковців із обраної теми щодо пошуку інноваційних підходів для розробки нових сполук лікарських форм антибактеріальних препаратів з нанополімерами, які забезпечують високу терапевтичну ефективність та мінімізують загальну токсичну дію на організм.

Запропоновано спосіб модифікації антибіотику енрофлоксацину та показано переваги пегельованого антибіотику енрофлоксацину (антимікробна дія *in vitro* щодо еталонних музейних штамів та польових мікроорганізмів, вплив на метаболічні процеси в організмі щурів після внутрішньом'язових ін'єкцій), що має важливе фундаментальне значення для розробки високоефективних та безпечних антибактеріальних засобів для організму.

Підтвердженням практичного значення роботи є впровадження одержаних результатів в навчально-педагогічний процес кафедри фізіології, патофізіології та біохімії Одеського державного аграрного університету, кафедри органічної хімії НУ «Львівська політехніка», кафедри фізіології Одеського державного медичного університету, кафедри фармакології та токсикології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, кафедри клініко-лабораторної діагностики та фармакології і кафедри генетики, фізіології рослин та мікробіології ДВНЗ «Ужгородського національного університету».

6. Повнота викладу матеріалу дисертації в опублікованих працях.

За результатами дисертації опубліковано 12 наукових праць, з них 2 статті у періодичних наукових виданнях інших держав, що індексуються науково метричною базою Scopus (Q2) та Web of Science, 2 статті у наукових фахових виданнях України, 7 тез доповідей у матеріалах наукових міжнародних і вітчизняних конференцій, а також отримано один патент на корисну модель. Усі публікації повністю відображають основні положення та результати дисертаційного дослідження. Матеріали дисертації оприлюднено й обговорено на достатній кількості наукових конференцій.

7. Обсяг та структура роботи, оцінка змісту дисертації та її завершеність.

Дисертація характеризується єдністю змісту та відповідає вимогам щодо оформлення. Дисертаційна робота викладена на 189 сторінках друкованого тексту (основний зміст – 155 сторінок), складається із анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел літератури, який містить 270 найменувань. Дисертація проілюстрована 47 рисунками та 3 таблицями. Зміст анотації повністю відображає основні результати дослідження та висновки.

У **вступі** чітко сформульовані мета і завдання дослідження, показані наукова новизна, теоретична і практична значимість отриманих результатів, особистий внесок здобувача.

Розділ 1 присвячений аналізу сучасних літературних даних щодо стану сучасної протимікробної терапії, використання нанотехнологій для створення нових антибактеріальних препаратів, функціональний стан організму за їх введення.

У **Розділі 2** “Матеріали і методи дослідження” охарактеризовано дослідні групи та методи дослідження, наведено детальні схеми досліджень антимікробної дії новосинтезованого та традиційного антибіотиків, схема досліду на лабораторних тваринах та лабораторних досліджень крові та тканин

тварин. Надано детальний опис поетапного синтезу пегелювання антибіотика енрофлоксацину, схема новосинтезованого нанополімера та результати високоефективної рідинної хроматографії, які показала високу чистоту пегельованого антибіотика енрофлоксацину (98–99 %). Всі використані методи дозволили дисертантці комплексно та об'єктивно підійти до реалізації поставлених завдань дисертаційного дослідження.

Розділ 3 містить послідовне викладення отриманих здобувачем власних результатів дослідження *in vitro* антимікробної активності пегельованого антибіотика енрофлоксацину та традиційного антибіотика енрофлоксацину на музейних штаммах мікроорганізмів *Escherichia coli* ATCC 11105 та *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, визначено їх мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК). Встановлено, що пегелювання антибіотика енрофлоксацину не змінює рівень бактеріостатичної активності до польових штамів грам-позитивних (*Streptococcus epidermidis*) та грам-негативних (*Enterobacter*) мікроорганізмів, проте покращує його антимікробні властивості відносно *Escherichia coli*.

У **четвертому розділі** досліджено гематологічні показники щурів за введення пегельованого та традиційного антибіотиків енрофлоксацину і ПЕГ-400. Показано, що внутрішньом'язові ін'єкції антибіотика енрофлоксацину у традиційній формі, нанополімеру ПЕГ-400 та пегельованого антибіотика енрофлоксацину не спричиняють патологічних змін гемопоезу у щурів (показники кількості еритроцитів, вміст гемоглобіну, величина гематокриту та індексів червоної крові знаходилися у межах фізіологічних коливань). Було з'ясовано, що у тварин, які отримували пегельований антибіотик енрофлоксацин, протягом експерименту показники індексів червоної крові були більш стабільними, порівняно з тими, які отримували традиційний антибіотик енрофлоксацин.

У **Розділі 5** та **Розділі 6** представлені експериментальні результати щодо оцінки стану лейкограми та тромбоцитарної ланки гемограми щурів за введення пегельованого та традиційного антибіотика енрофлоксацину і ПЕГ-400. Автором з'ясовано, що ін'єкції досліджуваних речовин призводять до зміни співвідношення різних видів лейкоцитів у крові щурів протягом перших семи діб та зміною показників кількості лейкоцитів та лейкограми на 14-ту та 21-шу доби до значень контрольної групи. Водночас, ін'єкції пегельованого антибіотика енрофлоксацину в організм не викликають зміни окремих показників тромбоцитограми.

Розділ 7 присвячений вивченню стану антиоксидантної системи організму щурів за впливу досліджуваних сполук. Встановлено, що введення тваринам пегельованого антибіотика енрофлоксацину не спричиняє надмірного утворення продуктів пероксидного окиснення ліпідів та не викликає негативного впливу на антиоксидантний стан організму.

У **Розділах 8** та **9** наведено результати досліджень функціонального стану і структури печінки та нирок у щурів за введення пегельованого та традиційного антибіотика енрофлоксацину і ПЕГ-400. Дисертанткою на основі результатів біохімічних досліджень крові тварин і гістологічного аналізу тканин печінки та нирок встановлено, що чотирикратні внутрішньом'язові ін'єкції тваринам пегельованого антибіотика енрофлоксацину мають

короткотривалий та незначний негативний вплив на організм, порівняно з введенням традиційної форми антибіотика енрофлоксацину, за впливу якого спостерігалась гепатотоксичність, нефротоксичність.

У **Розділі 10** дисертантка провела аналіз та узагальнила отримані результати досліджень, порівняла їх з даними літературних джерел та підсумувала результати власних наукових досліджень.

Всі розділи дисертаційної роботи закінчуються проміжними висновками, які коротко підсумовують викладений матеріал.

За результатами роботи зроблено 11 висновків, які відповідають отриманим результатам. Список використаних джерел літератури містить 270 публікацій, оформлених згідно вимог.

8. Дані про відсутність текстових запозичень та порушень академічної доброчесності.

При рецензуванні дисертаційної роботи не виявлено ознак академічного плагіату, фабрикації, фальсифікації, текстових запозичень чи інших порушень. Усі ідеї та положення, викладені у дисертаційній роботі, належить автору.

9. Зауваження і побажання щодо змісту та оформлення дисертації.

Разом із загальною позитивною оцінкою дисертаційної роботи необхідно відзначити деякі зауваження та побажання:

1. Необхідно коректно вказати дозу внутрішньом'язового введення досліджуваного антибіотика – у роботі вказано об'ємом внутрішньом'язового введення енрофлоксацину 0,03 мл на 200 г маси щура.

2. Для вивчення антимікробної активності новосинтезованого пегельованого антибіотика енрофлоксацину та традиційної субстанції антибіотика енрофлоксацину проведено дослідження на музейних еталонних штаммах мікроорганізмів, а також і на польових грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмах *Streptococcus epidermidis* і *Enterobacter*, виділених з носових виділень телят, хворих на бронхопневмонію. Як ідентифікували виділені ізоляти мікроорганізмів, чи проводили їх таксономічну характеристику, щоб стверджувати що це саме *Streptococcus epidermidis* і *Enterobacter*?

3. У Розділі 3 при дослідженні МІК досліджуваних форм антибіотика енрофлоксацину для *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis* і *Enterobacter* доцільно вказати кількість спостережень (n).

4. Доцільно було б у розділі 5 (Таблиця 5.1) у тексті роботи не дублювати цифрові табличні дані, а використати при описі отриманих результатів відсоткове співвідношення або вказати зміну показника у разях.

5. На мою думку, для кращого сприйняття роботи доречно частину результатів досліджень подати у вигляді діаграм. Це б урізноманітило представлення значної кількості отриманих здобувачем даних та покращило візуальне сприйняття.

6. Висновки варто допрацювати і скоротити.

7. У тексті дисертації зустрічаються технічні помилки, невдалі вирази, поодинокі граматичні та стилістичні помилки.

Зауваження, які виникли при аналізі дисертації мають переважно рекомендаційний характер і не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи Зелениної О. М.

10. Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Зелениної Оксани Михайлівни «**Метаболічні процеси в організмі щурів за дії енрофлораксацину, пегельованого ПЕГ-400**», яка подана на здобуття ступеня доктора філософії, є завершеною, актуальною науковою працею. Дисертація виконана на достатньому науково-методичному рівні, сформульовані в роботі наукові положення та висновки є достовірними та обґрунтованими. Визначену мету дослідження досягнуто, а основні завдання вирішено. Опубліковані дисертанткою наукові праці повною мірою відображають основні результати дослідження, наукову новизну, практичне значення та особистий внесок здобувача. За обсягом проведених досліджень, науковою новизною, практичною цінністю досліджень та висновків, змістом та оформленням дисертаційна робота відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. №44, а здобувач – **Зеленина Оксана Михайлівна**, заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія», галузь знань 09 «Біологія».

Офіційний рецензент:

провідний науковий співробітник
лабораторії біотехнології відтворення
Інституту біології тварин НААН
доктор біологічних наук, старший
науковий співробітник

Оксана ШТАПЕНКО

Підпис Штапенко О. В. засвідчую
Вчений секретар Інституту біології
тварин НААН, к. с-г. н.



Оксана СМОЛЯНІНОВА