

Відгук

офіційного опонента, зав. кафедрою фармакоелекономіки Національного фармацевтичного університету, доктора фармацевтичних наук, проф. Яковлевої Лариси Василівни на дисертаційну роботу Підченка Віталія Тарасовича «Експериментальне обґрунтування імуномодуляторної активності та нешкідливості порошку біомаси гриба *Ganoderma lucidum* (CURT.:FR.) P.KARST», представленій 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. Є цілий ряд захворювань, які виникають та розвиваються на тлі зниження функціонального стану імунної системи. Це практично всі інфекційні захворювання, в тому числі грип, ОРЗ, ОРВІ, туберкульоз, пневмонія та багато інших, а також таке неінфекційне захворювання як рак. При порушенні кількості та функціональної активності клітин імунної системи розвиваються розлади імунної реактивності: імунодефіцити, алергічні реакції та аутоімунні процеси.

Найбільш поширеним порушенням імунної системи людини є вторинний імунодефіцит (ВІД), який розвивається в пізньому постнатальному періоді або у дорослих та не є результатом генетичного дефекту. Індукована форма ВІД може виникати в результаті впливу конкретних факторів, таких як: рентгенівське опромінення, цитостатична терапія, застосування кортикостероїдів, травми, хірургічне втручання, а також може бути вторинним по відношенню до основного захворювання (при діабеті, захворюваннях печінки, нирок, при злоякісних новоутвореннях). Спонтанна форма ВІД характеризується відсутністю видимої причини, що призводить до порушення імунної реактивності та проявляється у вигляді хронічних, часто рецидивуючих інфекційно-запальних процесів бронхо-легеневого апарату, придаткових пазух носа, уrogenітального тракту, очей, шкіри, м'яких тканин, що викликані опортуністичними та умовно-патогенними мікроорганізмами. Ще одним обґрунту-

ванням актуальності пошуку та створення нових імуномодуляторних лікарських засобів є поширення у всьому світі мікроорганізмів, резистентних до антибіотиків. У комплексному лікуванні таких інфекційних захворювань важливу роль відіграють засоби, що підсилюють імунний захист.

Зв'язок з науковими програмами, планами та темами. Дисертацію виконано відповідно до плану науково-дослідних робіт кафедри фармакогнозії та ботаніки Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України в рамках теми «Дослідження арсеналу лікарських рослин флори України з антидіабетичними, імуномодулюючими, антиоксидантними та адаптаційними властивостями», державний реєстраційний номер 0113U006552. Дисертант є співвиконавцем зазначеної теми.

Обсяг та структура дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, чотирьох розділів власних досліджень, розділу, що містить аналіз і узагальнення результатів, загальних висновків, списку використаних джерел літератури. Робота викладена на 197 сторінках, ілюстрована 23 таблицями і 46 рисунками. Бібліографія включає 209 посилань на наукові праці, з них 60 кирилицею, 149 латиною.

Вступ характеризується загальноприйнятим порядком викладення матеріалу. На початку автор ґрунтовно охарактеризував актуальність обраної теми, про що свідчать посилання літератури про вирощування об'єкта дослідження гриба *Ganoderma lucidum* та його фармакологічні властивості, використання у комплексному лікуванні інфекційних захворювань та вторинних імунодефіцитів. У вступі також чітко сформульовані мета та задачі дослідження, наукова новизна та практичне значення одержаних результатів. Наведено інформацію щодо публікацій та апробації результатів досліджень.

В огляді літератури автор торкнувся багатьох питань, що пов'язані з темою дисертації. Одним з перших стало описання сучасного стану розробки імуномодуляторних лікарських засобів.

До числа найбільш значимих тенденцій створення імуномодуляторних лікарських засобів можуть бути віднесені наступні: виділення та очищення біологічно активних молекул ендogenous походження – продуктів імунної системи, що мають імуномодуляторні властивості; створення препаратів методами хімічного синтезу та генно-інженерними методами. Протягом останніх років значного розвитку досягли дослідження та застосування БАР з імуотропною активністю, виділених з лікарських рослин та базидіальних грибів. На сьогодні в Україні до цієї групи входить велика кількість препаратів різного походження: цитокіни, індуктори інтерферону, бактеріальні препарати, імуноглобуліни, препарати рослинного походження. Серед останніх найбільш значимими за кількістю є монопрепарати ехінацеї пурпурової, елеутерококу та кореня солодки. Поряд з цим велика кількість рослинних імуномодуляторів представлена комплексними препаратами.

В країнах Сходу поряд з вказаними широко використовуються препарати базидіальних грибів, які не представлені в Україні.

Європейські та американські дослідники визнали, що базидіальні гриби, які застосовуються в східній медицині вже кілька тисячоліть, мають значний лікувальний потенціал і є джерелами цінних сполук для отримання принципово нових лікарських засобів.

Фармакологічно-активні речовини, які були виділені з базидіальних грибів, це – полісахариди, а саме β -глюкани, що проявляють протипухлинні та імуномодуляторні властивості. Першими полісахаридними препаратами онкостатичної дії, виробництва Японії, були наступні засоби: крестин (PSK), виділений з *Coriolus versicolor* (трутовик різнокольоровий), який представляє собою β -D-глюкан-протеїновий комплекс з молекулярною масою 100.000; лентинан (LE), який отримують з плодових тіл *Lentinus edodes* (шіїтаке), та який представляє собою β -глюкан з молекулярною масою 500.000 та соніфілан (SPG), більш відомий як шизофілан, який отримують з культуральної рідини *Schizophyllum commune* (Розщепка звичайна) при культивуванні міцелію на рідких середовищах та має молекулярну масу 450.000. Також відомий ге-

терополісахарид тремелластин – високомолекулярний кислий глюкуроноксидоманан, який отримують шляхом культивування *Tremella fuciformis Berk.* Ще в 1993 році виробництво крестину складало 25% ринку протипухлинних препаратів у Японії.

Описані полісахариди базидіальних грибів широко використовуються як онкостатичні засоби, дія яких пов'язана з активацією відповіді імунокомпетентних клітин хворого. Більш детальне описання механізмів імуностимулюючої дії полісахаридів пов'язане з їх здатністю підвищувати активність макрофагів, стимулювати Т і В лімфоцити та інфільтрацію еозинофілів, нейтрофілів та гранулоцитів в тканини-мішені.

Дослідження активних полісахаридів, отриманих з вищих Базидіаміцетів показало, що всі вони різні за хімічною будовою та фізико-хімічними властивостями. Імуномодулятори полісахаридної природи – найбільша група сучасних лікарських засобів з грибів, які виробляються та використовуються в Японії, Китаї та інших країнах Південно-Східної Азії як препарати супроводу при хіміотерапії онкозахворювань. Порошки висушених плодових тіл Базидіаміцетів та міцелію, чаї, настоянки та екстракти відносяться до числа оздоровлюючих засобів дієтотерапії або фітотерапії, які рекомендовані для профілактики багатьох захворювань та підвищення опірності організму до деяких захворювань або як допоміжні засоби при їх лікуванні. В Україні розпочато випуск харчових добавок серії "Мікосвіт" та "Міко" на основі плодових тіл та міцелію *L. edodes*, *G. Frondosa* та інших видів базидіальних грибів, "Мікотон" – з використанням плодових тіл *Fomes fomentarius*.

Далі автор більш детально описує гриб *Ganoderma lucidum* (трутовик лакований) – один з найвідоміших базидіальних грибів, який здавна використовується в медицині країн Сходу для запобігання та лікування хронічного гепатиту, хронічного бронхіту, атеросклерозу, гіпертензії, деяких онкологічних захворювань.

Протягом останніх десятиліть інтерес науковців зі всього світу до *Ganoderma lucidum* значно зріс. Збільшення кількості публікацій, присвяче-

них виду *Ganoderma lucidum* вказує на поширення і поглиблення досліджень цього гриба. При цьому, в багатьох країнах Азії, включаючи Китай, Японію та Корею, препарати з *Ganoderma lucidum* продаються в госпітальних аптеках за рецептами.

Автор приділяє більшу увагу поряд з іншими базидіальними грибами виду *Ganoderma lucidum*, як об'єкту досліджень, описаних у даній дисертаційній роботі.

Ganoderma lucidum – поширений вид, росте майже в усіх країнах світу, у тому числі й у європейських. На території країн СНД він поширений переважно у південних районах. Досить часто зустрічається на території Кавказу, Середньої Азії, Північної Америки, Африки. В Україні *Ganoderma lucidum* знайдено в Карпатах, Західному Поліссі, Ростоцько-Опільських Лісах, у Західному, Правобережному, Донецькому та Кримському Лісостепу, Гірському Криму та в Степу.

Технологія культивування гриба була розроблена у 1972 році японцем Сігеакі Морі, якому вдалося виділити культуру гриба і виростити перші плоди тіла, що дало поштовх для масового вирощування *Ganoderma lucidum* для виробництва різних продуктів. Описано два підходи для вирощування гриба.

Екстенсивний метод вирощування традиційно використовується в Китаї та Японії. Культивування при цьому проводять на коротких відрізках стовбурів дерев широколистових і дрібнолистових порід, таких як: дуб, горіх, слива, вишня, яблуня та ін. Культивування займає від 6 місяців до 2 років.

Інтенсивний метод був розроблений вченим Стаметсом у 1993 році. Він полягає у вирощуванні плодових тіл на тирсі твердих листових порід, таких як дуб або вільха в поліпропіленових пакетах або бутілках з вузьким горлом. Вирощування плодових тіл в таких умовах займає від місяця до 3х місяців.

В Україні *Ganoderma lucidum* маловідомий як культивований гриб і промислово не вирощується.

При цьому, на сьогодні кількість робіт по дослідженню фармакологічної активності біологічного вегетативного міцелію значно менша, ніж у інших країнах. На сьогоднішній день увагу дослідників привертає культивування гриба на рідких живильних середовищах – перспективний біотехнологічний метод для отримання міцеліальної біомаси, оскільки він робить можливим створення, підтримання та контроль оптимальних умов для росту гриба.

Далі більш детально наведені структурні характеристики біологічно активних полісахаридів з гриба *Ganoderma lucidum* та механізми їх імуномодулюючої дії. У більшості робіт дослідження імуномодуляторних стимулювальних властивостей водних екстрактів міцелія, плодових тіл і спор *Ganoderma lucidum* і виділених з них полісахаридів, показали, що екстракти і полісахариди значно підвищували вироблення Т-клітинами і макрофагами цитокінів: інтерлейкіну-1 β і інтерлейкіну-2, інтерлейкіну-3, інтерлейкіну-6, фактору некрозу пухлин- α (*TNF- α*) та інтерферон- γ (*IFN- γ*), а також стимулювали експресію мРНК Т-лімфоцитів та макрофагів, що свідчить про імуностимулювальну дію.

Грунтуючись на представлених даних, можна стверджувати, що пошук та розробка лікувально-профілактичних засобів природного походження, а саме з базидіальних грибів є актуальним питанням сучасної фармакології. Незважаючи на те, що кількість досліджень імуномодуляторної активності гриба *Ganoderma lucidum* з кожним роком зростає, залишається невивченим вплив нефракціонованої біомаси гриба, вирощеної методом культивування на рідких живильних середовищах, на різні ланки імунітету та морфологічні показники органів імунної системи при пероральному застосуванні.

У розділі «**Матеріали та методи**» на 20 сторінках описані загальноприйняті, стандартні методи та прилади, а також нові та модифіковані методики дослідження, які були використані в роботі. Серед них токсикологічні, фармакологічні, біохімічні, морфологічні та імунологічні методи для визначення імунотропних, імуномодуляторних та токсичних властивостей ПБГ

Ganoderma lucidum.

Автор наводить у даному розділі алгоритм, за яким були проведені експериментальні дослідження. На першому етапі були визначені оптимальні умови культивування біомаси гриба *Ganoderma lucidum*: вибір живильного середовища та фізико-хімічних факторів (температура інкубації та рівень кислотності середовища). Проведено аналітичні дослідження кількісного вмісту суми полісахаридів у отриманій біомасі гриба.

Подальші дослідження присвячені вивченню гострої та хронічної токсичності ПБГ та фармакологічним дослідженням імуотропної дії об'єкту на здорових тваринах і в умовах вторинного імунодефіциту.

На здорових тваринах досліджували вплив ПБГ на активність факторів неспецифічного (фагоцитарна активність перитоніальних макрофагів) та специфічного імунітету (бласттрансформація спленоцитів, маса та клітинність лімфоїдних органів (тимусу, селезінки) та клітинність кісткового мозку).

Оцінювали показники гуморального та клітинного імунітету. На моделі експериментального імунодефіциту у щурів досліджували вплив ПБГ у визначеній на здорових тваринах дозі на різні ланки імунної відповіді. Дослідження проводили за допомогою вищеописаних методів.

Всі використані автором методи дослідження описані детально з приготуванням розчинів, з викладенням формул для розрахунків та з описанням методів біохімічних досліджень. У фармакологічних та токсикологічних експериментах використані лабораторні білі щури-самці безпородні та лінії Вістар та білі миші-самці лінії СВА/Са. Всього використано 627 експериментальних тварин. В даному розділі описаний дизайн усіх проведених досліджень.

Значущість розбіжностей показників оцінювалася за критерієм Ст'юдента (t) (у разі нормального розподілу) або за непараметричним критерієм Вілкоксона-Манна-Уїтні (U) (у разі відмінності закону розподілу від нормального). Зміни показників при застосуванні всіх зазначених статистичних методів вважали статистично значущими з прийнятим у медикобіологічних

дослідженнях рівнем значущості понад 95% ($p < 0,05$).

Третій розділ, присвячений описанню вибору методу культивування *Ganoderma lucidum* та підбору оптимальних умов для його зростання. Автор вибирав серед живильних агаризованих середовищ різного складу: ГПДА – глюкозо-пептон-дріжджовий агар, МЕА – мальц-екстракт агар, КДА – картопляно-декстрозний агар. Оптимальним для росту міцелію *Ganoderma lucidum* 1900 було живильне середовище ГПДА, оптимальною температурою – $28 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Тому в подальших дослідженнях вирощування проводилося за даних умов. Проведені дослідження визначили температурний режим та кислотність середовища ($\text{pH}=5$) для подальших досліджень з підбору середовища для вирощування біомаси гриба *Ganoderma lucidum*.

Оптимальна кількість посівного матеріалу, необхідна для швидкого й гального росту біомаси при культивуванні на рідких живильних середовищах, становить 10% від об'єму середовища. Збільшення дози внесеного міцелію впливає негативно: прискорюється вивільнення CO_2 із середовища та підвищується його температура, що зменшує ріст біомаси.

В наших дослідженнях з вивчення росту гриба *Ganoderma lucidum* на різних середовищах використовували живильні середовища природного походження (молочну сироватку та борошно) та стандартні живильні середовища (комплексне середовище з глюкозою та амонійним азотом $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ та глюкозо-пептонне середовище з дріжджовим екстрактом (ГПД)). Інкубацію культур здійснювали при температурі $28 \pm 1^\circ\text{C}$ та $\text{pH}=5$. Як показали результати досліджень, найбільш інтенсивний ріст біомаси спостерігали на глюкозо-пептонному середовищі з дріжджовим екстрактом (ГПД).

Одним з найважливіших критеріїв якості вирощеної біомаси гриба *Ganoderma lucidum* є вміст в ньому полісахаридів. Визначення їх вмісту проводили за спектром поглинання та показниками оптичної густини продуктів гідролізу глюкози. Середній вміст полісахаридів у біомасі гриба у перерахунку на глюкозу становив 10,65%.

У четвертому розділі дисертаційної роботи наведені результати дослідження токсичності біомаси гриба *Ganoderma lucidum*. При внутрішньо шлунковому введенні ПГБ в максимальній дозі 5000 мг/кг та в менших дозах загибелі тварин (мишей, щурів) не спостерігали. Динаміка маси тіла мишей-самців та мишей-самиць всіх дослідних груп статистично не відрізнялась від контролю. В усіх досліджуваних групах мишей спостерігався достовірно значимий приріст маси тіла у порівнянні з вихідним значенням. Патоморфологічне дослідження не виявило відмінностей у розмірі, зовнішньому вигляді та взаємному розташуванні внутрішніх органів мишей.

Автор спостерігав за різними показниками стану тварин: апетит, поведінка, шерстний покрив, частота дихання, динаміка маси тіла тварин. Проведені дослідження свідчать про нешкідливість та безпечність ПГБ *Ganoderma lucidum* при одноразовому введенні в дозі 5000 мг/кг. Оскільки LD_{50} встановлена не була, дози біомаси для подальших досліджень підбиралися експериментально.

Результати вивчення хронічної токсичності ПГБ *Ganoderma lucidum*, яке тривало 6 місяців, показали, що щоденне пероральне введення ПГБ *Ganoderma lucidum* щурам не призводило до відхилень від норми в загальному стані та їх поведінці. Протягом досліджуваного періоду тварини були активними та рухливими, добре приймали їжу та воду, реагували на зовнішні подразники, хутро залишалось чистим і гладким, калові маси були оформлені. Протягом експерименту маса тіла щурів всіх груп рівномірно збільшувалася. Загибелі тварин протягом експерименту не спостерігалося.

Дані хронічного експерименту показали відсутність токсичного впливу при тривалому введенні ПГБ *Ganoderma lucidum* у дозах 0,5 мг/кг, 5 мг/кг, 50 мг/кг та 500 мг/кг білим нелінійним щурам на показники функціонального стану печінки, нирок, показників ліпідного обміну та антиоксидантної системи.

Введення біомаси *Ganoderma lucidum* у дозах 0,5 мг/кг, 5 мг/кг, 50 мг/кг та 500 мг/кг білим нелінійним щурам протягом 3 місяців приводило до

зниження рівня холестерину крові на 15,57% ($p < 0,05$), 29,15% ($p < 0,05$), 22,94% ($p < 0,05$) та 19,51% ($p < 0,05$) відповідно від вихідних значень. Через 6 місяців експерименту при застосуванні біомаси в дозах 0,5 мг/кг, 5 мг/кг, 50 мг/кг та 500 мг/кг рівень холестерину був на 17,64% ($p < 0,05$), 25,19% ($p < 0,05$), 21,56% ($p < 0,05$) та 22,17% ($p < 0,05$) відповідно нижчим від вихідних значень, що може свідчити про наявність у досліджуваного об'єкту гіпохолестеринемічного ефекту.

П'ятий розділ власних досліджень Підченка Віталія Тарасовича присвячений описанню результатів, отриманих при дослідженні імунотропної активності біомаси гриба *Ganoderma lucidum*.

Як було зазначено в розділі «Матеріали і методи» ці дослідження проведені на здорових лабораторних тваринах. Для встановлення наявності імунотропної дії досліджуваного лікарського засобу оцінювали його вплив на гуморальний імунітет (В-клітинний імунітет) та клітинний імунітет (Т-клітинний імунітет), фактори неспецифічного імунітету, а також активність факторів, що беруть участь у специфічному імунітеті. Дозування ПБГ проводили в тих же дозах, що і дослідження хронічної токсичності: 0,5 мг/кг, 5 мг/кг, 50 мг/кг і 500 мг/кг маси тіла.

Щоденне пероральне введення ПБГ *Ganoderma lucidum* в дозі 5 мг/кг мишам лінії СВА/Са протягом 30 діб приводило до збільшення фагоцитарної активності перитонеальних макрофагів, зокрема спостерігалось збільшення ФА на 32,14%, ФЧ 25,58% та ФІ на 6,25% порівняно з контрольною групою тварин. При застосуванні доз 0,5 мг/кг, 50 мг/кг та 500 мг/кг спостерігалось зменшення кількості макрофагів у перитонеальному ексудаті, але функціональна активність останніх залишалась на рівні контролю.

У групі мишей, які отримували ПБГ у дозі 0,5 мг/кг не було відмічено негативного впливу як на вагові показники та клітинність лімфоїдних органів, так і на кількісний склад формули крові. Введення вказаної дози збільшувало кількість лейкоцитів на 81,25%, порівняно з контрольною групою тварин. Проліферативна активність на введення ФГА та КонА залишалась на

рівні контролю, але була нижчою при введенні ЛПС. Застосування ПБГ *Ganoderma lucidum* у дозі 500 мг/кг приводило до зниження вагових показників і клітинності лімфоїдних органів, кількості еритроцитів в периферичній крові, а також знижувало проліферативну активність спленоцитів на введення Т- і В-мітогенів.

Введення ПБГ *Ganoderma lucidum* у дозі 0,5 мг/кг не викликало змін у гістологічній будові селезінки та тимусу. Співвідношення білої та червоної пульпи селезінки достовірно не змінювалось в порівнянні з контрольною групою тварин. При цьому, спостерігалась тенденція до збільшення середнього розміру лімфатичного острівця порівняно зі всіма групами. В групі тварин, які отримували ПБГ *Ganoderma lucidum*, була відмічена міграція тимоцитів у периферичну кров, що може свідчити про активацію реакцій клітинного імунітету.

Дослідження впливу ПБГ *Ganoderma lucidum* на гуморальну імунну відповідь встановило, що щоденне пероральне введення біомаси протягом 30 діб мишам лінії СВА/Са у дозах 0,5 мг/кг, 5 мг/кг та 50 мг/кг призводило до значного збільшення кількості АУК на введення Т-залежного антигену (еритроцити барана). Найбільш інтенсивне збільшення даного показника спостерігалось при застосуванні біомаси у дозі 0,5 мг/кг, оскільки відносна кількість АУК в селезінці збільшувалась у 4,12 разу, абсолютна – в 5,1 разу порівняно з контрольною групою. При введенні ПБГ *Ganoderma lucidum* у означеній дозі також відзначалось збільшення рівня антитіл в крові: рівень ГЛ збільшувався на 32,86%, рівень ГА – на 48,94% порівняно з контрольною групою тварин.

Пероральне щоденне введення мишам лінії СВА/Са ПБГ *Ganoderma lucidum* у дозі 0,5 мг/кг протягом 30 діб призводило до посилення реакції ГПТ, що може свідчити про імуномодуляторний вплив досліджуваної біомаси на клітинний імунітет.

Шостий розділ присвячений дослідженню імуномодуляторної активності біомаси гриба *Ganoderma lucidum* на моделі експериментального імунодефіциту.

Для встановлення імуномодуляторної активності ПБГ *Ganoderma lucidum* необхідним є доведення його здатності змінювати імунну реактивність організму в залежності від її вихідного стану, а саме, властивість підвищувати знижені показники імунітету. Тому, метою даного розділу роботи автор визначив дослідження впливу ПБГ *Ganoderma lucidum* на первинну гуморальну імунну відповідь, клітинну імунну відповідь, фактори неспецифічного та специфічного імунітету при експериментальному моделюванні вторинного імунодефіциту. У дослідженнях застосовували циклофосфамід (ЦФ) як імуносупресант. Досліджуваний засіб ПБГ вводили внутрішньошлунково в дозі 0,5 мг/кг, що була встановлена в попередніх дослідженнях імуностимулюючої дії ПБГ у здорових тварин як найбільш ефективна за імуностимулюючою дією.

Проведені дослідження дали змогу встановити, що введення ПБГ *Ganoderma lucidum* у дозі 0,5 мг/кг перорально протягом 10 діб мишам лінії СВА/Са з модельованим вторинним імунодефіцитом приводило до достовірного збільшення (у 7,4 разу) кількості перитонеальних макрофагів майже до показників контрольної групи. Застосування означеної дози біомаси відновлювало фагоцитарну активність макрофагів (ФА збільшувалась в 1,4 разу, ФІ – в 1,2 разу), відновивши вказані показники майже до показників здорового контролю.

При експериментальному імунодефіциті введення ПБГ *Ganoderma lucidum* викликало відновлення вагових показників та клітинності лімфоїдних органів: маса тимуса зростала в 1,5 рази, індекс заселення тимусу – в 7 разів, кількість лімфоїдних клітин в тимусі – в 10,5 разу, кількість лімфоїдних клітин у селезінці – в 1,5 рази, кількість ядровмісних клітин в стегновій кістці – в 1,9 разу. В умовах гематотоксичної дії ЦФ пероральне введення ПБГ *Ganoderma lucidum* у дозі 0,5 мг/кг чинило нормалізуючий вплив на кі-

лькість еритроцитів в периферичній крові та формулу крові мишей лінії СВА/Са на рівні референтного препарату.

Застосування порошку біомаси гриба *Ganoderma lucidum* мишам лінії СВА/Са з індукованою імунною недостатністю достовірно відновлювало порушення проліферативної активності спленоцитів у відповідь на введення В- і Т-клітинних мітогенів.

За умов модельованого імунодефіциту введення мишам лінії СВА/Са порошку біомаси гриба *Ganoderma lucidum* призводило до відновлення показників гуморальної та клітинної імунної відповіді. Відносна та абсолютна кількість АУК в селезінці зростала в 2,1 разу, рівень ГЛ в сироватці крові збільшувався в 6,7 разу, рівень ГА – в 2,4 разу. Індекс реакції ГПТ збільшувався на 37,18%.

Отримані дані можуть свідчити про імуномодуляторний вплив ПБГ *Ganoderma lucidum* у дозі 0,5 мг/кг на гуморальний та клітинний імунітет. Про це свідчать також фактори неспецифічного імунного захисту, зокрема фагоцитоз, та фактори, що беруть участь у специфічному імунітеті.

У розділі «**Аналіз та узагальнення результатів**» автор чітко викладає результати усіх проведених досліджень, що повністю вимальовує безпечність та імуномодулюючу активність ПБГ *Ganoderma lucidum*. Результати фармакологічного та токсикологічного вивчення ПБГ *Ganoderma lucidum* стали обґрунтуванням для проведення подальших досліджень з метою впровадження даного об'єкту як лікарського засобу з імуностимулюючою дією, що може застосовуватись при вторинних імунодефіцитах. При написанні цього розділу автор продемонстрував наукову ерудицію, аналітичне мислення та здатність робити висновки.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність

Дисертація Підченка В.Т. виконана на сучасному науковому рівні із залученням адекватних методів дослідження. При проведенні досліджень використано достатню кількість лабораторних тварин. Наукові положення і ви-

сновки дисертаційної роботи засновані на методичних принципах, що відповідають поставленим завданням, є експериментально обґрунтованими і логічно впливають з отриманих результатів. Репрезентативність первинних даних підтверджує достовірність отриманих результатів, достатню кількість експериментальних досліджень, оброблених з використанням відповідних методів статистики. Висновки, наведені у дисертаційній роботі, теоретично і експериментально обґрунтовані. Фактичний матеріал досить повно ілюстрований таблицями і рисунками. Достовірність результатів не викликає сумнівів, оскільки базується на достатній кількості сучасних інформативних методів дослідження з використанням коректної статистичної обробки цифрового матеріалу. Усі теоретичні узагальнення і висновки дисертації базуються на результатах власних досліджень і повністю відображають закономірності, виявлені в процесі визначення умов вирощування гриба, визначення його якості (вміст полісахаридів) та вивчення його безпеки та імуномодулюючої дії.

Зазначене дає підставу вважати, що наукові положення та висновки дисертації Підченка В.Т. є цілком обґрунтованими, узгодженими з метою і завданнями дослідження.

Наукова новизна одержаних результатів Вперше встановлена імуномодуляторна активність та нешкідливість досліджуваної біомаси гриба *Ganoderma lucidum* (штам 1900), отриманої методом культивування на глюкозо-пептонному живильному середовищі з дріжджовим екстрактом.

Вивчення гострої токсичності порошку біомаси гриба (ПБГ) *Ganoderma lucidum* за умов внутрішньошлункового введення встановило належність досліджуваної біомаси до речовин IV класу токсичності – речовини малотоксичні. Визначена ефективна доза порошку біомаси гриба *Ganoderma lucidum* – 0,5 мг/кг, введення якої приводило до підвищення активності показників як гуморальної, так і клітинної імунної відповіді інтактних тварин.

Вперше встановлено, що пероральне введення порошку біомаси гриба в дозі 0,5 мг/кг протягом 10 діб мишам лінії СВА/Са з модельованим вторин-

ним імунодефіцитом (викликане введенням циклофосфаміду) викликає відновлення фагоцитарної активності перитонеальних макрофагів. Застосування ПБГ *Ganoderma lucidum* в дозі 0,5 мг/кг сприяло також відновленню показників гуморального та клітинного імунітету. Встановлено, що введення означеної дози ПБГ *Ganoderma lucidum* чинило нормалізуючий вплив на вагові показники та клітинність лімфоїдних органів тварин з модельованим вторинним імунодефіцитом.

Практичне значення одержаних результатів. Одержані в дисертаційній роботі експериментальні дані є обґрунтуванням безпеки та виразної імуномодуляторної активності ПБГ *Ganoderma lucidum in vivo*. Експериментально обґрунтована доцільність створення на основі біомаси гриба *Ganoderma lucidum* лікувально-профілактичного засобу для перорального застосування для корекції імунного статусу при вторинних імунодефіцитних станах різної етіології. Отримані в роботі дані можуть бути використані для подальших доклінічних і клінічних досліджень та рекомендацій щодо використання ПБГ в медичній практиці.

Практичне значення результатів дослідження підтверджується 3 патентами України на корисні моделі (№ 97452; 99004; 101556). За результатами дослідження розроблена оригінальна методика культивування лікарського гриба *Ganoderma lucidum* штаму 1900 та впроваджена в умовах малосерійного виробництва в науково-виробничій фірмі ТОВ «МікотекФарм». Результати роботи впроваджені в науково-педагогічний процес кафедри клінічної фармації ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» (протокол № 10 від 18.05.2016 р.), кафедри фармакології Івано-Франківського національного медичного університету (протокол № 5 від 16.12.2015 р.), кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» (протокол № 6 від 30.12.2015 р.), кафедри фармакології з клінічною фармакологією ДВНЗ «Тернопільський державний меди-

чний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» (протокол № 6 від 9.12.2015 р.).

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих роботах і в авторефераті

За матеріалами дисертації опубліковано 19 наукових праць: 10 статей, серед яких 4 – у фахових наукових виданнях, рекомендованих МОН України, 2 – у зарубіжних наукових фахових виданнях; 3 патенти України на корисну модель, 6 тез доповідей.

Автореферат за змістом відповідає суті дисертаційної роботи і в ньому відображені головні її положення.

Недоліки дисертації та автореферату по їх змісту та оформленню

Істотні недоліки в дисертаційній роботі та авторефераті не виявлені. Робота написана логічно з дотриманням існуючих вимог щодо структури, змісту та технічного оформлення, хоча і не позбавлена деяких непринципових недоліків та дискусійних моментів:

1. В роботі зустрічаються помилки та невдалі вирази.
2. Поряд з помилками зустрічаються русизми.

Під час ознайомлення з дисертаційною роботою виникли деякі дискусійні питання до автора:

1. На основі яких аргументів облік росту біомаси *Ganoderma lucidum* Ви проводили на 6 та 16 добу після посіву?
2. Вміст полісахаридів у біомасі вирощеного Вами гриба *Ganoderma lucidum* склав 10,65% у перерахунку на глюкозу, за даними літератури цей показник як можна оцінити, як низький чи достатній для промислового використання?
3. Чому полісахариди виявляють імуностимулюючу дію? Які особливості їх структури забезпечують їм антигенні властивості?

Висновки

Дисертація Підченка Віталія Тарасовича «Експериментальне обґрунтування імуномодуляторної активності та нешкідливості порошку біомаси гри-

ба *Ganoderma lucidum* (CURT.:FR.) P.KARST» є закінченою, самостійною науково-дослідною роботою.

Робота містить нові, раніше незахищені науково обґрунтовані положення з фармакології, які в сукупності слід розглядати як суттєвий внесок у вирішення актуальної науково-практичної задачі з фармакології, що полягає в експериментальному обґрунтуванні перспективності нового об'єкту біомаси гриба *Ganoderma lucidum* для подальшого вивчення з метою створення нового конкурентоспроможного імуномодулятора, що відповідає сучасним вимогам до цього класу препаратів.

За актуальністю, науковою новизною, практичним значенням, а також обсягом досліджень, дисертаційна робота Підченка Віталія Тарасовича «Експериментальне обґрунтування імуномодуляторної активності та нешкідливості порошку біомаси гриба *Ganoderma lucidum* (CURT.:FR.) P.KARST», представлена 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 відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою кабінету міністрів України від 24.07.2013р. №567(зі змінами), а дисертант заслуговує присудження йому наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 - фармакологія.

Офіційний опонент,
зав. кафедрою фармакоекономіки НФаУ,
докт. фарм. наук, проф.

Л. В. Яковлева

Підпис проф. Л.В. Яковлевої ЗАСВІДЧУЮ
Нач. ВК НФаУ

З.Ф. Подстрелова

