

В І Д Г У К

офіційного опонента на дисертаційну роботу Калько Катерини Олександрівни «Хронофармакологічне дослідження активності гепатопротекторних засобів», подану до спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія

Актуальність обраної теми

Визначення залежності ефективності та токсичності ліків від часу доби або пори року є одним з найперспективніших напрямків сучасної експериментальної та клінічної фармакології. Пріоритетність хронобіологічних досліджень була підтверджена Нобелівською асамблеєю, що присвоїла у 2017 році колективу вчених премію з фізіології або медицини за дослідження молекулярних механізмів контролю циркадіанних ритмів. На даний час накопичено багато даних про вплив добових та сезонних ритмів на фармакологічну активність окремих лікарських засобів. Однак хронофармакологічний профіль ефективності та нешкідливості для більшості ліків залишається нез'ясованим. Зокрема, це стосується засобів, що впливають на печінку, функції якої знаходяться під контролем добових ритмів.

Метою поданої на захист дисертаційної роботи стало експериментальне обґрунтування доцільності визначення циркадіанних особливостей прояву фармакологічної активності гепатопротекторів для підвищення ефективності фармакотерапії захворювань гепатобіліарної системи. Як об'єкти для досліджень дисертантом було обрано такі гепатопротектори: «Антраль» виробництва ПАТ «Фармак», Україна; «Карсил» АТ «Софарма», Болгарія; та «Глутаргін» ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я»», Україна. Вибір цих гепатопротекторів, як об'єктів досліджень Калько К.О., обґрунтовує широким їх застосуванням у

практичній гепатології. Слід відмітити вдалий вибір експериментальної моделі контрольної патології – гострий токсичний гепатит, спричинений парацетамолом. Парацетамол відносять до лікарських засобів, що займає чи не перше місце серед уражень печінки, спричинених прийомом лікарських засобів. Цінним у роботі є вибір періодів, в які проводили дослідження: ранковий, денний, вечірній та нічний, що охоплює усі періоди доби.

Вищевикладене свідчить про важливе значення, актуальність та доцільність дисертаційної роботи Калько Катерини Олександрівни, а представлені у дисертації дослідження циркадіанних особливостей прояву фармакологічної активності гепатопротекторів є перспективними і науково обґрунтованими.

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

Дисертація виконана за планом науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету, затверджених МОЗ України «Фармакологічні дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування в медичній практиці» (№ держреєстрації 0103U000478) та «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (№ держреєстрації 0114U000956). Дисертант є співвиконавцем цих тем.

Наукова новизна одержаних результатів.

У дисертаційній роботі вперше експериментально доведена циркадіанна залежність виразності фармакологічної активності гепатопротекторів синтетичного та рослинного походження на моделі гострого токсичного гепатиту, спричиненого парацетамолом.

Автором розширено уявлення про циркадіанні особливості функції печінки в регулюванні динаміки добового рівня та активності прооксидантно-антиоксидантного балансу, обміну білків, вуглеводів, перебігу екскреторних та детоксикаційних процесів та встановлено циркадіанний пік активності печінки, який реєструється у денний період (15.00). Це підтверджується

акрофазами вмісту відновленого глутатіону (ВГ), холестеролу, загального білірубіну та активності ферментів каталази і лужної фосфатази (ЛФ) та свідчить про підвищену активність детоксикаційних процесів у цей період.

У дисертаційній роботі також розширено уявлення про циркадіанну залежність токсичності парацетамолу у тварин різної статі. Автором встановлено, що максимальні явища десинхронозу у самиць щурів за умов гострого парацетамолового гепатиту реєструвалися ввечері (21.00), що підтверджується активацією процесів цитолізу (активність АлАТ та АсАТ зростала в 3,4 рази), порушеннями зі сторони системи антиоксидантного захисту (спостерігали зменшення вмісту на 20 % ВГ), обмінних процесів (вміст глікогену знижувався на 33 %, концентрація сечової кислоти зростала на 69 %) та розвитком синдрому холестазу (спостерігали зростання концентрації загального білірубіну на 24 % у порівнянні з тваринами інтактного контролю). Мінімальну деструктивну дію парацетамол чинив вдень (15.00), що обумовлено встановленим циркадіанним піком активності печінки в цей період. Дисертантом доведено, що в реалізації гепатотоксичної дії парацетамолу відсутня гендерна особливість.

Автор отримала нові дані про циркадіанні особливості фармакологічної дії окремих гепатопротекторних препаратів природного та синтетичного походження, які зареєстровані в Україні. Встановлено, що синтетичний гепатопротектор «Антраль» найвиразніше проявляє фармакологічний ефект у ранковий (09.00) та вечірній (21.00) періоди, що підтверджується нормалізацією прооксидантно-антиоксидантного дисбалансу: зростання активності СОД в 1,2 рази ($p < 0,05$), збільшення концентрації ВГ в 1,3 та 1,4 рази ($p > 0,05$), відповідно. У ці ж періоди спостерігалось найвиразніше інгібування цитодеструктивних змін (спостерігали зниження активності трансміназ у 1,3-1,5 рази ($p < 0,05$), відновлення енергетичних та обмінних процесів, що проявлялося зростанням вмісту глікогену в 1,3-1,5 рази, та спостерігалася тенденція до нормалізації вмісту сечовини та сечової кислоти). Також у ці періоди спостерігали зменшення проявів холестазу:

активність ЛФ та вміст загального білірубіну знижувалися у 1,1-1,2 рази у порівнянні з тваринами групи контрольної патології.

Хронопрофіль досліджуваного рослинного гепатопротектора «Карсилу» був подібний до «Антралю», однак «Карсил» за виразністю впливу на окремі показники поступався йому.

Циркадіанний максимум гепатопротекції «Глутаргіну» спостерігався у денний (15.00) та нічний (03.00) періоди, що підтверджується пригніченням цитодеструктивних процесів (спостерігали зменшення активності трансміназ в 1,2-1,3 рази, $p < 0,05$) та відновленням обмінних процесів (була тенденція до нормалізації вмісту ВГ (32 %), глікогену (18 %) та сечовини 1,2 разу, $p < 0,05$), відносно щурів контрольної патології.

Порівняльний аналіз циркадіанної залежності гепатопротекторної активності досліджуваних препаратів дозволив Калько К.О. зробити висновок про подібність хронопрофілей «Антралю» та «Карсилу» з піком гепатопротекції вранці та ввечері, що зумовлено наявністю вираженої прямої антиоксидантної дії у цих препаратів. У хронопрофілі препарату «Глутаргін» пік припадає на денний та нічний періоди, що пов'язано з його метаболітропним механізмом гепатопротекції.

Наукова новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель № 106394 від 25.04.2016 р. «Спосіб хронодетермінованої терапії медикаментозних гепатитів». Запропоновано новий удосконалений спосіб терапії гепатитів з врахуванням хроноособливостей «Антралю».

Практичне значення одержаних результатів

При виконанні дисертаційних досліджень Калько К.О. отримала нові наукові дані, які мають практичне значення.

Встановлені циркадіанні хронопрофілі фармакологічної активності досліджуваних гепатопротекторів є вагомим підставою для вдосконалення методів фармакотерапії захворювань печінки.

За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано інформаційний лист «Оптимізація режиму прийому пара-ацетамінофенолу з врахуванням біоритмів печінки» (№276-2015, 2015 р.), який затверджено Укрмедпатентінформ і пропонується для впровадження в заклади охорони здоров'я.

Результати дисертаційної роботи впроваджено в науково-педагогічний процес кафедри фармакології з клінічною фармакологією ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (протокол № 05 від 12.01.2017 р.), кафедр фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (протокол № 07 від 11.01.2017 р.), Буковинського державного медичного університету (протокол № 18 від 17.05.2017 р.) та Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця (протокол № 33 від 12.06.2017 р.) та у науково-дослідний процес відділу загальної токсикології Київського інституту фармакології та токсикології НАМН України (протокол № 03 від 15.05.2017 р.).

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації

Дисертаційна робота Калько Катерини Олександрівни «Хронофармакологічне дослідження активності гепатопротекторних засобів» виконана на сучасному науковому рівні з використанням адекватних методів дослідження, достатньої кількості лабораторних тварин та експериментальних моделей. Результати дисертації цілком переконливі, їх достовірність не викликає сумнівів.

Наукові положення та висновки дисертації є обґрунтованими та узгодженими з метою та завданнями дослідження.

Матеріал, наведений у дисертаційній роботі Калько К.О., є новим як з наукової точки зору, так і перспективним для впровадження у практичну медицину і фармацію.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих роботах і в авторефераті

За матеріалами дисертації опубліковано 16 наукових праць: 9 статей, у фахових виданнях, рекомендованих МОН України (з них 2 статті – у наукових іноземних виданнях), 5 тез доповідей, 1 патент на корисну модель. Видано 1 інформаційний лист.

Вважаю, що опубліковані результати достатньо повно відображають зміст дисертаційної роботи. Автореферат дисертації як за структурою, так і за змістом, відповідає основним положенням роботи.

Оцінка змісту дисертації та її оформлення.

Обсяг та структура дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, п'яти розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел літератури та додатків. Загальний обсяг дисертації складає 195 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 60 таблицями та 8 рисунками. Список використаних джерел містить 207 найменувань, з них 120 кирилицею та 87 латиницею.

Основний зміст дисертації та його оцінка.

Анотація до дисертаційної роботи оформлена згідно з вимогами наказу № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження вимог до оформлення дисертації».

Вступ дисертації включає дані щодо актуальності, мети та задач роботи, методів дослідження, наукової новизни, практичного значення, особистого внеску здобувача, апробації результатів дисертаційної роботи.

Мета роботи сформульована чітко і є теоретично обґрунтованою. Завдання, які вирішуються для досягнення мети, є чіткими та конкретними.

Огляд літератури (**перший розділ**) містить інформацію про новітні результати сучасних хронобіологічних досліджень. У даному розділі автор обґрунтовує доцільність хронофармакологічного вивчення

гепатопротекторів. Дисертант показує особливості діяльності печінки за фізіологічних умов, вказує на роль печінки в організації білкового, вуглеводного, ліпідного обмінів, прооксидантно-оксидантного балансу, описує значення маркерів цитолізу, аналізує перебіг екскреторних і детоксикаційних процесів у даному органі. Підкреслена важливість печінки як периферичного осцилятора в організації вищевказаних процесів та обмінів. Огляд літератури логічно закінчується підрозділом, у якому наведено актуальність вибору об'єктів хронофармакологічного дослідження. Розділ написано досить кваліфіковано.

У **другому розділі** – «Об'єкти та методи дослідження» стисло, лаконічно та досить інформативно описано методи, за якими визначали досліджувані показники, обґрунтовано вибір моделі, яку використано у дослідженні. Дослідження проведено на 224 рандомбредних щурах (160 самиць та 64 самців) масою 190-210 г ЦНДЛ НФаУ з дотриманням міжнародних та національних біоетичних норм та принципів, що засвідчено висновком комісії з біоетики Національного фармацевтичного університету.

Розділ третій присвячений вивченню добових ритмів показників активності печінки щурів самиць та самців за фізіологічних умов. Розділ структуровано за групами показників, які характеризують вуглеводний, білковий та пуриновий обміни, прооксидантно-антиоксидантний баланс, екскреторні та детоксикаційні процеси печінки.

У **четвертому розділі** висвітлено особливості патологічних змін досліджуваних показників та обмінів на тлі гострого парацетамолового гепатиту в залежності від періоду доби, в який його моделювали. Детально охарактеризовано зміни тих показників, які були найвиразнішими та достовірними. Зроблено акцент на циркадіанні періоди, в які реєструвалися відмічені зміни досліджуваних показників.

Розділи п'ятий, шостий, сьомий присвячені дослідженню добової залежності гепатопротекторної активності «Антралю», «Карсилу» та «Глутаргіну» за умов гострого токсичного гепатиту, спричиненого

парацетамолом. Детально описано особливості змін досліджуваних показників під дією препаратів у кожному циркадіанному періоді. Виявлено, що «Антраль» та «Карсил» мають подібні хронопрофілі, тоді як для «Глутаргіну» він є діаметрально протилежним.

У розділі «**Аналіз та узагальнення результатів**» дисертант підсумовує та аналізує результати, викладені у попередніх розділах дисертації. Розділ написано чітко та логічно, що дозволило вдало систематизувати експериментальний матеріал, отриманий дисертантом у дослідженнях. Калько К О., ґрунтуючись на даних наукової літератури та результатах власних досліджень, вдало інтерпретує виявлені циркадіанні залежності гепатопротекторної активності досліджуваних препаратів.

Обговорення отриманих результатів проведено глибоко та всебічно, що дозволило зробити науково обґрунтовані висновки, які відповідають поставленій у роботі меті та завданням.

Список використаних джерел наукової літератури наведено в порядку згадування у тексті. Він оформлений за чинними вимогами, складається з 207 найменувань, з них 120 кирилицею та 87 латиницею.

Ідентичність змісту автореферату й основних положень дисертації

Тексти дисертації та автореферату написано українською мовою із дотриманням наукового стилю хоча і не позбавлені орфографічних, граматичних та пунктуаційних помилок. Оформлення дисертації та автореферату відповідає вимогам МОН України щодо викладення, об'єму, структури, ілюстрації, посилань на джерела наукової літератури. Автореферат відповідає дисертації за змістом і структурою.

Поряд з позитивними характеристиками роботи необхідно відмітити деякі зауваження та пропозиції:

1. У багатьох випадках (с. 74, табл. 4.1; с. 90, табл. 4.10; с. 98, табл. 5.1) для досліджуваних показників стандартна помилка середнього значення вибірки перевищувала 10 % від середнього значення, коли допустимою нормою є 10 %.

2. Не досліджували фракційних склад білірубіну, а обмежилися лише його загальним вмістом (загальний білірубін). Відомо, що прямий (кон'югований) білірубін є інформативним показником детоксикаційної функції печінки.
3. Одними з основних функцій печінки є її жовчоутворювальна та жовчовидільна. Найбільш специфічним продуктом діяльності гепатоцитів є жовч, зокрема жовчні кислоти. Можливо слід було дослідити циркадіанну залежність цих специфічних функцій печінки.
4. У роботі зустрічаються орфографічні та стилістичні помилки, невдалі вирази, русизми.

Проте вищезазначені зауваження не зменшують загальної позитивної оцінки і значення дисертації, яка є закінченим дослідженням з достатньою науковою новизною, теоретичним та практичним значенням одержаних результатів.

У порядку наукової дискусії вважаю доцільним, щоб дисертант відповіла на наступні запитання:

1. Обґрунтуйте, будь ласка, вибір препарату «Карсил» як об'єкта досліджень, адже серед представлених на фармацевтичному ринку гепатопротекторів на основі флавоноїдів розторопші є й інші лікарські засоби, наприклад оригінальний препарат «Легалон»?

2. Чи впливають фармакокінетичні параметри досліджуваних гепатопротекторів на встановлені акрофази їх активності?

3. Чи можна, а якщо можна, то як за вмістом загального білірубіну, холестеролу та активності ЛФ сироватки крові можна інтерпретувати стан жовчовидільної функції печінки?

Відповідність дисертації вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів».

Дисертаційна робота Калько Катерини Олександрівни «Хронофармакологічне дослідження активності гепатопротекторних засобів» є завершеним науковим дослідженням, в якому отримані нові науково

обґрунтовані результати, які пов'язані з вирішенням актуальної наукової проблеми, що стосується вдосконалення терапії захворювань гепатобіліарної системи шляхом врахування хронофармакологічних особливостей дії гепатопротекторів.

За актуальністю, об'ємом проведених досліджень, новизною отриманих результатів, практичним значенням дисертація Калько Катерини Олександрівни «Хронофармакологічне дослідження активності гепатопротекторних засобів» відповідає вимогам пункту 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р., а її автор заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – «Фармакологія».

Офіційний опонент:

Завідувач кафедри фармакогнозії

з медичною ботанікою

ДВНЗ "Тернопільський державний медичний

університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України"

доктор фармацевтичних наук, професор

С.М. Марчишин



Особистий підпис _____

заіржо

Помічник ректора з кадрових питань
Тернопільського медуніверситету