

Відгук
офіційного опонента, завідувача кафедри фармакогнозії
Одеського національного медичного університету
доктора медичних наук, професора
Рожковського Ярослава Володимировича
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. Сучасна профілактика та фармакотерапія стресових розладів в організмі, традиційно заснована на пріоритетному застосуванні передусім депримуючих засобів, зокрема класичних транквілізаторів бензодіазепінового ряду, не завжди враховує той факт, що більшість з них здатні самостійно пригнічувати окремі ланки імунологічної резистентності, підсилюючи тим самим індуковану стресом імносупресію. Це призводить до грубих деструктивних розладів адаптивних процесів і суттєво погіршує віддалені наслідки перенесеного стресу. Одним з перспективних підходів у вирішенні проблеми фармакологічної корекції стресових розладів імунітету могло б бути застосування засобів, молекулярно-біохімічні механізми дії яких здатні імітувати, захищати, або підсилювати природні нейроендокринні системи захисту організму та водночас позитивно впливати на регуляцію імунних функцій організму. Цим вимогам цілком могли б відповідати препарати, створені на основі лікарської рослинної сировини з відомими антистресовими і імунорегулюючими властивостями, які підвищують резистентність організму до дії екстремальних факторів передусім шляхом активації природних неспецифічних механізмів захисту. До того ж, у зв'язку зі своєю

безпекою ці фітозасоби, на відміну від традиційних стрес-протекторів, можуть використовуватись серед широкого контингенту населення.

Зважаючи на це, дисертаційна робота Шаріфова Х.Ш., присвячена дослідженню стреспротекторних та імунотропних властивостей густого екстракту перспективної сировини - персика звичайного є безперечно актуальною, оскільки обґрунтовує створення нового перспективного фітозасобу з стреспротекторною і імунокоригуючою активністю.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана в рамках затвердженої МОЗ України НДР Національного фармацевтичного університету «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956).

Обсяг та структура дисертації

Дисертаційна робота традиційно складається з анотації, що викладена українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», 4-х розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел, який включає 249 найменувань (163 кирилицею, 86 латиницею). Робота ілюстрована 23 рисунками та 22 таблицями. Обсяг основного тексту дисертаційної роботи складає 154 сторінки.

В додатках наведені, акти впровадження результатів дослідження в освітньо-науковий процес, патент на корисну модель, інформаційний лист.

Основний зміст дисертації та його оцінка

Вступ характеризується загальноприйнятим порядком викладення матеріалу. На початку автор ґрунтовно охарактеризував актуальність обраної теми, про що свідчать посилання літератури, які підтверджують збільшення потреби фармацевтичного ринку в стреспротекторах з імунокоригуючими властивостями. Далі логічно зроблено перехід до засобів рослинного походження, які є перспективними для пошуку нових стреспротекторів. Доречно акцентовано, що зусилля фармакологів направлені на створення нових фітопрепаратів стреспротектор-

ної та імунотропної дії перш за все на основі БАР рослин, що мають доступні і багаті сировинні ресурси. Однією з таких рослин є персик звичайний.

У вступі також чітко сформульовані мета та завдання дослідження, наукова новизна та практичне значення отриманих результатів. Наведено інформацію щодо публікацій та апробації результатів досліджень.

Огляд літератури присвячений висвітленню підходів до фармакологічної корекції стресових порушень препаратами рослинного походження. У цьому розділі автор висвітлює патогенетичні механізми порушень, спричинені стресом, та можливості їхньої корекції фітопрепаратами. Пошукувач робить висновок, що сучасна медицина активно використовує для лікування наслідків стресу фітопрепарати, зокрема адаптогени, седативні засоби та антиоксиданти. В огляді літератури автор також ґрунтовно розкриває питання щодо можливих шляхів фармакологічної корекції порушень імунної системи з використанням різних препаратів, наводить класифікацію та загальну характеристику сучасних імунотропних засобів в залежності від спрямованості їхньої дії. Окремо розглянуті питання раціонального застосування засобів рослинного походження та вказані переваги імунотропних фітопрепаратів перед іншими групами стрес- та імунокоректорів. В огляді літератури також надана характеристика складу біологічно активних речовин, які містяться в листях персика, зосереджена увага на фенольних сполуках, які, як відомо, мають широкий спектр фармакологічних ефектів, що й стало підставою для створення густого екстракту та дослідження його фармакологічних властивостей.

У розділі «**Матеріали та методи дослідження**» автор детально описує всі використані експериментальні моделі та методи дослідження фармакологічні, біохімічні, токсикологічні, гістологічні, методи математичної статистики та обґрунтовує вибір препаратів порівняння.

Результати власних досліджень наведені автором в чотирьох розділах.

У **третьому розділі** дисертації наведені результати скринінгових досліджень з вибору ефективної дози та вивчення гострої токсичності кустого екстракту листя персика (ГЕЛП). У скринінгових дослідженнях встановлено, що ГЕЛП

підвищує витривалість тварин у тесті «статичне навантаження» і найбільшу актопротекторну дію виявив у дозі 100 мг/кг, яка була визначена як умовно ефективна та використана для подальших досліджень.

За результатами вивчення гострої токсичності було встановлено, що ГЕЛП у дозі 5000 мг/кг не спричиняв загибелі тварин, не впливав негативно на стан внутрішніх органів, що характеризує його як малотоксичну речовину (IV клас токсичності, $LD_{50} > 5000$ мг/кг) відповідно до класифікації К. К. Сидорова (1973).

У **четвертому розділі** висвітлені результати досліджень стреспротекторної дії ГЕЛП в умовах хронічного іммобілізаційного стресу за станом інтегральних показників гіпоталамо-гіпофізарно-надниркової системи; метаболічних процесів, антиоксидантної системи і перекисного окиснення ліпідів, а також за аналізом поведінкових реакцій щурів в тестах «відкрите поле» та «піднесений хрестоподібний лабіринт».

На тлі дії ГЕЛП встановлено зниження ступеня виразкового пошкодження шлунка, гіпертрофії надниркових залоз та інволюції тимуса. Це свідчить про його стреспротекторні властивості, які були підтверджені і результатами гістологічних досліджень. При цьому за виразністю стреспротекторної дії ГЕЛП за більшістю показників не поступався препарату порівняння.

На тлі застосування ГЕЛП відбувалась нормалізація окремих показників вуглеводного, ліпідного обміну, балансу показників оксидантної і антиоксидантної системи та зниження інтенсивності цитолітичних процесів.

Автором в умовах хронічного іммобілізаційного стресу за результатами тесту «піднесений хрестоподібний лабіринт» показана наявність у ГЕЛП анксиолітичної активності, а також встановлена відсутність надмірної стимулюючої компоненти в тесті «відкрите поле», на відміну від препарату порівняння «Імуно-Тон», який в умовах експерименту таку дію виявив.

У **п'ятому розділі** дисертантом наведені результати порівняльного дослідження впливу ГЕЛП і сиропу «Імуно-Тон» на морфологічні зміни тимуса і селезінки, фагоцитарну активність крові, динаміку гематологічних змін у тварин в

умовах хронічного іммобілізаційного стресу, а також особливості дії ГЕЛП на окремі показники імунологічної реактивності за умов *in vitro*.

Гістологічно доведено на тлі дії ГЕЛП в умовах стресу спостерігається суттєве зниження інволюції органів тиміко-лімфатичної системи, більш активна і прискорена стабілізація фагоцитарної активності крові, зниження лейкоцитозу, рівня циркулюючих імунних комплексів і величини лейкоцитарних індексів до меж фізіологічної норми. За здатністю відновлювати поглинальну функцію поліморфноядерних лейкоцитів та зниженням ендогенної інтоксикації ГЕЛП статистично перевершував препарат порівняння «Імуно-Тон». При цьому в досліджах *in vitro* автором встановлена дозозалежність імуотропної 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 sIgA та активність ендогенних цитотоксичних клітин.

У шостому розділі наведені результати дослідження впливу ГЕЛП на продукцію цитокінів імунокомпетентними клітинами піднебінних мигдалин, на перебіг гострого запального процесу та стан мембран еритроцитів.

Встановлено, що у культурі клітин піднебінних мигдалин ГЕЛП не змінював вміст протизапальних цитокінів ІЛ-4, ІЛ-10 і ІФН- γ і одночасно знижував продукцію прозапальних цитокінів ІЛ-1. На моделі гострого карагенінового набряку лапи шурів ГЕЛП виявив помірну протизапальну активність в дозі 50 мг/кг протягом перших чотирьох годин та в дозі 100 мг/кг тільки на п'яту годину, що свідчить про дозозалежність протизапального ефекту ГЕЛП. У цьому ж розділі автором також на моделі спонтанного гемолізу еритроцитів встановлена помірною мембраностабілізуюча активність ГЕЛП, за виразністю якої цей фітозасіб не поступається токоферолу і перевершує аналогічний ефект препарату «Імуно-Тон».

Аналіз та узагальнення результатів викладені у відповідності з послідовністю завдань роботи та окремих розділів дослідження. Ознайомлення з цим розділом створює уявлення про цілісність і завершеність виконаної роботи, а також

про володіння автором сучасними знаннями з наукової проблеми фармакологічної корекції стресових та пов'язаних з ним порушень імунної системи і про сформовані компетентності щодо цієї проблеми.

Стиль викладу власних результатів досліджень чіткий, що дозволило дисертанту систематизувати отриманий матеріал і зробити науково обґрунтовані висновки, які відповідають поставленій меті і завданням дисертаційної роботи.

Список використаних джерел літератури містить 249 посилань, оформлений за чинними вимогами, 56 % наведених публікацій датовано останніми 10 роками, 20 % – останніми 5 роками.

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

Дисертація Шаріфова Х. Ш. виконана на сучасному науковому рівні із використанням адекватних методів дослідження, достатньої кількості лабораторних тварин і визначенням інформаційних релевантних показників. Достовірність отриманих результатів підтверджує репрезентативність первинних даних, достатня кількість експериментальних досліджень, оброблених з використанням коректної статистичної обробки цифрового матеріалу. Фактичний матеріал достатньо ілюстрований таблицями і рисунками. Наукові положення і висновки дисертаційної роботи засновані на методичних принципах, що відповідають поставленим завданням, є теоретично і експериментально обґрунтованими і логічно випливають з отриманих результатів. Усі теоретичні узагальнення і висновки дисертації базуються на результатах власних досліджень і відбивають закономірності, виявлені в процесі проведених експериментів.

Усе вищенаведене дає підставу вважати, що наукові положення та висновки дисертаційної роботи Шаріфова Х. Ш. є цілком обґрунтованими, узгодженими з метою і завданнями дослідження.

Наукова новизна одержаних результатів

У роботі вперше теоретично обґрунтована та експериментально доведена наявність акто-, стреспротекторного та імунокоригуючого ефектів ГЕЛП, що є

підґрунтям для подальших доклінічних досліджень з метою створення сучасного ефективного фітозасобу та його впровадження в клінічну практику.

Показано, що у реалізації стреспротекторного та імунокоригуючого ефектів ГЕЛП важливу роль відіграють цитокіномодуляторні, антиоксидантні та мембраностабілізуючі властивості. Вперше встановлені молекулярні механізми стрес- та імунопротекторної дії ГЕЛП.

В тестах *in vitro* автором вперше виявлений дозозалежний характер імуноотропної дії ГЕЛП: здатність у вищих концентраціях знижувати кількість життєздатних імунокомпетентних клітин, а у нижчих – не впливати на них, не гальмувати експресію поверхневих антигенів (CD4, CD25, CD16, CD95) лімфоцитів, підвищувати продукцію sIgA та активність ендогенних цитотоксичних клітин.

Показано, що здатність знижувати продукцію прозапальних цитокінів ІЛ-1 не впливати на утворення протизапальних цитокінів ІЛ-4, ІЛ-10, ІФН- γ , а також стабілізувати клітинні мембрани є механізмами реалізації стреспротекторної, імунокоригувальної та протизапальної дії ГЕЛП.

Практичне значення одержаних результатів

Дисертантом експериментально обґрунтована доцільність подальшого дослідження ГЕЛП як перспективного фітозасобу актопротекторної, стреспротекторної та імунокоригуючої дії.

Результати дисертаційного дослідження впроваджено у навчальний та науковий процес кафедри фармакології Буковинського державного медичного університету; кафедри фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського; а також 2 кафедр ВНЗ Республіки Таджикистан: фармакології Таджикиського державного медичного університету імені Абуалі Ібн Сіно та фармацевтичної технології і біотехнології Таджикиського національного університету, а також в науковий процес Інституту експериментальної і клінічної медицини Національного медичного університету імені О. О. Богомольця

За результатами дисертаційної роботи видано інформаційний лист № 186–2017 «Застосування екстракту листя персика як цитокіномодулятора в комплексній терапії інфекційно-запальних захворювань» та отримано патент України на корисну модель: «Лікарський засіб з імунотропною активністю».

Результати дисертаційної роботи, як фрагмент звіту з доклінічного вивчення ГЕЛП, були використані при підготовці нормативно-технічної документації для реєстрації густого екстракту з листя персика як лікарського засобу в ТОВ «Тиб барои шумо» (Республіка Таджикистан) та при розробці проекту інструкції з клінічного застосування (офіційний лист про це, наведений у додатку).

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих роботах і в авторефераті

Матеріали дисертаційної роботи у повній мірі відображені у 6 статтях, 3 з яких опубліковані у фахових виданнях, рекомендованих МОН України та 3 статті – у закордонних наукових виданнях, 11 тезах доповідей на науково-практичних конференціях і з'їздах, отримано патент України на корисну модель, видано інформаційний лист. Основні положення дисертації оприлюднені на 9 наукових форумах різного рівня, в тому числі міжнародних.

Автореферат за змістом відповідає суті дисертаційної роботи і в ньому віддзеркалені 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 недоліків та дискусійних моментів:

1. Можливе уточнення і зменшення кількості завдань дисертації, деякі з них можна було б поєднати.
2. Зважаючи, що каталаза є внутрішньоклітинним ферментом, доцільно визначати її активність не тільки в сироватці крові, а в еритроцитах та окремих органах, оскільки характер зміни активності цього ферменту в різних органах

може додатково свідчити про інтенсивність цитолітичних процесів в організмі.

3. Не дуже коректним для порівняння фармакологічних ефектів є вибір дози препарату порівняння «ІмуноТон» в (мл/кг) з відповідною дозою ГЕЛП в (мг/кг).

Разом з тим, наведені зауваження принципово не впливають на позитивну оцінку дисертаційної роботи.

У плані наукової дискусії хотілося б почути думку дисертанта з наступних питань:

1. Чому вибір умовно-ефективної дози ГЕЛП, був проведений за актопротекторною активністю?
2. У дисертаційній роботі досліджено вплив ГЕЛП на окремі показники імунної системи за умов хронічного іммобілізаційного стресу. Чи є доцільним дослідження впливу ГЕЛП на стан імунної системи у здорових тварин?

Висновки

Дисертація Шаріфова Хуршеда Шералійовича «Експериментальне дослідження фармакологічних властивостей екстракту з листя персика звичайного» є закінченою, самостійною науково-дослідною роботою, яка містить нові, раніше незахищені науково обґрунтовані положення з фармакології, що вирішують актуальну проблему фармакології, яка полягає в оптимізації фармакотерапії стресових та пов'язаних з ними порушень імунної системи шляхом застосування густого екстракту з листя персика – ефективного і безпечного фітопрепарату стрепротекторної та імунокоригуючої дії.

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.

Завідувач кафедри фармакогнозії

Одеського національного

медичного університету МОЗ України,

д. мед. н., професор

Підпис проф. Я. В. Рожковського засвідчую

