

ВІДГУК

*на дисертаційну роботу Цеменко Карини Володимирівни на тему «Експериментальне вивчення фармакологічних активностей екстрактів з листя брусници звичайної (*Vaccinium vitis-idaea*)», подану до спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті МОЗ України на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія, 22 – охорона здоров'я*

Актуальність теми дисертації. Інфекції сечовивідних шляхів в теперішній час відносяться до однієї з найважливіших проблем сучасної медицини і практики охорони здоров'я, залишаючись серйозною проблемою в урології. Важливe клінічне значення визначається їх поширеністю, труднощами діагностики в певних вікових групах хворих (діти, літні люди), несприятливим впливом на здоров'я і працездатність, великими економічними витратами на діагностику та лікування. Традиційна терапія інфекційно-запальних захворювань сечовивідних шляхів включає застосування антибіотиків. Лікування сучасними синтетичними антибактеріальними засобами часто супроводжується вираженими побічними реакціями, а ефективність більшості з них, як правило, має тенденцію до зниження. Тому, актуальним залишається пошук та створення високоефективних і безпечних рослинних препаратів з уроантисептичними властивостями. Увагу наукового керівника та автора роботи привернула брусниця звичайна (*Vaccinium vitis-ideaea*), яка містить в своєму складі поліфенольні сполуки, прості феноли, флавоноїди, гідроксикоричні та органічні кислоти, полісахариди та інші БАР, які обумовлюють виражені антибактеріальні, діуретичні, протизапальні, уроантисептичні властивості тощо. Але аналіз сучасних рослинних лікарських препаратів і дієтичних добавок, що містять сировину з листя брусници звичайної, свідчить про недостатність їх на українському фармацевтичному ринку, що обумовило актуальність в подальшому поглибленному дослідження фармакологічних властивостей та створенню більш зручних нових модифікованих галенових та новогаленових препаратів з листя брусници звичайної. На кафедрі фармакогнозії НФаУ (м. Харків) під керівництвом професора О. М. Кошового були одержані 13 нових модифікованих галенових та новогаленових фітосубстанцій з листя брусници звичайної, що стало підставою для експериментального вивчення їх фармакодинаміки та безпеки з перспективою рекомендації до подальших досліджень та застосування лікарських засобів для лікування інфекційно-запальних захворювань сечовивідних шляхів.

Таким чином, метою досліджень дисертаційної роботи Цеменко К.В. стало експериментальне обґрунтування доцільності розробки нових модифікованих галенових та новогаленових лікарських засобів з листя брусници звичайної як ефективних уроантисептичних засобів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Робота виконана в межах науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету з проблеми МОЗ України «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (№ держреєстрації 0114U000956), у яких дисертант є співвиконавцем.

Оцінка змісту дисертації та її оформлення. Дисертаційна робота складається з анотації українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, розділу матеріалів та методів дослідження, 4 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел літератури (199 посилань, з них найменувань, з них 86 кирилицею, 109 – латиницею). Обсяг основного тексту дисертації складає 153 сторінки друкованого тексту. Робота проілюстрована 22 таблицями, 15 рисунками. Оформлена дисертація відповідає вимогам, затверджених Наказом МОН України № 40 від 12.01.2017 р.

Вступ містить дані щодо актуальності теми, мети та завдання дослідження, об'єкту і предмету дослідження, методів дослідження, наукової новизни, практичного значення, особистого внеску здобувача, апробації результатів дисертації, обсягу і структури, публікації.

Огляд літератури присвячений аналізу сучасних аспектів етіології, епідеміології, патогенезу, лікуванню та профілактиці рецидивів інфекцій сечовивідних шляхів.

Посилаючись на дані доказової медицини дисертант констатує, що інфекційно-запальний процес у сечовивідних шляхах нерідко рецидивує, описує недоліки та побічні ефекти традиційної терапії інфекцій сечовивідних шляхів, яка полягає в призначенні антибактеріальних препаратів. Дисертант наводить перспективні напрямки пошуку нових рослинних лікарських засобів з полімодальним впливом, приділяючи особливу увагу створенню високоефективних комбінацій фітосубстанцій збагачених амінокислотами, зокрема аргініном. Автор приділяє особливу увагу аналізу фармацевтичного ринку рослинних лікарських препаратів з листя брусници звичайної, що свідчить про недостатність їх на українському фармацевтичному ринку. Все це обумовило актуальність в подальшому пошуку та вивченю фармакологічних властивостей препаратів з листя брусници звичайної, створених на кафедрі фармакогнозії НФаУ під керівництвом О.М.

Кошового, що дозволить розширити номенклатуру вітчизняних рослинних лікарських засобів.

В розділі «**Матеріали і методи дослідження**» наведений дизайн дослідження і характеристика методів, які були застосовані дисертантом для досягнення поставленої мети. Дослідження проведено на достатній кількості тварин (на 588 білих нелінійних щурах, 48 миших обох статей та 40 хом'ячках), що утримувались відповідно до санітарно-гігієнічних норм (Guide for the care and use of laboratory animals, 2011). Експерименти були проведені згідно вимог Європейської конвенції з захисту лабораторних тварин (Страсбург, 1986 р.), Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження», що засвідчено висновком Комісії з питань біоетики НФаУ (протокол № 4 від 15.04.2015 р. та протокол № 2 від 04.11.2019 р.).

Третій розділ дисертації присвячений скринінговим дослідженням нових модифікованих галенових та новогаленових фіtosубстанцій, виявленню фіtosубстанції-лідера та визначенню її умовно-терапевтичної дози.

У цьому розділі автор проводила вивчення антибактеріальної активності 13 нових модифікованих галенових і новогаленових фіtosубстанцій методом дифузії в агар у лабораторії біохімії мікроорганізмів та живильних середовищ Інституту мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова під керівництвом к. біол. н. Осолодченко Т.П. і встановила найбільшу активну фіtosубстанцію №12, яка представляє собою комплекс глікозидів фенольних сполук з амінокислотою аргінін, яка чинить антибактеріальну дію з показником середньої активності і виявляє максимальний ефект щодо основного уropатогену *E.coli* (діаметр зони затримки росту дорівнював 18 мм, $p<0,05$).

Вивчення діуретичної активності досліджуваних фіtosубстанцій також виявило наявність у них діуретичної дії в інтервалах доз 25-100 мг/кг на рівні 45-207%, окрім субстанції 4 (полісахаридний комплекс), яка виявила антидіуретичний ефект. Згідно проведеного скринінгового дослідження діуретичної активності найбільш виражений лінійний дозозалежний діуретичний ефект мала фіtosубстанція № 12, яка в дозах 25 мг/кг, 50 мг/кг, 75 мг/кг та 100 мг/кг вірогідно збільшувала діурез через 4 години експерименту на рівні 83 %, 109 %, 201 %, 207 % відповідно ($p<0,05$). Результати дослідження діуретичної активності обґрунтували вибір фіtosубстанції №12 (комплекс глікозидів фенольних сполук з листя брусници звичайної в комбінації з аргініном) як фіtosубстанції-лідера з усього переліку досліджуваних фіtosубстанцій, які дали умовну назву «КГФА» з умовно-терапевтичною дозою 100 мг/кг. Також у цьому ж розділі дисертантом досліджено специфічну діуретичну активність та встановлений ймовірний механізм, який лежить в

підвищенні екскреції ендогенного креатиніну в групі, яка отримувала КГФА, що може свідчити про зростання ШКФ за рахунок посилення ниркового кровообігу.

Четвертий розділ присвячений вивченню параметрів гострої та хронічної токсичності фітосубстанції-лідера. Досліджено гостру токсичність КГФА та встановлено клас токсичності фітосубстанції-лідера. Згідно з токсикологічною класифікацією К. К. Сидорова КГФА вона належить до VI класу токсичності.

Проведено вивчення хронічної токсичності КГФА при внутрішньошлунковому введенні щурам. Встановлено, що введення КГФА щурам протягом 3 міс. не викликає суттєвих порушень функціонального стану органів, не спровокає токсичного впливу на загальнотрофічні процеси та не викликає у експериментальних тварин помітних морфологічних змін у стані досліджених органів.

П'ятий розділ присвячений дослідження спектру фармакологічної активності фітосубстанції-лідера. Досліджено протизапальну активність КГФА в умовно-терапевтичній дозі на двох моделях карагенінового та зимозанового набряків. Отримані дані дають підставу стверджувати про реалізацію протизапальної дії КГФА шляхом гальмівного впливу на медіатори запалення – біогенні аміни, кініни, лейкотрієни і меншою мірою – простагландини.

Досліджено аналгетичну активність в тесті «гаряча пластина», та на моделі «оцтовокислих корчів». Встановлено, що в реалізації аналгетичної активності КГФА задіяні периферичний та центральний механізми.

Проведено вивчення впливу КГФА на реактивність щурів у тестах «відкрите поле» та «піднесений хрестоподібний лабіринт». Встановлено, що КГФА не впливає на поведінку та вегетативні прояви емоційних реакцій тварин у тесті «відкритого поля», та слабкий анксиолітичний ефект у тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт».

Доведено, що КГФА у дозі 100 мг/кг за курсового введення виявляє антигіперглікемічні властивості та коригував прояви інсульнорезистентності та толерантності клітин до глюкози.

Шостий розділ присвячений дослідження уроантисептичного ефекту фітосубстанції-лідера у щурів на моделі інфекції сечовивідних шляхів на фоні кріогенного впливу. Уроантисептичну дію фітосубстанції-лідера вивчали на експериментальній моделі, що була спричинена гострим холодовим стресом, оскільки гостре переохолодження, що приводить до розвитку запального процесу в тканині нирок, є частою клінічною ситуацією. З усіх існуючих, модель ІСШ з холодовим стресом відтворюється без технічних труднощів та за етіопатогенезом, клінічним перебігом і лабораторними показниками дана модель є ідентичною запальному процесу в

сечовивідних шляхах, що спостерігається у людини. Доведено, що КГФА у дозі 100 мг/кг виявила уроантисептичний ефект, який був сильнішим за препарат порівняння Інурек та сприяв більш швидкому зникненню титру колонієутворюючих мікроорганізмів в 1 мл сечі приблизно на 2 доби раніше ніж у групі, яка отримувала препарат рослинного походження Інурек та зникненню лейкоцитурії на 3 доби раніше порівняно з групою, яка отримувала терапію препаратом порівняння Інурек.

Аналіз та узагальнення результатів. Дисертант підсумовує отримані результати, наведені у попередніх розділах дисертації. Висновки узагальнюють результати власних досліджень, є обґрутованими та цілком логічними, що свідчить про досягнення поставленої мети та завдань роботи. Отже, дисертаційну роботу можна вважати завершеною, яка заслуговує позитивної оцінки.

Список використаних джерел оформленний згідно чинних вимог, містить 199 посилань, з них найменувань, з них 86 кирилицею, 109 – латиницею). Обсяг основного тексту дисертації складає 153 сторінки друкованого тексту. Робота проілюстрована 22 таблицями, 15 рисунками.

Наукова новизна отриманих результатів. У дисертаційній роботі автором вперше досліджено фармакологічні властивості 13 нових модифікованих галенових та новогаленових фітосубстанцій з листя брусници звичайної, виявлено фітосубстанцію-лідер, яка містить комплекс глікозидів фенольних сполук в комбінації з амінокислотою аргініном, вивчено спектр фармакологічних активностей даної фітосубстанції та обґрутована перспективність подальшого вивчення її з метою створення нового ефективного та безпечного вітчизняного уроантисептика з полімодальним впливом для лікування та профілактики інфекцій сечовивідних шляхів.

Практичне значення результатів дослідження. Практична цінність даної роботи полягає у тому, що в дисертації обґрутована доцільність створення на основі дослідженої фітосубстанції КГФА нового вітчизняного уроантисептика для профілактики і лікування рецидивів інфекцій сечовивідних шляхів. За результатами експериментальних досліджень автором отримано 2 патенти України на корисну модель: «Спосіб одержання лікарського засобу з діуретичною дією з листя брусници звичайної» (№133723 від.01.10.2018 р.). та «Спосіб моделювання піелонефриту» (№142909 від.10.07.2020 р.). Видано 1 інформаційний лист «Винахід новогаленової фітосубстанції – комплексу глікозидів фенольних сполук з листя брусници звичайної в комбінації з аргініном з діуретичною та антибактеріальною активностями».

Матеріали роботи впроваджено в науково-педагогічний процес деяких профільних кафедр вищих навчальних закладів України.

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

Наукові положення дисертаційної роботи Цеменко К. В. мають достатній рівень обґрунтованості й достовірності, оскільки виконані на сучасному науковому рівні, базуються на адекватних методах дослідження, достатній кількості експериментів, коректній математичній і статистичній обробці даних. Результати вдало представлені таблицями та ілюстровані рисунками.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях і в авторефераті. За темою дисертації опубліковано 19 наукових праць, з них 4 статті у вітчизняних фахових журналах, 1 – у закордонному виданні, 11 тез доповідей, 2 патенти України на корисну модель, 1 інформаційний лист. Автореферат цілком відображає зміст дисертаційної роботи.

Ідентичність змісту автореферату й основних положень дисертації.

Оформлення дисертації та автореферату відповідає вимогам МОН України щодо викладення, об'єму, структури, графічного матеріалу, ілюстрацій, посилань на джерела літератури. Зміст автореферату відповідає результатам, викладеним у дисертації і адекватно висвітлює усі її положення та висновки.

Недоліки дисертації і автореферату щодо їх змісту і оформлення. Текст дисертації та автореферату викладено українською мовою з дотриманням наукового стилю. Їх оформлення в цілому відповідає сучасним вимогам МОН України щодо викладення, об'єму, структури, посилань на джерела літератури. Суттєвих зауважень дисертаційна робота не викликає, однак є деякі зауваження:

1. У роботі зустрічаються граматичні та стилістичні помилки, невдалі вислови.
2. Не завжди наведені аргументи на користь вибору препаратів порівняння та обґрунтування їх доз.
3. Потребує уніфікації використання термінології: «фіtosубстанція-лідер», «фітозасіб-лідер», «субстанція-лідер».

Окрім того, при рецензуванні роботи до дисертанта виникли наступні запитання:

1. В результаті скринінгових досліджень антибактеріальної активності ви виявили найбільш активну фіtosубстанцію, яка представляє собою комплекс глікозидів фенольних сполук в комбінації з амінокислотою аргінін. Скажіть, будь ласка, яким чином додавання амінокислоти аргінін призводить до збільшення антибактеріального ефекту?
2. Обґрунтуйте, будь ласка, вибір препарату порівняння при експериментальному дослідженні уроантисептичного ефекту. Чому саме це був препарат Інурек у вигляді жувальних таблеток, адже на фармацевтичному ринку є низка препаратів, які містять журавлину американську в інших лікарських формах.

3. Які основні ланки механізму дії досліджуваної фітосубстанції-лідера?

Тим не менш, зазначені в роботі недоліки і зауваження не впливають на її загальну позитивну оцінку.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам. На підставі вищевикладеного можна дійти висновку, що дисертаційна робота Цеменко Карини Володимирівни «Експериментальне вивчення фармакологічних активностей екстрактів з листя брусници звичайної (*Vaccinium vitis-idaea*) є закінченою, самостійною, кваліфікаційною науковою роботою, яка на високому науковому рівні вирішує важливу задачу щодо пошуку високоефективних рослинних уроантисептиків, що сприятиме оптимізації лікування та профілактики інфекційно-запальних захворювань сечовивідних шляхів.

За актуальністю теми, новизною отриманих результатів, їх теоретичною та практичною значимістю, а також за обсягом досліджень представлена робота відповідає вимогам, які пред'являються до дисертацій на здобуття наукового ступеня кандидата наук, а саме п. 10 “Порядку присудження наукових ступенів”, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015., № 1159 від 30.12.2015 р. та № 567 від 27.07.2016 р.), а дисертант Цеменко Карина Володимирівна заслуговує на присвоєння наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю - 14.03.05 – фармакологія.

Офіційний опонент:

Завідувачка кафедри загальної та клінічної фармації
Дніпровського державного медичного університету,
доктор фармацевтичних наук, професор

Подплетня О.А.

