

ВІДГУК
ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

професорки кафедри генетики, фізіології рослин і мікробіології ДВНЗ "Ужгородський національний університет", докторки біологічних наук,

Кривцової Марини Валеріївни

на дисертаційну роботу

Руминської Тетяни Миколаївни *«Протизапальні й протимікробні властивості похідного 4-тіазолідинону та нестероїдного протизапального препарату та їхній вплив на мікроекологічний та біохімічний статус лабораторних тварин»* поданої до Разової Спеціалізованої вченої ради ДФ 35.368.008 Інституту біології тварин НААН на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань «09-Біологія» за спеціальністю «091 Біологія».

Актуальність теми дисертаційної роботи. Запалення є ключовим фізіологічним механізмом захисту від інфекцій та відіграє важливу роль у розвитку патологічних процесів через активацію певних медіаторів запалення. Нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП), що широко використовуються для лікування різних захворювань, можуть викликати ряд побічних ефектів (ульцерогенна дія на слизові оболонки шлунково-кишкового тракту, яка включає НПЗП-гастропатію та розвиток виразкової хвороби дванадцятипалої кишки та шлунку). Тривале використання НПЗП може призвести до кишкового дисбіозу, що негативно впливає на функціонування гепатобіліарної, серцево-судинної, видільної та дихальної систем, а також може спричинювати нейропсихологічні порушення. Певні типи кишкового дисбіозу асоціюються з підвищеним ризиком розвитку колоректального раку.

У зв'язку з численними побічними ефектами сучасних НПЗП активно ведеться пошук нових протизапальних засобів, позбавлених цих недоліків. Один із перспективних напрямків — розробка нових протизапальних молекул серед похідних 4-тіазолідинону, які демонструють не лише потужні протизапальні

властивості, але й активність щодо бактерій та грибів. Ці сполуки мають структурну різноманітність та легко піддаються модифікаціям, що робить їх перспективним класом для створення нових лікарських препаратів.

Важливо розробляти нові лікарські засоби, які не тільки б забезпечували ефективне лікування, але й були безпечними для пацієнтів, знижуючи ризик ускладнень та побічних реакцій. У зв'язку з цим, тема дисертаційної роботи «Протизапальні й протимікробні властивості похідного 4-тіазолідинону та нестероїдного протизапального препарату та їхній вплив на мікроекологічний та біохімічний статус лабораторних тварин» є надзвичайно актуальною, а проведене дослідження має значну науково-теоретичну та практичну цінність.

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

Дослідження, які входять до дисертаційної роботи були проведені згідно плану науково-дослідної роботи лабораторії обміну речовин С.З. Гжицького, Інституту біології тварин НААН відповідно до тематики ДР№0121U108826 «Дослідити вплив екологічних і кліматичних чинників на обмін речовин у тварин та розробити методи попередження метаболічних порушень» та було частково профінансоване Міністерством Охорони Здоров'я України — «Дослідження протимікробної та протизапальної активностей гетероциклічних та сполук природнього походження» [грант номер: 0123U100153]. Дисертаційна робота виконувалася у співпраці з кафедрою мікробіології та кафедрою фармацевтичної органічної і біоорганічної хімії ЛНМУ імені Данила Галицького.

Наукова новизна дослідження та отриманих результатів.

Вперше дисертанткою було досліджено та охарактеризовано біологічну активність нової сполуки 4-тіазолідинону Les-6490 (гібрид піразол-4-тіазолідинону). Встановлено, що ця сполука проявляє антимікробну активність проти стандартних та клінічних штамів окремих видів мікроорганізмів.

Також *вперше* було досліджено вплив новосинтезованої сполуки та нестероїдного протизапального препарату (НПЗП) на моделі запального процесу у щурів, індукованого ад'ювантом Фрейнда. Аналіз мікробного вмісту тонкої та товстої кишки проводився класичними мікробіологічними методами та зіставлявся

з результатами метагеномного секвенування 16s рРНК. Здійснено аналіз таксонів, альфа-різноманіття, бета-різноманіття, головних координат і компонентів, неметричне багатовимірне шкалювання, метод парних груп з арифметичним середнім, аналіз різниці спільнот, аналіз варіації між групами та метастатичний аналіз.

Встановлено, що похідний 4-тіазолідинону значно впливає на збільшення кількісного рівня мікроорганізмів, метаболіти яких можуть мати протизапальні властивості (*Blautia*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Succivibionaceae*, *Coriobacteriales*) та відновлення еубіотичного складу кишкової мікробіоти, порушеної внаслідок індукованого запального процесу.

Сполука Les-6490 проявляє потенційну пребіотичну активність із непрямим протизапальним ефектом, впливаючи на склад мікробіомів кишкового каналу щурів подібно до німесуліді, але з більш вираженим впливом на окремі таксони мікробіоти. Досліджено вплив сполуки на показники запального процесу, маркери ліпідного та фосфорно-кальцієвого обміну, а також визначено маркери гепатотоксичності в умовах дії досліджуваної сполуки та препарату порівняння (німесуліді).

Теоретичне значення отриманих результатів полягає у суттєвому

Теоретичне значення отриманих результатів полягає у суттєвому доповненні даних щодо мікробіому організму теплокровних та, зокрема, вплив протизапальних нестероїдних препаратів на кишкову мікробіоти.

Практичне значення одержаних результатів

Отримані результати наукового дослідження значно розширюють знання про мікроекологію кишечнику та інтестинальну мікробіоту завдяки використанню метагеномного аналізу. Властивості новосинтезованої сполуки 4-тіазолідинону Les-6490 вказують на її потенціал як протизапальної та мікроекологічно значущої сполуки з непрямою протизапальною дією. Це відкриває нові перспективи для подальших досліджень та можливість впровадження у фармацевтичну промисловість України та практичну фармакотерапію.

Результати дослідження впроваджені у навчально-педагогічний процес кафедри мікробіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, що сприяє покращенню рівня підготовки фахівців у галузі мікробіології та фармакології.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації; їх достовірність.

Дисертаційна робота Руминської Т.М. виконана на високому методологічному рівні та представляє собою актуальне завершене наукове дослідження. Авторка застосувала сучасні методи дослідження, збирила та опрацювала значний обсяг фактичного матеріалу, що дозволило досягти поставленої мети, виконати завдання, дійти обґрунтованих висновків і розробити практичні рекомендації. Наукові положення та висновки дисертації, що базуються на зібраному фактичному матеріалі, є добре обґрунтованими та узагальненими. Вони відповідають меті та завданням дослідження і мають значну науково-теоретичну та практичну

Повнота викладу матеріалу дисертації в опублікованих працях.

Результати досліджень опубліковані в 11 наукових працях, з яких 4 статті у наукових фахових виданнях (2 у виданнях, що входять до наукометричної бази Scopus (Q1 і Q4), 7 тез у матеріалах наукових конференцій, конгресу і форуму. Усі наукові праці повністю відображають результати й основні положення дисертації Руминської Т. М.

Апробація результатів дисертації.

Матеріали дисертаційної роботи оприлюднено й обговорено на міжнародних і всеукраїнських наукових конференціях:

- XXI Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених присвяченої 100-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Василя Юхимовича ШАВКУНА, Львів 2023 р.;
- ESCMID-ASM Joint Conference on Drug Development to Meet the Challenge of Antimicrobial Resistance, Dublin, Ireland (4-7 October 2022);

- XIX Конгресі Світової Федерації Українських Лікарських Товариств (СФУЛТ), Ужгород (27–29.10.2022);
- The 1st Ukrainian-Polish Scientific Forum "AGROBIOPERSPECTIVES" in Lviv (15-16 вересня 2021 р).
- Науково-практична конференція присвяченої пам'яті відомого вченого-мікробіолога, доктора медичних наук, професора І.Л. Дикого, Харків (19 березня 2020 р.);
- XXIV міжнародної науково-практичної інтернет конференції elconf.com.ua Новини науки XXI століття. м. Вінниця 2019.
- Звітні конференції аспірантів ІБТ НААН (Львів 2020, 2021, 2022, 2023, 2024 рр.).

Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності.

Рукопис дисертаційної роботи Руминської Т.М. «Протизапальні й протимікробні властивості похідного 4- тiazолідинону та нестероїдного протизапального препарату та їхній вплив на мікроекологічний та біохімічний статус лабораторних тварин» був перевірений програмним забезпеченням загальна унікальність (оригінальність) авторських даних у представленій роботі відповідає допороговим значенням подібності символів, слів, словосполучень, речень та свідчить про оригінальність академічного тексту. Порушень академічної доброчесності (академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації) при детальному розгляді дисертаційної роботи не виявлено (Витяг з протоколу № 2 від 09.05.2024 засідання комісії з питань академічної доброчесності та тики Інституту біології тварин НААН.

Дисертація є самостійним науковим дослідженням автора. Вибір напряму роботи, формулювання мети та завдань дослідження були здійснені у співпраці з науковими керівниками.

Оцінка структури, змісту та форми дисертації.

Дисертація характеризується єдністю змісту та відповідає вимогам щодо оформлення. Дисертація написана українською мовою, містить 214 сторінок друкованого тексту. Вона складається зі вступу, огляду літератури, п'яти розділів

власних досліджень, висновків, списку використаної літератури та додатків. Робота ілюстрована 17 таблицями та 36 рисунками. У списку літератури зазначено 290 джерел.

В *анотації*, поданій українською та англійською мовами, коротко викладено основні наукові положення та результати досліджень.

У *вступі* розкрито актуальність теми, чітко сформульовані мета і завдання дослідження визначено об'єкт, предмет та методи, наведено новизну та практичне значення отриманих результатів, інформацію про особистий внесок здобувачки, результати апробації та публікації за темою дисертації, а також обсяг і структуру роботи.

Мета роботи: Порівняльний аналіз протимікробних і протизапальних властивостей та альтераційної дії на кишковий мікробіом новосинтезованого похідного 4-тіазолідинону й відомих нестероїдних протизапальних препаратів на моделі індукованого запального процесу у тварин.

Завдання:

- Дослідити протимікробну дію *in vitro* новосинтезованої сполуки на основі похідних 4-тіазолідинонів з виявленою біологічною та фармакотерапевтичною активністю, обґрунтувати ймовірний механізм дії та сформулювати прогностичні характеристики (*in silico*).
- Оцінити протизапальний ефект новосинтезованого похідного 4- тіазолідинонів при запальній реакції у тварин, змодельованій ад'ювантом Фрейнда і порівняти одержані дані з результатами дослідження протизапальної дії НПЗП німесулід. Провести порівняння протизапальної дії новосинтезованої сполуки та НПЗП (німесулід) *in vivo*.
- Дослідити вплив нового похідного 4-тіазолідинону та НПЗП на фізіологічні зміни організму лабораторних тварин за гематологічними та біохімічними показниками крові.
- Вивчити вплив похідного 4-тіазолідинону та НПЗП на альтерацію кишкового мікробіому тварин із застосування метагеномних досліджень.

Розділ 1 «Огляд літератури» містить 6 підрозділів. Вказаний розділ написаний здобувачкою грамотно. Інформація, що подана в розділі, структурована та викладена в логічній послідовності. Варто відмітити високий ступінь опрацювання наукових праць вітчизняних та зарубіжних дослідників. Розділ містить свіжі наукові дані щодо впливу нестероїдних протизапальних препаратів на мікробіоту організму, а також вплив мікробіоти на фізіологічні та патологічні процеси в організмі. Описано дослідження біологічних ефектів новосинтезованих тіазолідинонів та їх можливий вплив на мікроекологію. Дисертантка чітко обґрунтувала подальшу структуру роботи та потребу у проведенні подальших дослідженнях.

Розділ завершується коротким узагальнюючим підсумком, в якому фактично обґрунтовується доцільність проведення даного дисертаційного дослідження. Матеріал представлений логічно та послідовно.

Розділ 2 «Матеріали та методи дослідження» містить один підрозділ. Дисертаційна робота виконувалась впродовж 2020-2024 рр. у лабораторії обміну речовин імені С. З. Гжицького Інституту біології тварин НААН у співпраці з кафедрою мікробіології й кафедрою фармацевтичної органічної і біоорганічної хімії ЛНМУ імені Данила Галицького та Експериментальним центром Науково-дослідного інституту епідеміології та гігієни ЛНМУ імені Данила Галицького. У даному розділі здобувачка

У цьому розділі авторка характеризує дослідження, об'єкти, передумови, напрями, схему, матеріали, обладнання та методи, що використовувалися. Дослідження проводилися на достатній кількості експериментального матеріалу. Використані методи досліджень виконувалися на сучасному обладнанні, відповідали високому науковому та методичному рівню, а також цілям і завданням роботи. Статистична обробка даних здійснювалася з використанням сучасного програмного забезпечення, забезпечуючи коректність і доказовість результатів.

Представлений у розділі методологічний апарат є достатнім для проведення запланованого комплексу досліджень на високому науковому рівні. Матеріал викладено зрозуміло, розділ чітко структурований.

Розділ 3 «Мікробіологічні дослідження» містить три підрозділи. У підрозділі 3.1 вивчено *in vitro* антимикробну дію похідних 4-тіазолідинонів та обрано сполуку-лідера, яку використовували у наступних дослідженнях. Описано результати антибактерійної та протигрибкової дії сполуки Les-6490.

У підрозділі 3.2 досліджено вплив сполуки лідера, похідного 4-тіазолідинону (Les-6490), на утворення бактерійних біоплівки, а у підрозділі 3.3 вивчено дію сполуки Les-6490 та нестероїдного протизапального препарату - німесуліду на мікрофлору кишківника щурів в умовах індукованого запалення. На підставі даних результатів було сформульовано висновки.

Розділ ілюстровано 2 рисунками, містить 3 таблиці, виклад матеріалу логічний та зрозумілий.

Зауваження до розділу.

1. Назва підрозділу невдала. Назву було б доцільно сформулювати більш конкретно та розкрити, на що спрямовані мікробіологічні дослідження.
2. Рисунок 3.1 є неінформативним, оскільки використання даного методу посіву не дає можливості оцінити кількість бактерій у збірці.

Розділ 4. «Гематологічні та біохімічні параметри крові щурів. Токсичність сполуки» складається з 3 підрозділів.

У цьому розділі дисертантка описує дослідження сполуки Les-6490 на гостру токсичність та встановлює що, новосинтезована сполука відноситься до 4 класу токсичності та може бути використана в експериментальній роботі.

Авторкою представлено результати, отримані при вивченні впливу досліджуваних речовин (новосинтезованої сполуки та НПЗП) на гематологічні параметри крові та на окремі показники ліпідного, мінерального та протеїнового метаболізму у крові щурів. Розділ містить 1 рисунок, 5 таблиць, матеріал викладено зрозуміло, розділ чітко структурований.

Розділ 5. «Дослідження розвитку запального процесу індукованого ад'ювантом Фрейнда». У даному розділі викладено результати спостереження дії сполуки Les-6490 та німесуліду в умовах запалення, яке було викликане ад'ювантом Фрейнда. Було встановлено, що новосинтезована сполука викликала

сповільнення розвитку та інтенсивності проявів запального процесу. Розділ ілюстровано 1 рисунком, 2 фотографіями та містить 2 таблиці.

Розділ 6. «*Метагеномний аналіз*» складається з двох підрозділів. Підрозділ 6.1 присвячений аналізу складу мікробіому кишкового каналу експериментальних тварин. Описано результати відносної кількості таксонів у біоматеріалі окремих групах. Проведено аналізу альфа- та бета-різноманіття, аналіз кривої біорізноманіття та головних компонентів з кластерним перетворенням. У підрозділі 6.2 проведено аналіз міжгрупових варіацій із застосуванням t -тестового аналізу та проведено MetaStat – аналіз таксонів із значними внутрішньогруповими варіаціями.

Даний розділ проілюстровано сучасними графіками та діаграмами, зокрема 16 рисунками та містить 7 таблиць. За допомогою ґрунтовних статистичних розрахунків були констатовані достовірні результати.

Зауваження до розділу.

Назва розділу не дуже вдала. Доцільно формулювати біль конкретну назву, яка відображає зміст розділу.

Розділ 7 «*Порівняльна дія німесулідну та похідної 4-тіазолідинону сполуки Les-6490 на паріетальну мікробіому кишки in vivo при індукованому запальному процесі*» складається з чотирьох підрозділів. У ході цього дослідження дисертантка охарактеризувала зміни мікробіоти тонкої кишки під впливом новосинтезованої сполуки Les-6490 та німесулідну. Вона дійшла висновку, що сполука Les-6490 стимулює ріст *Helicobacter*, пригнічує *Stenotrophomonas* та загалом сприяє підвищенню видової різноманітності мікробіому кишки. Розділ ілюстровано 6 рисунками.

У розділі 8 «*Аналіз та узагальнення результатів дослідження*» проведено глибокий, всебічний аналіз одержаних результатів, їх порівняння з даними літератури. Матеріал викладений логічно й послідовно. Автор аналізує отримані результати, підводить підсумки своєї роботи, підходить до практичних рекомендацій. Розділ написаний лаконічно і професійно та характеризує дисертантку як підготовленого й високоерудованого науковця.

У 7 висновках, які базуються на отриманому фактичному матеріалі роботи, у лаконічній формі представлені найважливіші наукові й практичні результати роботи, що відповідають визначеній меті та завданням. Висновки дисертації ґрунтуються на результатах експериментальних досліджень, містять цифровий матеріал.

Зауваження і пропозиції щодо змісту дисертації:

Дисертаційна робота викладена логічно, послідовно, зміст роботи легко сприймається. Представлений матеріал гарно ілюстрований рисунками, фото, таблицями. Автор поєднав у дисертаційній роботі різноманітні підходи та методи досліджень, які дозволили комплексно підійти до вирішення основних завдань. У тексті зустрічаються окремі описки, стилістичні помилки. Принципових зауважень щодо оформлення дисертаційного дослідження немає. Висловлені побажання та зауваження до роботи мають переважно рекомендаційний характер, не зменшують її теоретичного значення та науково-практичної цінності і не впливають на загальну позитивну оцінку роботи.

Оцінюючи роботу Руминської Т.М. загалом позитивно, слід зупинитись на деяких несуттєвих недоліках чи дискусійних питаннях.

- У роботі зустрічаються поодинокі орфографічні, пунктуаційні та стилістичні помилки, часто зустрічаються англіцизми.
- Деякі таблиці варто перенести у додатки, тому що займають більше сторінки та важко сприймаються.
- Додаток 6 містить діаграму з дрібним шрифтом, який ускладнює оцінку відсоткового вмісту мікроорганізмів.
- Доцільно було б сформулювати практичні рекомендації.

В порядку наукової дискусії хотілося б почути відповідь дисертантки на наступні запитання:

1. Яким чином була визначена оптимальна доза новосинтезованої сполуки для експерименту на щурах?
2. Під час дослідження мікробіоти кишки у щурів за дії сполуки Les-6490, було становлено збільшення кількості мікроорганізмів, які продукують

коротколанцюгові жирні кислоти. Чи планували визначати КЛЖК у кишковому вмісті щурів?

3. Чому при оцінці антимікробної активності у якості контролю Ви використали саме ципрофлоксацин?

4. В чому Ви бачите перспективу продовження наукових досліджень з даної проблематики?

Зазначені питання та зауваження не знижують наукової вагомості та практичної значущості даного дисертаційного дослідження.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Руминської Тетяни Миколаївни «Протизапальні й протимікробні властивості похідного 4-тіазолідинону та нестероїдного протизапального препарату та їхній вплив на мікроекологічний та біохімічний статус лабораторних тварин» за обсягом проведених досліджень, актуальністю, науковою новизною, практичним значенням одержаних досліджень та висновків 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 її авторка, Руминська Тетяна Миколаївна, заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія», галузь знань 09 «Біологія».

Офіційний опонент

професорка кафедри генетики,

фізіології рослин і мікробіології

ДВНЗ "Ужгородський національний університет",

д-р біол. наук

М.В. Кривцова

