ВІДГУК

офіційного опонента доктора фармацевтичних наук, професора, завідувачки кафедри клінічної фармакології ІПКСФ Національного фармацевтичного університету Міщенко Оксани Яківни на дисертацію **Дуб Анастасії Ігорівни** за темою «Експериментальне обґрунтування антидіабетичної активності нової фітокомпозиції», що подана до Спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті на здобуття вченого ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія

Актуальність теми дисертації.

У всьому світі відбувається невпинне збільшення поширеності цукрового діабету (ЦД). За даними Міжнародної Діабетичної Федерації чисельність пацієнтів із ЦД у світі на 1 січня 2018 р. перевищила 425 млн, а за прогнозом на 2030 р. сягне 643 млн. У всьому світі приблизно один з одинадцяти дорослих мають ЦД, а близько 90 % серед них – ЦД 2 типу. У хворих на ЦД розвиваються ускладнення, які часто призводять до їх передчасної смерті. ЦД 2 типу є результатом взаємодії між генетичними, екологічними та поведінковими факторами ризику. Ожиріння вважається найважливішим фактором розвитку метаболічних порушень, адже доведено, що жирова тканина впливає на метаболізм, збільшуючи секрецію таких речовин як лептин, цитокіни, адипонектин та інші прозапальні агенти. Додатковими факторами, що підвищують ризик ЦД 2 типу, є також старіння населення, обтяжений сімейний анамнез, фізична бездіяльність, недосипання, зростаюча популярність висококалорійних та солодких продуктів.

ЦД 2 типу є захворюванням зі складним багатофакторним патогенезом. Основними патогенетичними механізмами вважаються порушення секреції інсуліну та інсулінорезистентність, проте вченими розкриваються і нові механізми, що спричиняють хронічну гіперглікемію при ЦД 2 типу: порушення секреції інсуліну; інсулінорезистентність (найбільше значення має інсулінорезистентність м'язів, печінки, жирової тканини);

знижений інкретиновий ефект (інкретини – гормони шлунково-кишкового тракту, що виробляються у відповідь на прийом їжі і викликають стимуляцію секреції інсуліну, найбільше значення має глюкагоноподібний пептид-1 і глюкозозалежний інсулінотропний поліпептид); порушення секреції глюкагону − гормону, синтезованого в α-клітинах підшлункової залози, що протистоїть своїми ефектами дії інсуліну; підвищена реабсорбція глюкози в нирках (внаслідок підвищеної активності натрій-глюкозних котранспортерів 2 типу (НГЛТ-2), локалізованих переважно в проксимальних відділах ниркових канальців). Впродовж останніх років також обговорюється роль у патогенезі ЦД 2 типу імунної дисрегуляції, хронічного запалення, змін мікробіоти.

Багато досліджень демонструють зв’язок між оксидативним стресом та ЦД та із його ускладненнями: серцево-судинними, печінковими, нефрологічними та офтальмологічними. Таким чином, фармакотерапія направлена на корекцію оксидативних порушень є доцільною у сучасній ендокринології. За останні роки для лікування ЦД було розроблено багато нових пероральних синтетичних препаратів, однак, їх використання обмежене через високу вартість, небажані побічні ефекти, низьку ефективність щодо запобігання розвитку діабетичних ускладнень та обмежену доступність у багатьох країнах.

Фітопрепарати, що містять велику кількість фенольних сполук, які є природними антиоксидантами та, на відміну від синтетичних гіпоглікемічних засобів, здатні виявляти мембраностабілізувальну, цитопротекторну та регенеративну активність на β-клітини панкреатичних острівців, є вагомим доповненням до комплексної терапії ЦД 2 типу та для його профілактики. Перевагами фітопрепаратів є полімодальний вплив, що є дуже важливим для впливу на різні патологічні механізми формування інсулінорезистентності, гіперглікемії та корекції ускладнень ЦД.

Враховуючи вищенаведене, дисертаційна робота, яка присвячена дослідженню новоствореної фітокомпозиції (ФК), що містить сухі екстракти листя шовковиці білої, стулок квасолі звичайної та пагонів чорниці звичайної,

є вельми актуальною.

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

Дисертаційна робота є фрагментом комплексної міжкафедральної науково-дослідної роботи Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України в рамках тем «Маркетингові, фармакоекономічні та технологічні дослідження із створення лікарських засобів» (№ держреєстрації 0115U001530, 2015-2020 рр.), «Дослідження із створення лікарських засобів направленої дії, їхньої стандартизації, маркетингового і фармакоекономічного аналізу, фармакологічної і клінічної активності» (№ держреєстрації 0120U002194, 2020-2023 рр.), в яких автор є співвиконавцем.

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

Положення дисертаційної роботи ґрунтуються на результатах експериментів, виконаних на 270 нелінійних статевозрілих щурах. Формування експериментальних груп, відбір тварин, підбір методик обґрунтовані, відповідають поставленим меті та завданням. Кількість тварин є достатньою для обґрунтування результатів та підтвердження їх достовірності. У процесі роботи здобувачем використано адекватні фармакологічні, токсикологічні, біохімічні, гістологічні та статистичні методи дослідження. Цифрові дані оброблені методами варіаційної статистики, що дозволяють вважати виконані дослідження вірогідними. Наукові положення і висновки обґрунтовані, випливають з поставлених завдань і отриманих результатів дослідження. Наукова робота виконана на сучасному науково-методичному рівні у відповідності до положень з біоетики, що підтверджено комісією з біоетики Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського (на етапі планування: витяг з протоколу № 32 від 25.11.2015 р. та завершальному етапі:

витяг з протоколу № 55 від 04.11.2019 р.). Отримані дисертантом результати достатньо оприлюднені в матеріалах наукових форумів та наукових виданнях.

Наукова новизна одержаних результатів.

У дисертаційній роботі проведено фармакологічні дослідження сухих екстрактів листя шовковиці білої (*Morus alba* L.), стулок квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris* L.), пагонів чорниці звичайної (*Vaccinium myrtillus* L.) та вперше розробленої на їх основі нової ФК. Експериментально обґрунтована доцільність її застосування, ефективність та безпека, гіпоглікемічні, гіполіпідемічні та антиоксидантні властивості для корекції метаболічних порушень при ЦД 2 типу, інсулінорезистентності та метаболічного синдрому. За результатами скринінгових досліджень за умов орального тесту толерантності до глюкози (ОТТГ) встановлено умовно-ефективну дозу ФК. Досліджено гостру токсичність сухих екстрактів і ФК та встановлено, що вони належать до V класу токсичності за класифікацією К. К. Сидорова – практично нетоксичні речовини. Доведено, що досліджувана ФК за здатністю зменшувати рівень постпрандіальної глікемії в ОТТГ, а також за здатністю стабілізувати показники порушеного вуглеводного і ліпідного обміну, за ефективністю корегувати оксидантно-антиоксидантний баланс та за своїм органопротекторним впливом на печінку та підшлункову залозу за умов експериментального ЦД типу 2, а також на моделі дексаметазонової інсулінорезистентності та метаболічного синдрому у тварин перевершує активність препарату порівняння – рослинного збору «Арфазетин» та не поступається, а за деякими показниками перевищує активність референс-препарату метформіну.

Наукова новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель за № 130960 UA, 2019 р. «Спосіб одержання сухого екстракту стулок квасолі звичайної з гіпоглікемічною дією».

Практичне значення одержаних результатів.

Робота є експериментальним дослідженням, у якому доведена ефективність нової ФК на експериментальних моделях гіперліпідемії,

інсулінорезистентності, метаболічного синдрому та ЦД 2 типу, що визначає доцільність створення на її основі нових лікарських препаратів з метою оптимізації фармакотерапії метаболічного синдрому та ЦД 2 типу.

Результати дослідження впроваджено в науково-педагогічний процес на 6 профільних кафедрах ВНЗ України та в роботу центральної науково-дослідної лабораторії Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України. Апробація результатів роботи проведена на 17 наукових форумах різного рівня.

Основний зміст дисертації та його оцінка.

Дисертаційна робота Дуб Анастасії Ігорівни структурована у відповідності до вимог МОН України. Вона складається зі вступу, анотацій українською та англійською мовами, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи досліджень», трьох розділів власних експериментальних досліджень, розділу «Аналізу та узагальнення результатів дослідження», висновків, списку використаних джерел літератури та додатків.

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

У *вступі* викладено актуальність наукового напрямку, мета і завдання, наукова новизна і практична значущість отриманих результатів та описано особистий вклад дисертанта у виконання дисертаційної роботи, перераховано наукові заходи, де проведена апробація результатів роботи, наведені кількість публікацій за матеріалами дисертації, її об’єм і структура.

Огляд літератури обсягом 33 сторінки складається з трьох підрозділів. Розділ написаний на високому науково-методичному рівні з базуванням на сучасних джерелах наукової літератури.

Перший підрозділ (обсягом 11 сторінок) присвячений сучасним аспектам патогенезу метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу.

У другому підрозділі (обсягом 9 сторінок) автор висвітлює сучасні аспекти фармакотерапії терапії цукрового діабету 2. Охарактеризовано основні класи пероральних антигіперглікемічних препаратів: бігуанідів,

похідних сульфонілсечовини, меглітинідів, тіазолідиндіонів, інгібіторів дипептидилпептидази-4, інгібіторів натрієвого котранспортера глюкози та інгібіторів α-глюкозидази з точки зору їх ефективності, безпеки, місця та ролі при лікуванні ЦД типу 2 та його ускладнень, інсулінорезистентності, метаболічного синдрому.

У третьому підрозділі (обсягом 13 сторінок) огляду літератури наведені можливості фармакотерапії метаболічних порушень препаратами рослинного походження, де більшою мірою висвітлена фармакологічна активність, зокрема, гіпоглікемічна на різних експериментальних моделях діабету, інсулінорезистентності та метаболічного синдрому біологічно активних речовин шовковиці білої (*Morus alba* L.), квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris* L.) та чорниці звичайної (*Vaccinium myrtillus* L.). У результаті проведеного огляду літератури автор висновує доцільність створення полікомпонентної фітокомпозиції антидіабетичної дії саме на основі цих рослин.

У *розділі "Матеріали та методи дослідження"*, який структурований на підрозділи та викладений на 13 сторінках, описані методи дослідження, використані автором. Розділ дає уяву про об'єм, структуру та послідовність досліджень, дещо деталізований описами хімізму реакцій. Автором використано наступні методи досліджень: фармакологічні, біохімічні, гістологічні, статистичні.

Результати власних досліджень автором наведені у 5 розділах, що викладені на 86 сторінках.

У третьому розділі дисертації наведено результати досліджень зі встановлення дозозалежності їх гіпоглікемічного ефекту та з підбору оптимальних кількостей екстрактів для створення нової ФК та встановлення дозозалежності її гіпоглікемічного ефекту, а також дослідження гіполіпідемічної активності на моделі твінової гіполіпідемії та ефективності ФК на моделі інсулінорезистентності, індукованої введенням дексаметазону, та вивчення гострої токсичності сухих екстрактів рослин та фітокомпозиції.

За результатами дослідження встановлено умовно-ефективну дозу сухих екстрактів та ФК за умов проведення орального тесту толерантності до глюкози (ОТТГ) на нормоглікемічних щурах: для сухого екстракту листя шовковиці білої – 200 мг/кг, сухого екстракту стулок квасолі звичайної – 75 мг/кг, сухого екстракту пагонів чорниці звичайної – 50 мг/кг, фітокомпозиції на їх основі – 165 мг/кг. Визначено, що сухі екстракти та ФК при внутрішньошлунковому введенні належать до V класу – практично нетоксичні речовини (LD_{50} > 5000 мг/кг). Також показано виражену гіполіпідемічну дію сухих екстрактів та ФК на моделі твінової гіперліпідемії у щурів, про що свідчить достовірне зниження рівня загальних ліпідів, загального холестеролу, триацилгліцеролів та позитивні зміни у фракційному складі холестеролу: достовірне зростання ХС ЛПВЩ, зниження ХС ЛПНЩ і як наслідок зниження коефіцієнта атерогенності.

На моделі дексаметазонової інсулінорезистентності встановлено, що ФК гальмує розвиток резистентності до інсуліну та толерантності до вуглеводів.

Четвертий розділ авторка присвятила дослідженню ефективності ФК на експериментальній моделі метаболічного синдрому, викликаного високофруктозною дієтою. Було проведено дослідження стану вуглеводного обміну, ліпідного спектру крові, маркерних показників холестазу та загальної інтоксикації, показників антиоксидантного захисту та пероксидного окиснення ліпідів, а також проведено гістологічне дослідження морфоструктури печінки та підшлункової залози. Встановлена здатність ФК знижувати підвищений рівень глюкози у крові після «глюкозного навантаження» та підвищувати чутливість до інсуліну, знижувати вираженість гіперліпідемії, покращувати функціональний стан печінки, зменшувати ендогенну інтоксикацію, корегувати баланс системи ПОЛ/АОС. У результаті гістологічних досліджень встановлено зменшення ураження підшлункової залози, печінки та посилення регенерації їх структурних елементів на тлі дії ФК.

П'ятий розділ присвячений вивченню специфічної активності ФК на експериментальній моделі ЦД типу 2, індукованого введенням стрептозотоцину та нікотинаміду. Було проведено дослідження стану вуглеводного обміну, ліпідного спектру крові, маркерних показників холестазу та загальної інтоксикації, показників антиоксидантного захисту та перокисного окиснення ліпідів, а також проведено гістологічне дослідження печінки та підшлункової залози. Була експериментально доведена антидіабетична активність ФК за зниженням базальної глікемії, а також за зниженням глікемії за умов ОТТ, за проявом інсуліносенсибілізуючої активності у короткому інсуліновому тесті, здатністю знижувати реакцію до катехоламінів в адреналіновому тесті, за гіполіпідемічним впливом, за проявом антицитолітичного ефекту на гепатоцити, що підтверджено зниженням активності маркерних ферментів цитолізу, за зниженням інтенсивності ендогенної інтоксикації та катаболізму, що підтверджено зниженням вмісту молекул середньої маси, а також за здатністю відновлювати баланс антиоксидантного захисту та процесів ПОЛ. Гістологічно підтверджено, що за умов ЦД 2 типу застосування ФК сприяє відновленню гепатоцитів та зменшенню дистрофічних змін панкреатоцитів.

Розділ «Аналіз та узагальнення результатів досліджень» викладений автором на 26 сторінках. Обговорення результатів проведено логічно з висвітлення проблеми і ключових компонентів патогенезу метаболічного синдрому та ЦД 2 типу, проаналізовано та зіставлено одержані у різних розділах результати, наведено аналіз досліджень антидіабетичної активності та механізму дії окремих біологічно активних речовин, що містить ФК. Автор вміло залучає для обговорення і аргументації отриманих результатів та зроблених висновків сучасні дані наукової літератури, що дало можливість зробити всебічний і глибокий аналіз.

Автором сформульовано *сім загальних висновків,* які відповідають меті та поставленим завданням дослідження, логічно витікають з отриманих

результатів і обґрунтовані та аргументовані статистичним аналізом, що характеризує високий методичний рівень та завершеність роботи.

Список літератури оформлений згідно з чинними вимогами, містить 366 посилань (з них 228 – латиницею та 138 – кирилицею), що свідчить про широту проведеного автором літературного пошуку та аналізу сучасного стану досліджуваної проблеми. Літературні джерела за останні 10 років становлять 83%, а за останні 5 років − понад 40% наведеного переліку.

Повнота викладу наукових положень дисертації в наукових працях.

Основні положення дисертаційної роботи викладені у 28 наукових працях, зокрема у 8 статтях (із них 7 опубліковані у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 1 – у зарубіжному фаховому виданні), 1 патенті України на корисну модель, 19 тезах доповідей.

Публікації охоплюють усі розділи дисертаційної роботи.

Ідентичність змісту автореферату та основних положень дисертації.

Автореферат відповідає дисертації за змістом та структурою, оформлений відповідно до чинних вимог.

Істотні недоліки в дисертаційній роботі та авторефераті не виявлені. Робота написана грамотно, логічно з дотриманням існуючих вимог щодо структури, змісту та технічного оформлення.

У результаті ознайомлення з дисертацією маю висловити певні зауваження:

1. зустрічаються поодинокі граматичні і технічні помилки (зокрема на стор. 96 «активості» замість активності; невдалі стилістичні вирази, наприклад, препарат «володіє» активністю, коли коректно виявляє активність, дію;
2. не проведено аналіз статистичної значущості відмінностей рівня глікемії в динаміці розвитку патології у групі контрольної патології та і в інших групах, щоб дало змогу стверджувати про розвиток патології (табл. 4.1, модель метаболічного синдрому, індукованого високофруктозною дієтою, стор. 111).

При ознайомленні з дисертаційною роботою виникли запитання, які доцільно обговорити в ході наукової дискусії:

1. Чому в дослідженні не були використані такі маркерні показники інсулінорезистентності як рівень глікованого гемоглобіну, індекс HOMA?
2. У роботі було розраховано співвідношення СОД/каталаза. Про що воно свідчить?
3. Чи є переваги фітокомпозиції за вираженістю гіпоглікемічної дії над окремими її складовими?
4. Який механізм антидіабетичної дії нової фітокомпозиції Ви можете припустити?
5. В якій лікарській формі планується впровадження фітокомпозиції?

Відповідність дисертації встановленим вимогам.

Дисертаційна робота Дуб Анастасії Ігорівни за темою: «Експериментальне обґрунтування антидіабетичної активності нової фітокомпозиції» є завершеним науковим дослідженням і за актуальністю, новизною, практичною значущістю отриманих результатів, ступенем обґрунтованості висновків відповідає чинним вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами), до дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 - фармакологія.

Опонент,
зав. кафедри клінічної фармакології ІПКСФ НФаУ
д. фарм. н., проф. Міщенко О. Я.

Підпис д. фарм. н., проф. Міщенко О. Я. засвідчую:
Провідний спеціаліст ВК ІПКСФ НФаУ Присіч О. Г.

Національний фармацевтичний університет Інститут післядипломного навчання кваліфікації спеціалістів фармації №02010936 місто Харків