

## ВІДГУК

офіційного опонента доктора біологічних наук  
Сківки Лариси Михайлівни на дисертаційну роботу  
Підченка Віталія Тарасовича «Експериментальне обґрунтування  
імуномодуляторної активності та нешкідливості порошку біомаси гриба  
*Ganoderma lucidum* (CURT.:FR) P.KARST», представлену на здобуття  
наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук  
зі спеціальності 14.03.05 – фармакологія

### **Актуальність обраної теми та зв'язок з науковими програмами.**

Розробка імуномодуляторних засобів залишається одним з пріоритетних питань біомедичної науки з двох основних причин. По-перше, з огляду на те, що зміни імунної реактивності є патогенетичним чинником багатьох захворювань людини і тварин, застосування імуномодуляторів у комплексному лікуванні низки хвороб розглядається як компонент патогенетичної терапії. По-друге, завдяки хронічній експозиції ксенобіотиками, стресовим впливами та з інших причин функціонування імунної системи у багатьох людей знаходиться на межі декомпенсації або навіть у декомпенсованому стані і потребує корекції. Особлива увага приділяється розробці імуномодуляторів природного походження з гомеостатичною дією. Основною причиною тут є той факт, що природні імуномодулятори реалізують біологічну дію із залученням еволюційно створених рецептор-лігандних взаємодій, тобто їх вплив є таргетним. Крім того, вони не створюють, на відміну від синтетичних імуномодуляторів, небезпеку тривалого і необоротного порушення імунного гомеостазу та порушення функціонування інших фізіологічних систем. Гомеостатичний характер модуляторного впливу дозволяє коригувати з використанням цих препаратів як гіпо-, так і гіперреактивність імунної системи. Вище зазначене свідчить на користь актуальності тематики дисертаційної роботи, що рецензується. 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.

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

Достовірність та об'єктивність результатів дисертаційної роботи ґрунтується на достатньому об'ємі експериментальних досліджень. У роботі присутні всі необхідні компоненти для експериментального обґрунтування імуномодуляторної активності порошку біомаси гриба *Ganoderma lucidum* (CURT.:FR) P.KARST: підбір умов культивування для обраного штаму гриба, характеристика полісахаридного компоненту біомаси міцелію, оцінка імуотропності біологічної дії отриманого біопрепарату з аналізом його впливу як на вроджену, так і на адаптивну ланки імунітету, характеристика модуляторного впливу біопрепарату на імунну реактивність в умовах експериментально створеного імунодефіциту. Дисертантом логічно визначено основні етапи досліджень. Порівняльна оцінка умов культивування досліджуваного вищого гриба дозволила автору досягти задовільного виходу полісахаридної фракції у складі його міцеліальної біомаси. Зосередження уваги при аналізі складу порошку біомаси міцелію *Ganoderma lucidum* (CURT.:FR) P.KARST саме на полісахаридній фракції є цілком обґрунтованим, зважаючи на те, що однією із задач дослідження був аналіз його впливу на імунну реактивність в умовах імунодефіцитного стану. З літературних даних відомо дві основні групи біологічно активних медіаторів *Ganoderma lucidum*: полісахаридної і тритерпенової природи. Тритерпенові сполуки вищих грибів, у тому числі й *Ganoderma lucidum*, більшою мірою характеризуються імносупресивною, антипроліферативною та цитотоксичною дією. Біопрепарати на основі тритерпенових фракцій вищих грибів застосовуються з метою корекції гіперреактивності імунної системи, або як антипроліферативні чинники. Полісахариди вищих грибів здатні чинити потужний стимуляторний вплив на імунну систему. З огляду

на це вони можуть розглядатися як перспективні засоби корекції гіпореактивності імунної системи. Обраний дизайн імунологічних досліджень забезпечив всебічний аналіз імуотропності біологічної дії створеного біопрепарату. Дослідження, проведені із застосуванням експериментальної моделі імунодефіциту виявили, що розроблений імуномодуляторний засіб спричиняє відновлення як гуморальної, так і клітинної ланки імунної системи. Модуляторний вплив препарату на клітинний імунітет - важлива характеристика для імуномодуляторного препарату, оскільки клітинні імунні реакції складають основу імунної резистентності організму до вірусних захворювань, інфекційних хвороб, викликаних мікроорганізмами-внутрішньоклітинними паразитами, і є найбільш вагомим компонентом протипухлинної резистентності.

Слід зазначити, що роботи з експериментальними тваринами дисертантом проводились із дотриманням Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (від 21.02.2006 р.) відповідно до норм Європейської конвенції із захисту хребетних тварин при їх використанні у експериментах та інших наукових цілях (Страсбург, 18 березня 1986 р. ETS N 123), а також принципів біоетики та норм біологічної безпеки, що засвідчено висновком комісії з біоетики.

Таким чином, достовірність отриманих автором результатів не викликає сумніву, оскільки забезпечена достатньою кількістю експериментальних досліджень, використанням сучасних високоінформативних методів дослідження та математичного аналізу і підтверджена аналогічними результатами, одержаними вітчизняними і зарубіжними авторами – Довгий Р.С. та ін. (2014), Xu Z. et al. (2011), Lai C.Y. et al. (2010), Wang J. et al. (2013).

**Наукова новизна положень, результатів та висновків дисертаційної роботи.**

Дисертаційна робота Підченка В.Т. має значну наукову новизну, яка полягає у вирішенні важливого наукового завдання - експериментального обґрунтування доцільності застосування порошку біомаси гриба *Ganoderma*

*lucidum* (CURT.:FR) P.KARST як імуномодуляторного засобу. Автором уперше розроблено оптимальну технологію культивування *Ganoderma lucidum* (CURT.:FR) P.KARST, яка дозволяє у короткий термін отримати значну кількість біомаси порошку міцелію гриба з високим вмістом полісахаридної фракції. За результатами токсикологічних досліджень доведено нешкідливість розробленого препарату для організму лабораторних тварин. Результати імунологічних досліджень дають нове уявлення про механізми реалізації імуотропної біологічної дії розробленого біопрепарату. Вперше показано, що застосування порошку біомаси *Ganoderma lucidum* (CURT.:FR) P.KARST спричиняє активацію міграції тимоцитів на периферію. Розширено існуючі уявлення про характер імуномодуляторної дії біологічно активних медіаторів *Ganoderma lucidum* в умовах імуносупресії, відмітною особливістю якого є статистично вірогідна активація реакцій вродженого та адаптивного клітинного імунітету.

#### **Практичне значення отриманих результатів.**

Розроблено перспективний біопрепарат, на основі якого можливе створення лікарських засобів та харчових добавок з імуномодуляторною активністю, встановлено дозу розробленого препарату з максимальним імуностимуляторним ефектом. На основі результатів дисертаційного дослідження розкрито питання про характер і спрямованість імуномодуляторної дії суми біологічно активних речовин культивованого міцелію *Ganoderma lucidum* (CURT.:FR) P.KARST. Отримані дані можуть також бути використані в учбовому процесі підготовки спеціалістів у галузі фармакології, імунології, ботаніки, дієтології тощо. Практичну цінність роботи засвідчують три охоронних документи.

#### **Повнота викладу основних результатів у наукових фахових виданнях.**

Результати дисертаційного дослідження Підченка В.Т. достатньою мірою оприлюднені на вітчизняних і зарубіжних наукових форумах та опубліковані у фахових періодичних виданнях (загальна кількість статей 6), у

тому числі й тих, що індексовані у міжнародних наукометричних базах даних.

### **Загальна характеристика роботи.**

Дисертаційна робота написана літературною українською мовою з використанням професійної лексики, викладена на 195 сторінках і має традиційну структуру: складається зі вступу, огляду тематичної літератури, розділу «Матеріали і методи досліджень», чотирьох розділів власних даних, розділу, присвяченого аналізу та узагальненню отриманих результатів, висновків та списку використаної літератури. Дисертація проілюстрована великою кількістю таблиць і рисунків, що значно полегшує сприйняття матеріалу.

У **вступі** автор детально висвітлює сучасний стан проблеми, що вивчається, і обґрунтовує необхідність та актуальність проведених досліджень.

У розділі, присвяченому **огляду тематичної літератури**, автор всебічно аналізує стан проблеми, що досліджується. Для цього у роботі наведено дані стосовно сучасного стану розробки імуномодуляторних засобів з їх класифікацією та оглядом препаратів, представлених на фармацевтичному ринку України. Автором всебічно висвітлено світовий досвід культивування *Ganoderma lucidum*, а також сучасний стан розробки лікарських препаратів на основі цього вищого гриба. Розглянуто особливості хімічної природи біологічно активних речовин *Ganoderma lucidum* та особливості фармакодинаміки і застосування цих препаратів.

В цілому, огляд літератури засвідчує ґрунтовну теоретичну підготовку дисертанта з проблеми, що досліджується, і справляє позитивне враження.

У розділі **«Матеріали і методи досліджень»** наведено описи методичних підходів, застосованих автором для проведення дисертаційного дослідження. Вибір методичної стратегії передбачав включення методик для характеристики вродженого і адаптивного імунітету, що дозволило всебічно охарактеризувати імуноотропний вплив досліджуваного перпарату.

Експериментальна модель набутого імунодефіциту є максимально наближеною за патогенезом і клінічною картиною до вторинних імунодефіцитних станів людини. Застосовані дисертантом методи є абсолютно адекватними поставленій меті, сучасними і достатньо інформативними. Методи статистичного аналізу отриманих даних обрані з урахуванням особливостей їх розподілу і також адекватні поставленим задачам.

**Результати власних досліджень** викладені автором у чотирьох наступних розділах. У **першому розділі** наведено результати підбору умов культивування *Ganoderma lucidum*. Для створення оптимальних умов культивування з метою забезпечення максимального виходу біологічно активних речовин досліджуваного вищого гриба дисертантом проведено порівняльне вивчення важливих фізико-хімічних чинників (температури і рН), а також компонентів поживного середовища.

У **другому розділі власних даних** автор наводить результати дослідження гострої та хронічної токсичності порошку біомаси міцелію *Ganoderma lucidum*. Всі експерименти проведено відповідно до методичних рекомендацій для доклінічного дослідження лікарських засобів за редакцією О.В.Стефанова.

У **третьому розділі власних даних** наведені результати дослідження імунотропності біологічної дії біомаси гриба *Ganoderma lucidum*. У цьому розділі включено дані з оцінки ендоцитарної активності перитонеальних фагоцитів – важливого показника імунної реактивності у реакціях проти позаклітинних паразитів, до яких належать збудники інфекційних захворювань бактеріальної етіології та збудники паразитарних інфекцій. Оцінка цитоморфологічних показників первинних і вторинних лімфоїдних органів дозволила отримати уявлення про генералізовану реакцію імунної системи на введення досліджуваного біопрепарату, а також виявити і охарактеризувати дозову залежність імуномодуляторного впливу порошку біомаси вищого гриба. Аналіз популяційного складу лейкоцитів периферичної

крові засвідчив відсутність системної запальної реакції і підтвердив виявлену здатність досліджуваного препарату спричиняти активацію реакцій адаптивного клітинного імунітету. Додатковим доказом цього феномену було описане автором збільшення площі лімфатичних острівців (зародкових центрів) – осередків активації Т-залежного антитілогенезу. Гомеостатичний характер імуномодуляторного впливу досліджуваного препарату ілюструється показниками мітоген-індукованої проліферації Т- і В-лімфоцитів і титрами гемолізинів та гемаглютининів у тварин після його введення.

Зниження мітоген-індукованої проліферативної активності одночасно зі збільшенням титру антитіл вказує на здатність порошку біомаси гриба *Ganoderma lucidum* стимулювати диференціювання В-клітин на плазмоцити. Така властивість досліджуваного біопрепарату дозволяє розглядати його як перспективний засіб для посилення ефективності вакцинних препаратів.

У **четвертому розділі власних даних** наведені результати дослідження імуномодуляторної дії біомаси гриба *Ganoderma lucidum* в умовах експериментального імунодефіциту. Для проведення досліджень, наведених у цьому розділі автором застосовано ті ж самі методичні підходи, які використовувалися у розділі оцінки імунотропної дії порошку біомаси гриба *Ganoderma lucidum*. Це дозволило провести адекватне порівняння модуляторної дії досліджуваного біопрепарату в умовах нормальної і пригніченої імунної реактивності організму. Слід відмітити вдало обрану лінію інбредних тварин СВА/Са. На відміну від багатьох інших ліній тваринам лінії СВА/Са не властиві як генетично детерміновані вади імунної реактивності, так і здатність до гіперсенсibiliзації. Результати цього розділу власних даних переконливо ілюструють здатність досліджуваного біопрепарату відновлювати порушену цитостатичним препаратом вроджену і адаптивну (специфічну) імунну реактивність тварин. Слід також відмітити вдало обраний препарат порівняння. По-перше, препаратом ехінацеї на основі надземної частини рослини властива гомеостатична

імуномодуляторна дія. По-друге, одним з основних конститuentів з імуномодуляторною дією у складі таких препаратів ехінації є полісахариди. По-третє, саме препарати ехінацеї входять у тріаду імуномодуляторних препаратів природного походження, які рекомендовані європейською спілкою фахівців з імунології та алергології для застосування в умовах вторинного (набутого) імунодефіциту.

У наступному розділі «Аналіз і узагальнення результатів» автор наводить трактування отриманих даних із залученням до аналізу сучасних літературних джерел. Цей розділ написаний дуже професійно і засвідчує здатність дисертанта до творчого аналізу результатів проведених досліджень. При обговоренні можливих молекулярних механізмів активації клітин імунної системи порошком біомаси гриба *Ganoderma lucidum* автор наводить дані про патерн-розпізнавальні мембранні рецептори, котрі взаємодіють з біополімерами вищих грибів – тол-подібні рецептори. Обговорюється також важлива група нещодавно відкритих патерн-розпізнавальних лектинових рецепторів та dectin-1 і -2. Це засвідчує глибоку обізнаність автора щодо досліджуваного питання.

Висновки відображують усі основні положення дисертаційної роботи. Вони науково обґрунтовані та впливають з отриманих результатів.

Слід зазначити, що основна частина зауважень, що виникли на попередньому етапі апробації, автором врахована та виправлена, хоча у представленому до офіційного захисту рукописі дисертаційної роботи зустрічаються деякі стилістичні помилки і неточності.

Усі зазначені зауваження не впливають на якість дисертаційної роботи і не стосуються її концепції.

Зміст автореферату ідентичний змісту рукопису дисертаційної роботи. Автореферат достатньо ілюстрований та містить всі наукові положення і висновки дисертаційного дослідження.

Принципових зауважень щодо змісту та оформлення дисертації немає, проте в порядку дискусії до автора виникло декілька питань:



1. Чому як об'єкт для оцінки впливу досліджуваного препарату на вроджений клітинний імунітет Вами були обрані саме перитонеальні макрофаги?
2. Чим обумовлений спосіб уведення досліджуваного препарату?

### Висновок

Дисертаційна робота Підченка Віталія Тарасовича «Експериментальне обґрунтування імуномодуляторної активності та нешкідливості порошку біомаси гриба *Ganoderma lucidum* (CURT.:FR) P.KARST» є завершеною науковою працею з актуальної проблеми фармакології та прикладної імунології, у якій отримані новітні науково-обґрунтовані дані, котрі мають фундаментальну і практичну цінність, а також у сукупності надають нове вирішення наукового завдання – експериментального обґрунтування доцільності застосування порошку біомаси гриба *Ganoderma lucidum* (CURT.:FR) P.KARST як імуномодуляторного засобу. За актуальністю, новизною, практичним значенням, ступенем оприлюднення та загальним науковим рівнем робота повністю відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою КМУ від 24.07.2013 р. № 567 (із змінами), які висуваються до кандидатських дисертацій, а її автор, Підченко Віталій Тарасович, заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія.

Завідувач кафедри мікробіології  
та імунології ННЦ «Інститут біології та медицини»  
Київського національного університету  
імені Тараса Шевченка,  
доктор біологічних наук



Сківка Л.М.

Підпис Л.М.Сківки засвідчую  
Заступник директора ННЦ  
«Інститут біології та медицини»



(Сквітченко Н.В.)