

В І Д Г У К
офіційного опонента
на дисертаційну роботу Шаріфова Хуршеда Шералійовича
«Експериментальне дослідження фармакологічних властивостей екстракту
з листя персика звичайного», представлену
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 теми

Умови життя сучасної людини вимагають значного підвищення адаптаційних можливостей організму, що пов'язано зі збільшенням кількості різних стресових факторів, а саме прискорення темпу життя та інформаційних потоків, підвищення частки розумової праці, гіподинамія, медичні, екологічні та соціальні проблеми. У найбільш урбанізованих, економічно розвинених країнах хронічний стрес набуває масштабів епідемії. У той же час стрес запускає ланцюг нервових, гормональних і метаболічних процесів, які при стійкому впливі пошкоджуючого фактора і виснаженні адаптаційних резервів, фіксуються на елементах основних систем – судинної, нервової, ендокринної, імунної, провокуючи їх патологічні зміни.

Хронічний стрес викликає глибокі зміни в структурі та функціях імуннокомпетентних органів, в гуморальній складовій імунної відповіді, у функціонуванні імунних клітин периферичної крові. Це в свою чергу тягне за собою розвиток життєво небезпечних захворювань – аутоімунних, алергічних, онкологічних.

Таким чином, для подолання наслідків стресу потрібні лікарські засоби з полікомпонентною дією. Ці вимоги, завдяки багатому хімічному складу, задовольняють рослинні препарати. При незначній токсичності вони здатні активувати неспецифічні процеси імунітету, проявляти первинну стреспротекторну активність і адекватно впливати на обмін речовин. Такими властивостями володіють рослинні адаптогени, проте вони мають значний тонізуючий вплив на центральну нервову систему і мають протипоказання при ряді за-

хворювань.

Увагу дисертанта привернула рослинна сировина – листя персика звичайного. При достатній сировинній базі в листках рослини міститься багатий набір поліфенольних сполук, які володіють різною фармакологічною активністю, зокрема стреспротекторною та імунотропною, а також полісахариди, яким притаманні імуностимулюючі властивості. У зв'язку з вищевикладеним, доцільним представляється розширення уявлень щодо фармакодинамічного потенціалу густого екстракту з листя персика звичайного та окреслення перспективних напрямків його застосування, а дисертаційне дослідження Шаріфова Х. Ш. є своєчасним і актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана у рамках науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету: «Фармакологічні дослідження біологічно-активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування в медичній практиці» (№ державної реєстрації 0103U000478) та «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів (№ державної реєстрації 0114U000956). Дисертант є співвиконавцем цих тем.

Структура та обсяг дисертації

Основний обсяг дисертації включає 154 сторінки друкованого тексту, 23 таблиці та 22 рисунки. Робота складається з анотації, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», чотирьох розділів власних експериментальних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, загальних висновків і списку використаних джерел, що містить 249 найменувань (163 кирилицею, 86 латиницею) та додатків.

Оцінка змісту дисертаційної роботи

У вступі викладено актуальність наукового напрямку, мета та завдання

дослідження, наукова новизна та практичне значення отриманих результатів, наведено особистий внесок здобувача у виконання дисертаційної роботи, перераховано наукові заходи, де проведена апробація результатів роботи, зазначено кількість публікацій за матеріалами дисертації, її структура та обсяг.

У першому розділі дисертації, який викладено на 30 сторінках (19 % від загального обсягу дисертаційної роботи) та складається з 4-х підрозділів, автором проведений ґрунтовний аналіз сучасних джерел літератури відносно патогенезу порушень, спричинених стресом, імунологічних розладів та їх фармакологічної корекції лікарськими засобами рослинного походження. Надана фармакологічна характеристика лікарським засобам рослинного походження, що виявляють стреспротекторні та імуотропні властивості. Окремий підрозділ присвячений біологічно-активним речовинам персика звичайного (*Prunus persica Mill*) як потенційним стреспротекторам та імуномодуляторам. Розділ написаний ґрамотно, викладені сучасні погляди на механізм формування стресу, наведені актуальні дані щодо можливих шляхів фармакотерапії стресу та пов'язаних з ним імунологічних порушень фітопрепаратами.

У другому розділі «Матеріали та методи дослідження» описаний густий екстракт з листя персика (ГЕЛП), що досліджувався, наведений детальний опис експериментальних моделей, що використовував дисертант. Програма, що викладена у вигляді схеми, повністю відображає проведені дисертантом експериментальні дослідження. Кількість тварин, використаних у кожній серії випробувань, була достатньою. Досліди проводилися з дотриманням міжнародних та національних біоетичних норм та принципів роботи з тваринами, що засвідчено висновком комісії з біоетики НФаУ. Обрані дисертантом методи фармакологічного дослідження та статистичного аналізу відповідають поставленим завданням. Це доводить високий методологічний рівень роботи та достовірність отриманих результатів. Наведені препарати порівняння та їх дози досить обґрунтовані.

Результати власних досліджень наведені дисертантом у 4-х розділах.

Третій розділ присвячений проведенню скринінгових досліджень та нешкідливості, зокрема гострої токсичності ГЕЛП. За результатами скринінгових досліджень у тесті «статичного навантаження» встановлена здатність ГЕЛП підвищувати витривалість тварин, що була найвищою в дозі 100 мг/кг. Зазначена доза була визначена як умовноефективна і використана для подальших досліджень. За виразністю актопротекторного ефекту ГЕЛП перевершував препарат порівняння «Імуно-Тон». Показано, що ГЕЛП в умовноефективній дозі 100 мг/кг як і препарат порівняння «Імуно-Тон» дозою 15 мг/кг не чинили вірогідного впливу на стан ЦНС у тесті «відкрите поле». У результаті дослідження гострої токсичності за умов однократного внутрішньошлункового введення щурам ГЕЛП встановлено, що у дозі 5000 мг/кг екстракт не призводить до загибелі тварин, не впливає негативним чином на стан внутрішніх органів, що характеризує його як малотоксичну речовину (IV клас токсичності, $LD_{50} > 5000$ мг/кг) за класифікацією К. К. Сидорова.

Четвертий розділ присвячений проведенню поглибленого дослідження терапевтичних властивостей ГЕЛП, а саме стреспротекторних в умовах хронічного іммобілізаційного стресу за впливом на стан гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи, на морфологічні прояви стресу у надниркових залозах, на інтегральні показники вуглеводного, ліпідного обміну, дисбалансу системи ПОЛ/АОЗ, а також за впливом на поведінкові реакції щурів в тестах «відкрите поле» і «піднесений хрестоподібний лабіринт».

Дисертантом встановлено протективний вплив екстракту на стан гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи, що підтверджується меншою вираженістю розвитку тріади Сельє: зниженням ступеня виразкового пошкодження шлунка, гіпертрофії наднирників та інволюції тимуса. На відміну від препарату порівняння «Імуно-Тон», екстракт, що досліджувався, виявляв більш виразний захисний вплив на стан тимуса, підвищував коефіцієнт маси органу практично до рівня інтактних тварин. На фоні дії препарату порівняння «Імуно-Тон» коефіцієнт маси тимуса, як і у тварин групи контрольної па-

тології, був вірогідно нижчим порівняно з інтактними тваринами. Екстракт сприяв також зменшенню морфологічних проявів стресової реакції у надниркових залозах щурів – гальмував підвищену активність адренокортикоцитів кори, нейроендокриноцитів мозкового шару. Морфометрично встановлено зменшення ширини пучкової зони і діаметру ядер спонгіоцитів. За виразністю стреспротекторної дії ГЕЛП за більшістю показників був на рівні препарату порівняння.

Встановлено позитивний вплив ГЕЛП і препарату порівняння «Імуно-Тон» на стан метаболічних процесів та дисбаланс системи ПОЛ/АОЗ в умовах ХІС, що виявився у зниженні гіперліпідемії, що оцінювали за показниками рівня тригліцеридів і загального холестеролу, у збереженні стабільності вуглеводного обміну, що оцінювали за рівнем глюкози в сироватці крові і глікогену в печінці, у гальмуванні цитолітичних процесів, що оцінювали за активністю АЛАТ, у посиленні системи АОЗ, що оцінювали за активністю антиоксидантного фермента каталази і вмістом відновленого глутатіону. Отримані результати свідчать про стреспротекторну дію засобів. За виразністю антиоксидантної дії ГЕЛП перевершував препарат порівняння.

У *n'ятому розділі* проведено поглиблене вивчення імуотропних властивостей ГЕЛП в дослідях *in vivo* в умовах ХІС та *in vitro* на імунокомпетентних клітинах піднебінних мигдаликів, отриманих після аденоектомії.

Дисертантом доведено протективний вплив ГЕЛП на стан тиміко-лімфатичної ланки системи в умовах ХІС, про що свідчило збільшення у селезінці ширини маргінальної зони, лімфатичних вузликів і муфт, чисельності структур білої пульпи органу, зниження ознак гіпоксії – кількості структур білої пульпи зі спазмом центральних артерій. Доведено зниження реактивних змін у центральному органі імунної системи – тимусі на рівні фази акцидентальної трансформації з третьої-четвертої до першої. За ефективністю ГЕЛП за більшістю показників був на рівні препарату порівняння «Імуно-Тон».

У дослідях *in vivo* за умов ХІС презентовано здатність ГЕЛП відновлювати порушену в умовах стресу активність імунної системи, про що свідчить

вірогідне підвищення індексу фагоцитозу і фагоцитарного числа на 18 добу стресу, нормалізація клітинного складу крові, збереження співвідношення специфічних і неспецифічних імунологічних реакцій на фізіологічному рівні і, як наслідок, зниження ступеня ендогенної інтоксикації організму. ГЕЛП за нормалізувальним впливом на низку показників статистично значущо перевершував препарат порівняння «Імуно-Тон», зокрема більш ефективно зменшував ступінь ендогенної інтоксикації, підвищував активність фагоцитарних реакцій, нормалізував імунологічну реактивність.

У дослідах *in vitro* також підтверджено імуномодулювальні властивості ГЕЛП, зокрема здатність дозозалежно впливати на функціональну активність лімфоцитів. У більш високій концентрації (2 мг/мл) знижувати кількість життєздатних імунокомпетентних клітин, а у нижчій (0,4 мг/мл) – не чинити негативного впливу на них, не впливати на експресію поверхневих антигенів (CD4, CD25, CD16, CD95) лімфоцитів, підвищувати синтез ними імуноглобуліну А в 1,2 разу та активність ендогенних цитотоксичних клітин в 3,6 разу. За думкою дисертанта це може пояснювати наявність протипухлинного ефекту у БАР екстракту персика, про що є дані інших дослідників.

У шостому розділі наведені результати дослідження окремих аспектів фармакодинаміки ГЕЛП.

Встановлена здатність ГЕЛП знижувати продукцію прозапальних цитокінів ІЛ-1, не змінюючи утворення протизапальних цитокінів ІЛ-4 і ІЛ-10, та ІФН- γ , що можна розглядати як один з механізмів його протизапальної та імуномодуляторної дії. Виявлено помірну протизапальну активність ГЕЛП в різних дозах: в дозі 50 мг/кг протягом перших чотирьох годин і в дозі 100 мг/кг тільки на п'яту годину карагені нового набряку. Дисертант припускає, що антипростагландинний механізм не є провідним у виявленні протизапальної дії екстракту, а зниження активності біогенних амінів, а також цитокіномодуляторні, антиоксидантні та мембраностабілізуювальні властивості відіграють більш значний гальмівний вплив на процеси запалення. На моделі спонтанного лізису еритроцитів доведено помірну мембраностабілізуювальну

активність ГЕЛП, за вираженістю якої він не поступається структурному антиоксиданту вітаміну Е.

У розділі *«Аналіз і узагальнення результатів»* дисертант підсумовує та аналізує результати, викладені у попередніх розділах дисертації. Стиль викладення власних результатів досліджень чіткий, що дозволило автору систематизувати одержаний матеріал і зробити науково-обґрунтовані висновки, які відповідають поставленій меті і завданням дисертаційної роботи.

Шаріфов Х. Ш., ґрунтуючись на даних наукової літератури та результатах власних досліджень, доводить доцільність подальшого вивчення ГЕЛП як стреспротектора з метою подальшого його вивчення як препарату, що може бути рекомендованим для лікування стресобумовлених видів патології, зокрема пов'язаних з ними імунних порушень. Обговорення отриманих результатів проведено глибоко та всебічно, що дозволило зробити науково-обґрунтовані висновки, які відповідають поставленій меті та завданням роботи.

Список використаних джерел літератури оформлений за чинними вимогами та містить 249 найменувань, з них 163 – латиною та 86 – кирилицею.

Наукова новизна одержаних результатів

У роботі вперше теоретично обґрунтовано та експериментально доведено наявність важливих фармакологічних ефектів ГЕЛП: актопротекторного, стреспротекторного та імунокоригувального. Доведено, що у реалізації цих ефектів важливу роль відіграють цитокіномодуляторні, антиоксидантні та мембраностабілізуювальні властивості.

Доведена стреспротекторна дія ГЕЛП в умовах ХІС: здатність знижувати ступінь виразкового пошкодження шлунка, гіпертрофії надниркових залоз та інволюції тимуса, зменшувати вираженість морфологічних ознак функціональних змін у стані надниркових залоз.

Виявлено коригувальний вплив ГЕЛП на стан системи ПОЛ/АОЗ: посилення антиоксидантного захисту, гальмування процесів цитолізу і ПОЛ; нормалізація вуглеводного і ліпідного обміну. Показано, що за вираженістю антиоксидантної дії досліджуваний засіб ГЕЛП перевершував препарат порі-

вняння «Імуно-Тон», більш ефективно підвищуючи активність каталази, рівень відновленого глутатіону та знижуючи вміст ТБК-реактивів в еритроцитах.

Виявлені анксиолітичні властивості ГЕЛП, про що свідчить скорочення часу перебування тварин у закритому рукаві і подовження часу їх перебування у відкритому рукаві.

Доведена здатність ГЕЛП відновлювати порушену в умовах стресу активність імунної системи: підвищувати індекс фагоцитозу в 1,2 разу і фагоцитарне число в 1,8 разу, нормалізувати клітинний склад крові, знижувати ступінь ендогенної інтоксикації організму. Гістологічно доведено протективний вплив ГЕЛП на стан тиміко-лімфатичної ланки імунної системи.

У досліджах *in vitro* отримано нові дані про дозозалежність імунотропної дії ГЕЛП: здатність у вищій концентрації (2 мг/мл) знижувати кількість життєздатних імунокомпетентних клітин, а у нижчій (0,4 мг/мл) – не чинити негативного впливу на них, не впливати на експресію поверхневих антигенів (CD4, CD25, CD16, CD95) лімфоцитів, підвищувати продукцію IgA та активність ендогенних цитотоксичних клітин.

Розширено уявлення щодо механізмів стреспротекторної, імунокоригувальної та протизапальної дії ГЕЛП, що полягає у зниженні продукції прозапальних цитокінів ІЛ-1, у відсутності впливу на утворення протизапальних цитокінів ІЛ-4, ІЛ-10, ІФН- γ та у здатності стабілізувати клітинні мембрани.

Встановлено, що ГЕЛП є малотоксичною речовиною згідно з класифікацією К. К. Сидорова (1973).

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати щодо фармакодинаміки та профілю безпеки ГЕЛП обґрунтовують доцільність його подальшого дослідження як перспективного засобу імунокоригувальної, стреспротекторної та актопротекторної дії.

Видано інформаційний лист МОЗ України про нововведення в сфері охорони здоров'я (№ 186-2017, 2017 р.), в якому обґрунтовано новий підхід ком-

плексної фармакотерапії інфекційно-запальних захворювань із застосуванням екстракту листя персика як цитокіномодулятора, отримано патент України на корисну модель (№u 201505835, 2015 р.), яким екстракт листя персика визначений як новий перспективний лікарський засіб з імунотропною активністю.

Автором впроваджено результати дисертаційної роботи в науковий процес Інституту експериментальної і клінічної медицини Національного медичного університету імені О. О. Богомольця та в навчально-науковий процес 3 кафедр українських ВНЗ та 2 кафедр ВНЗ Республіки Таджикистан: фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»; фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського; фармакології Буковинського державного медичного університету; фармакології Таджицького державного медичного університету імені Абуалі Ібн Сіно; фармацевтичної технології і біотехнології Таджицького національного університету. Дієвість впровадження засвідчено протоколами та актами впровадження, що наведені в додатку дисертації.

Результати роботи, як фрагмент звіту з доклінічного вивчення ГЕЛП були використані при підготовці нормативно-технічної документації в процесі його реєстрації як лікарського препарату на ТОВ «Тиб барои шумо» (Республіка Таджикистан), а також при розробці інструкції з клінічного застосування.

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

Дисертаційна робота Шаріфова Х. Ш. «Експериментальне дослідження фармакологічних властивостей екстракту з листя персика звичайного» виконана на сучасному науковому рівні з використанням адекватних методів дослідження, достатньої кількості лабораторних тварин та добре валідованих експериментальних моделей. Результати дисертації цілком переконливі, їх достовірність не викликає сумнівів.

Наукові положення та висновки дисертації є обґрунтованими та узго-

дженими з метою та задачами дослідження.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих роботах і в авторефераті

За матеріалами дисертації опубліковано 19 наукових праць, що повною мірою відображають її зміст: 6 статей у фахових виданнях, рекомендованих МОН України, серед них - 3 статті в українських фахових журналах, 3 – у закордонних наукових виданнях, 11 тез доповідей на науково-практичних конференціях і з'їздах, отримано патент України на корисну модель, видано інформаційний лист.

Автореферат дисертації за змістом повністю відображає всі її основні положення та висновки.

Зауваження, що стосуються оформлення та змісту дисертації та автореферату

Істотні недоліки в дисертаційній роботі та авторефераті не виявлені. Робота написана логічно з дотриманням існуючих вимог щодо структури, змісту та технічного оформлення. Однак, у результаті ознайомлення з дисертацією маю висловити певні зауваження:

1. зустрічаються граматичних і технічні помилки;
2. таблиці оформлені не однотипово, що перешкоджає ознайомленню з їх змістом. Так, назви експериментальних груп і досліджувані показники зустрічаються в заголовках рядків і заголовках граф;
3. у підписах до фотографій мікропрепаратів повинен бути зазначений об'єкт – препарат надниркової залози, а не власне надниркова залоза.

Крім того, у порядку наукової дискусії хотілося б почути думку дисертанта з таких питань:

1. Поясніть вибір препарату порівняння на моделі хронічного іммобілізаційного стресу.
2. Чому Ви не досліджували ГЕЛП на моделях гострого стресу?
3. Які фармакологічні властивості ГЕЛП з урахуванням регіональної

захворюваності у Республіці Таджикистан Ви вважаєте будуть корисними для пацієнтів?

Висновок щодо відповідності дисертації встановленим вимогам

Дисертаційна робота Шаріфова Хуршеда Шералійовича «Експериментальне дослідження фармакологічних властивостей екстракту з листя персика звичайного» є завершеною науковою роботою, що містить нові науково-обґрунтовані результати. За актуальністю, науковою новизною, практичним значенням, а також обсягом досліджень, дисертаційна робота Шаріфова Хуршеда Шералійовича «Експериментальне дослідження фармакологічних властивостей екстракту з листя персика звичайного» відповідає чинним вимогам «Порядку присудження наукових ступенів» затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами), а дисертант заслуговує присудження йому наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 - фармакологія.

Офіційний опонент,

завідувач кафедри загальної та клінічної фармації ДЗ "Дніпропетровська медична академія МОЗ України" д. фарм.н., професор

