

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу **Зеленіної Оксани Михайлівни** на тему: «Метаболічні процеси в організмі щурів за дії енрофлоксацину, пегельованого пег-400», представлену до захисту в разову спеціалізовану вчену раду ДФ 35.368.003 Інституту біології тварин НААН на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 01 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Актуальність обраної теми. Нові технології створення лікарських препаратів направлені на забезпечення високої терапевтичної ефективності та безпечності для організму. Зокрема, нові антибіотики повинні мати цілеспрямовану дію на відповідні бактеріальні клітини, добре з'єднання з носієм для транспортування в уражені ділянки, нечутливість до дії захисних ензимів клітин мікроорганізмів, забезпечуючи зниження антибіотикорезистентності. Введення в організм антибактеріальних засобів спричиняє побічні дії, які характеризуються ураженням життєво важливих органів і систем. Антибіотики стимулюють клітинне дихання, сприяючи розвиток оксидативного стресу, вони мають високу гепатотоксичність та нефротоксичність. Тому, розроблення антибактеріальних препаратів, з'єднаних з наноносіями, має актуальне значення для підвищення ефективності лікування хворих, оскільки забезпечується цільова доставка ліків, а також підвищується їх біосумісність, мінімізується побічна дія, знижується негативний вплив на організм. Полімерні наноносії є одними із найперспективніших, оскільки вони володіють цілою низкою специфічних фізико-хімічних і біологічних властивостей, які забезпечують їхню біодеградабельність, можливість додаткової функціоналізації спеціальними біоелементами, необхідними для доставки препаратів в уражені клітини. Пегелювання антибіотиків є прогресивним напрямом створення нових антимікробних препаратів. Проте важливим є широке дослідження новостворених препаратів, зокрема вивчення не лише їх антибактеріальної дії, а й вплив на організм.

Зв'язок теми дисертації з державними та галузевими програмами.

Дисертаційна робота була фрагментом Програми наукових досліджень НААН 38 (ПНД НААН 38) «Наукове забезпечення контролю епізоотичного благополуччя тваринництва та систем біологічної і продовольчої безпеки України» (2016-2020 рр.), у якій виконувалося фундаментальне завдання за № 38.01.06.05 Ф «Розроблення методології та теоретичних основ лікування і профілактики пріонних інфекцій шляхом створення препаратів нового покоління з використанням нанотехнологій» (Державна реєстрація за № 0117U001417) і ПНД НААН 34 «Забезпечення стабільного епізоотичного благополуччя та продовольчої безпеки України у контексті реалізації стратегії МЕБ-ВООЗ-ФАО «Єдине здоров'я» (2021-2023 рр.), у якій виконувалося прикладне завдання за № 34.01.05.02 П «Вплив препаратів, створених з використанням нанобіополімерних транспортерів-контейнерів, на організм та продуктивність тварин», № ДР 0121U108681.

Наукова новизна та достовірність одержаних результатів. Авторка дисертаційної роботи, спільно з вченими-хіміками з Національного університету «Львівська політехніка», провела пегелювання антибіотика енрофлоксацину та всесторонньо вивчила його властивості. У роботі досліджено протимікробну дію новосинтезованого пегельованого антибіотика енрофлоксацину на грампозитивні та грамнегативні мікроорганізми і проведено його порівняння з традиційним антибіотиком енрофлоксацином. Вперше було досліджено мінімальну інгібуючу концентрацію пегельованого антибіотика енрофлоксацину на музейні штами мікроорганізмів *Escherichia coli* ATCC 11105 та *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, також на польові - *Staphylococcus epidermidis* та *Enterobacter*. Зеленіна О.М. основну увагу у своїй роботі присвятила дії пегельованого антибіотика енрофлоксацину на організм лабораторних тварин (щурів). Вперше було досліджено вплив новосинтезованого пегельованого антибіотика енрофлоксацину на гемопоез, гемостаз, кількість лейкоцитів та лейкограму, антиоксидантний захист організму, гепатотоксичність та нефротоксичність. Порівняно дію пегельованого антибіотика

енрофлоксацину з речовинами, які використовували для його створення, - полімером ПЕГ-400 та традиційним антибіотиком енрофлоксацином. Показано, що введення в організм щурів пегельованого антибіотика енрофлоксацину не спричиняє патологічних змін гемопоезу, не має негативного впливу на фактори згортання крові, не спричиняє запальної реакції, має незначну та короткотривалу дію на стан антиоксидантної системи організму, низьку гепатотоксичність та нефротоксичність, порівняно з антибіотиком енрофлоксацином у традиційній формі. Після внутрішньом'язових ін'єкцій пегельованого антибіотика енрофлоксацину незначні зміни показників крові щурів можуть спостерігатися лише у перші доби. Водночас, за введення традиційної субстанції антибіотика енрофлоксацину зміни були суттєвішими та реєструвалися довше після останнього введення. Зокрема, дослідження гепатотоксичності та нефротоксичності показали функціональні й структурні зміни у печінці та нирках за внутрішньом'язової ін'єкції пегельованого антибіотика енрофлоксацину лише протягом перших семи діб після останнього введення, а за ін'єкції традиційної форми антибіотика енрофлоксацину - протягом 21 доби.

Слід відзначити, що авторка дисертації провела дослідження на достатній кількості поголів'ї тварин, при аналізі крові використано високоінформативні методи досліджень на автоматичних гематологічних та біохімічних лабораторних аналізаторах, що свідчить про вірогідність отриманих результатів.

Практична цінність одержаних результатів. За результатами досліджень, які провела дисертантка, встановлено, що пегельовання антибіотика енрофлоксацину покращує його антимікробну дію відносно музейних штамів мікроорганізмів *Escherichia coli* ATCC 11105. Пегельований антибіотик енрофлоксацин, введений в організм тварин, має короткотривалу та незначну негативну дію на організм тварин. Зокрема, чотириразові внутрішньом'язові ін'єкції пегельованого антибіотика енрофлоксацину тваринам викликають малу негативну дію на гемопоез, гемостаз, резистентність, антиоксидантну систему, спричиняють

незначні та короткотривалі ураження клітин печінки та нирок, порівняно з введенням традиційної форми антибіотика енрофлоксацину. Технологія пегелювання антибіотика енрофлоксацину, яка проведена спільно з вченими НУ «Львівська політехніка», дозволяє отримати препарат чистотою 9899%, покращити його антимікробні властивості, біосумісність й знизити токсичність на організм тварин, що свідчить про перспективність його рекомендації для фармацевтичної промисловості України.

Результати, отримані у дисертації, впроваджено 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 «Ужгородський національний університет».

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, які викладені у дисертаційній роботі. Усі узагальнення та висновки, наведені у дисертаційній роботі, ґрунтуються на матеріалах власних досліджень і відображають закономірності, які були виявлені шляхом аналізу отриманих авторкою наукових результатів. Робота виконана на високому методичному рівні із застосуванням сучасних методів досліджень, які є адекватними до поставленої мети та визначених завдань.

Усі отримані результати опрацьовані статистично за допомогою відповідних методів математичної статистики. Ретельний аналіз отриманих результатів дав змогу дисертантці їх узагальнити та зробити висновки, як до окремих розділів, так й до дисертаційної роботи в цілому. Усі висновки відповідають науковим результатам та змісту роботи.

Аналіз дисертаційної роботи. Дисертаційна робота складається із анотації,

вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів досліджень, аналізу й узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел літератури. Дисертацію викладено на 189 сторінках комп'ютерного тексту (основний зміст 155 сторінок), проілюстровано 47 рисунками та 3 таблицями. Список використаних джерел містить 270 найменувань.

Загальна характеристика роботи. Дисертація містить усі розділи, передбачені вимогами до оформлення дисертації згідно з Наказом МОН України «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» №40 від 12.01 2017 року, а також у відповідності з Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44.

У анотації детально викладені основні результати наукових досліджень, які отримані при виконанні дисертаційної роботи, а також подано власні публікації.

У розділі вступ подано актуальність вибраних досліджень, взявши до уваги основні світові публікації. Вказано на необхідності розвитку нових технологій, які дозволяють створити вискоєфективні та безпечні антибактеріальні засоби для організму, зокрема пегелювання. Подано мету і завдання роботи, наукову новизну та практичне значення одержаних результатів, особистий внесок здобувача, апробація та публікації отриманих результатів, структура дисертації.

У розділі «Огляд літератури» є 5 підрозділів, у яких автор приводить і узагальнює дані світової літератури. Описано стан сучасної протимікробної терапії, антибактеріальні властивості антибіотика енрофлоксацину. Висвітлено ефективність використання поліетиленгліколю (ПЕГ) для створенні антимікробних препаратів. Показано токсичність антибіотиків та їх вплив на функціональний стан організму. У кінці даного розділу автор робить висновок з опрацьованих джерел літератури приводить узагальнення та обґрунтування вибору напрямів власних досліджень.

Розділ «Матеріали і методи дослідження» містить об'єкти та передумови, напрями, схему, матеріал, обладнання та методи досліджень. Дослідження

проведені на достатній кількості експериментального матеріалу. Використані методи досліджень проводились на сучасному обладнанні, мають високий науковий та методичний рівень, відповідають меті та завданням роботи.

Розділи власних досліджень.

Розділ «Антимікробна активність пегельованого та традиційного антибіотика енрофлосацину» містить 2 підрозділи. У першому підрозділі визначено мінімальну інгібуючу концентрацію пегельованого та традиційного антибіотиків енрофлосацину до еталонних музейних штамів мікроорганізмів *Escherichia coli* ATCC 11105 та *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P. Встановлено, що МІК на мікроорганізми *Escherichia coli* ATCC 11105 за застосування пегельованого антибіотика енрофлосацину є удвічі нижчою, порівняно зі застосуванням традиційного антибіотика енрофлосацину. Визначення МІК на музейних штамів мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P не вказувало різниці між енрофлосацином у традиційній та пегельованій формах. У другому підрозділі досліджували антимікробну дію пегельованого та традиційного антибіотиків енрофлосацину на польові штами мікроорганізмів *Staphylococcus epidermidis* та *Enterobacter*. Авторка вказує на відсутність різниці у МІК на дані мікроорганізми за дії досліджених антибіотиків.

Розділ «Гематологічні показники щурів за введення пегельованого та традиційного антибіотика енрофлосацину і ПЕГ-400» містить 4 підрозділи та 4 підпідрозділи. Було встановлено, що внутрішньом'язові ін'єкції в організм щурів антибіотика енрофлосацину у традиційній формі, ПЕГ-400 та пегельованого антибіотика енрофлосацину не спричиняють патологічних змін гемопоезу, оскільки показники кількості еритроцитів та вмісту гемоглобіну, а також величина гематокриту та індексів червоної крові знаходилися у переважної більшості тварин у межах фізіологічних коливань.

Розділ «Кількість лейкоцитів, лейкограма та швидкість осідання еритроцитів крові щурів за введення пегельованого та традиційного антибіотика

енрофлоксацину і ПЕГ-400» містить 2 підрозділи. Дисертантка встановила, що внутрішньом'язове введення щурам ПЕГ-400, антибіотика енрофлоксацину у традиційній формі та пегельованого антибіотика енрофлоксацину характеризується зниженням числа лейкоцитів через сім діб після останньої ін'єкції. Однак показники не виходили за межі фізіологічних коливань. У наступні дослідження крові щурів показники лейкоцитів та лейкограми мало відрізнялися від контрольних тварин.

У розділі *«Кількість тромбоцитів крові щурів та їх індекси за введення пегельованого та традиційного антибіотика енрофлоксацину і ПЕГ-400»* міститься 2 підрозділи та 3 підпідрозділи. Показано, що введення щурам пегельованого антибіотика енрофлоксацину менше впливало на фактори згортання крові, порівняно з традиційною формою антибіотика енрофлоксацину, який на 7-му добу після останніх ін'єкцій знижував загальну кількість тромбоцитів.

У розділі *«Стан антиоксидантної системи у крові щурів за введення пегельованого та традиційного антибіотика енрофлоксацину і ПЕГ-400»* міститься 4 підрозділи. Авторка встановила, що пегелювання антибіотика енрофлоксацину призводить до стабілізації у крові вмісту ТБК-активних продуктів, а також активності ензимів антиоксидантної системи - СОД, каталази та ГПО, що слід розцінювати як гальмування процесів ПОЛ і фізіологічність перебігу антиоксидантного захисту організму.

У розділі *«Функціональний стан і структура печінки у щурів за введення пегельованого та традиційного антибіотика енрофлоксацину і ПЕГ-400»* міститься 14 підрозділів. У даному розділі було вивчено гепатотоксичний вплив пегельованого антибіотика енрофлоксацину і порівняно з традиційним антибіотиком енрофлоксацином та полімером ПЕГ-400, які використовували для створення пегельованої форми. Результати біохімічних досліджень крові та гістологічний аналіз тканин печінки піддослідних тварин вказували, що пегелювання антибіотика енрофлоксацину призводить до зниження гепатотоксичності та має меншу тривалість негативної дії на гепатоцити, порівняно

з традиційною субстанцією антибіотика енрофлорсацину,.

У розділі «Функціональний стан і структура нирок у щурів за введення пегельованого та традиційного антибіотика енрофлорсацину і ПЕГ-400» містяться 2 підрозділи. Авторка дисертації визначала вміст креатиніну у сироватці крові та досліджувала гістологічну структуру тканин нирок. Результати досліджень показали, що пегелювання антибіотика енрофлорсацину веде до зменшення нефротоксичності, а тривалість негативного впливу є значно коротшою, порівняно з традиційним антибіотиком енрофлорсацином.

У розділі «Обговорення результатів власних досліджень» проведено глибокий, всебічний аналіз сучасної наукової літератури і порівняно та обговорено з результатами власних досліджень. Цей розділ написаний лаконічно і професійно та характеризує дисертантку як підготовленого й високоерудованого науковця.

Висновки дисертації ґрунтуються на результатах експериментальних досліджень, містять цифровий матеріал.

Відсутність (наявність) порушень академічного плагіату За результатами перевірки та аналізу матеріалів дисертації Зелениної О.М. «Метаболічні процеси в організмі щурів за дії енрофлорсацину, пегельованого пег-400», не було виявлено ознак академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації та фальсифікації.

Відповідність дисертації встановленим вимогам. Робота виконана на належному методичному рівні та 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 № 44 від 12 січня 2022 року та Наказу МОН України «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» №40 від 12.01 2017 року.

Повнота викладення основних положень дисертації в опублікованих працях. Основні положення дисертаційної роботи опубліковано у 12 працях, зокрема 4 статтях, з яких 2 у фахових наукових виданнях України, що входять до

категорії Б, 1 - у зарубіжному виданні, яке включене до міжнародної бази даних «Web of Science» та 1 - у зарубіжному виданні, яке включене до міжнародної бази даних Scopus (Q2), а також у 7 тезах доповідей матеріалів наукових міжнародних і вітчизняних конференцій та конгресів. Авторкою отримано один патент на корисну модель.

Зауваження та запитання, які виникли при аналізі дисертаційної роботи.

1. Як проведено пегельовання антибіотику енрофлоксацину, хто автор і чи отримано патент на препарат?
2. Чим відрізняються поліетиленгліколь, який використовували Ви і той, що застосовували інші дослідники при створенні препаратів?
3. Чому відсутня різниця при дослідженні антимікробної активності двох антибіотиків до польових штамів мікроорганізмів?
4. Чи встановлена Вами різниця негативної дії антибіотику енрофлоксацину на організм тварин з тою, яку отримували інші дослідники?
5. Чому пегельований антибіотик енрофлоксацин має нижчу токсичність на організм порівняно з традиційним?

ВИСНОВОК

Дисертаційна робота Зеленої Оксани Михайлівни «Метаболічні процеси в організмі щурів за дії енрофлоксацину, пегельованого пег-400» є закінченою науковою працею, виконана автором на високому методичному рівні, достатньому об'ємі матеріалу, має наукову новизну, дослідження доповнюють ряд теоретичних

положень і можуть бути використані на практиці, дисертація добре оформлена, написана грамотно, легко сприймається. Отримані результати є достовірними, на їх основі сформульовані висновки.

Вважаю, що дисертаційна робота Зелениної О.М. за формою, об'ємом та змістом відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія».

Офіційний опонент:

проректор з наукової роботи, професор
кафедри функціональної і лабораторної
діагностики Тернопільського національного
медичного університету імені І.Я.

І. М. Кліщ



завіряю
І. М. Кліщ
проректор з кадрових питань
Тернопільського національного
медичного університету

Горбачевського МОЗ України, заслужений
діяч науки і техніки України, доктор
біологічних наук, професор