ВІДЗИВ

офіційного опонента на дисертацію Харченко Юлії Валеріївни

«ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ РОЗЛАДІВ МОЗКУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГЕПАТО-ЕНТЕРАЛЬНОЇ ДИСФУНКЦІЇ, СПРИЧИНЕНОЇ ІЗОНІАЗИДОМ І РИФАМПІЦИНОМ»

на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук

за спеціальністю 14.03.05. – фармакологія

Рецензовану дисертацію присвячено актуальній медичній проблемі – оптимізації комплексної фармакологічної корекції стану центральної нервової системи та кишкового мікробіоценозу при токсичному ураженні печінки, зокрема протитуберкульозними препаратами ізоніазидом та ріфампицином. Актуальність зумовлена значною кількістю випадків таких уражень, чому сприяє висока захворюваність на туберкульоз, зокрема в Україні, та широким використанням зазначених високоефективних протитуберкульозних препаратів 1 ряду. Водночас немає рекомендацій щодо оптимальних схем корекції цих уражень, яка відбувається головним чином емпірично. Для зменшення токсичності ізоніазиду закономірно пропонується піридоксин.

Автор наводить експериментальне обґрунтування такої корекції шляхом застосування відомого амінокислотного гепатопротектора S-аденозил-L-метіоніну, пробіотика йогурту, пребіотика лактулози та комбінації препаратів з виразними ноотропними властивостями іпідакрин/фенібут (як окремо, так і в комбінаціях), що і визначило мету роботи. Цій меті підпорядковано п’ять компактних завдань, вирішення яких можна вважати достатнім для розкриття теми дисертації.

Методичний рівень роботи сучасний, високий (в окремих аспектах – надзвичайно). Обрано низку досить інформативних маркерів – як рутинних (поведінкові тести – УРПУ, «відкрите поле», бактеріологічні – склад кишкової мікрофлори, біохімічні – маркери цитолізу гепатоцитів, окисної модифікації білків тощо, світлооптична мікроскопія та гістохімія), так і специфічних. З-

поміж останніх варто особливо відзначити використання тонких нейромаркерів (молекули адгезії нервових клітин, гліальний фібрилярний кислий протеїн, кальцийзв'язувальний білок S100b). Високої доказовості результатам додає електронно-мікроскопічне дослідження. Статистичний аналіз виконано з використанням адекватних критеріїв. Проте слід зазначити, що збільшити інформативність щодо взаємозумовленості певних змін допоміг би кореляційний аналіз. Для докладнішої характеристики стану ЦНС, можливо, доцільно не обмежуватись дослідженням пам'яті в тесті УРПУ та поведінки у відкритому полі, особливо з урахуванням широкого узагальнення в назві («… корекція ***розладів мозку***…»). Але, сповідуючи як базовий принцип повагу до образу наукового мислення дисертанта й наукового керівника, не вбачаючи в такому обсязі досліджень помилки, наполягати на цьому не вважаю за потрібне.

Структура та обсяг дисертації відповідають чинним вимогам. Текст дисертації викладено на 212 сторінках. Він містить анотації українською та англійською мовами, список публікацій здобувача за темою дисертації, перелік умовних позначень, вступ, огляд літератури (розділ 1), розділ 2 «Матеріали та методи дослідження», 4 розділи власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів (розділ 7), висновки, список використаних джерел літератури (239 найменування, з них 65 кириличною та 174 латинською графікою), додатки. Дисертацію ілюструють 21 таблиця та 66 рисунків.

Основний зміст дисертації та його оцінка.

В **огляді літератури** «Гепато-ентеральна дисфункція: сучасні уявлення про феномен та основні стратегії її фармакологічної корекції» (33 с.) розглядається епідеміологія, критерії, типи, класифікація, прогноз і профілактика медикаментозно-індукованих уражень печінки; інтестинальна медикамент-асоційована дисфункція: причини та механізми розвитку, фактори ризику, клінічні прояви та профілактика; медикаментозно-індукована гепато-інтестинальна дисфункція як ускладнення фармакотерапії протитуберкульозними засобами; проблема побічних реакцій у фтизіатрії; сучасні підходи до оцінки медикаментозно-індукованих уражень печінки при

терапії туберкульозу органів дихання; гастроінтестинальна дисфункція як прояв побічної дії протитуберкульозних засобів; патогенетичні аспекти розладів діяльності мозку за умов гепато-ентеральної дисфункції, викликаної протитуберкульозною хіміотерапією; сучасні стратегії та тренди фармакологічної корекції гепато-ентеральної дисфункції у фтизіатрії. Огляд написано в аналітичному ключі з використанням сучасних джерел літератури. Відносним недоліком огляду є недостатня увага до фармакологічної корекції розладів головного мозку, психічних порушень, особливостей застосування психотропних препаратів за гепато-ентеральної дисфункції.

Розділ 2 «Матеріали та методи досліджень» (16 с.) викладено логічно, компактно. Використано адекватні, сучасні, високоінформативні методи дослідження, які відповідають меті та завданням роботи. Комбінація функціональних, біохімічних, імунохімічних, мікробіологічних, морфологічних методів (у т.ч. електронно-мікроскопічних) разом із коректним статистичним аналізом забезпечує об'єктивну комплексну характеристику модельної патології та впливу досліджуваних препаратів. Схвальним є нетривіальний методичний підхід – визначення нейромаркера кальційзв'язувального білка в печінці як спроба охарактеризувати стан нервової регуляції функцій печінки. Позитивною рисою роботи є використання відносно невеликої кількості тварин (94 щури), що цілком відповідає сучасним принципам біоетики. Автор наводить дані про біоетичну експертизу дисертаційного дослідження. Відносним недоліком є використання в назві підрозділу 2.1 дефініції «Об'єкт та предмети дослідження» (бо об'єкт та предмет вже викладено у вступі та подано відповідно до чинних вимог у категоріальній формі). Варто також докладніше обґрунтувати вибір певних лікарських препаратів для дослідження.

У розділі 3 (20 с., 4 підрозділи) розглянуто гепатотропні ефекти адеметіоніну та комбінації іпідакрин/фенібут на тлі застосування йогурту та лактулози при ураженні печінки ізоніазидом і рифампіцином. Визначено вплив цих засобів на активність маркерного цитолітичного ферменту АлАТ, на стан енергетичного обміну та окисну модифікацію білків, на вміст

кальційзв'язувального білка, на коефіцієнт маси та гістоструктуру печінки. Результати свідчать про вищу ефективність адеметіоніну. Висновок, що гепатотропні ефекти досліджених препаратів чи їх комбінацій можуть бути опосередковані відновленням нервової регуляції функції печінки, ґрунтується на відновленні зниженого під впливом протитуберкульозних препаратів вмісту нейроспецифічного кальційзв'зувального білка в печінці та являє собою методичну новацію у фармакології гепатопротекторів, яка заслуговує на подальше поширення та поглиблення.

У невеликому **розділі 4** (7 с.) викладено результати дослідження впливу обраних лікарських препаратів на кишкову мікрофлору. Розділ містить лише 1 підрозділ «Вивчення складу кишкового мікробіому щурів». Виявлено, що тривале використання ізоніазиду та рифампіцину викликає дисбіоз – виснаження комменсальної флори, насамперед кількості *Lactobacillus spp., Bifidobacterium spp*. та *E.coli,* зростання частки кишкової палички з ферментативною недостатністю. Найкраще відновлення цих змін забезпечила комбінація йогурт+лактулоза+адеметіонін. Фактичні результати цього дослідження, які вказують на відсутність суттєвих змін стану умовно патогенної мікрофлори, стафілококів, стрептококів, грибів роду *Candida* на тлі експериментальної терапії, винесено в додаток В.

Розділ 5 (25 с.) присвячено аналізу впливу досліджуваних препаратів на пам'ять тварин (за умовною реакцією пасивного уникання) та їх поведінку у відкритому полі, а також на стан біохімічних процесів у головному мозку. Тривале введення ізоніазиду та рифампіцину порушує мнестичні процеси, орієнтовно-дослідницьку активність, індукує оксидативний стрес і нейродегенеративні процеси у гіпокампі тварин, про що свідчить зниження цитозольного рівня молекул адгезії нервових клітин, збільшення вмісту гліального фібрилярного кислого протеїну та білка S100b. Іпідакрин/фенібут, S-аденозилметіонін і S-аденозилметіонін+йогурт/лактулоза чинили найбільший антиамнестичний вплив. S-аденозилметіонін та іпідакрин/фенібут найефективніше коригували поведінку щурів у тесті відкритого поля.

Активність матриксної металопротеїнази 2 у гшіпокампі не зазнала суттєвих змін при тривалому гепато- та нейротоксичному впливі протитуберкульозних препаратів, але питома активність цього ферменту зростає під впливом комбінації йогурту й лактулози та достовірно знижується на тлі монотерапії S-адеметіоніном. Залишається відкритим питання про значення виявлених змін активності матриксної металопротеїнази 2.

Розділ 6 (34 с.) є найбільшою частиною дисертації. Його присвячено морфологічній характеристиці гіпокампа щурів. Використано світлову та електронну мікроскопію. Розділ добре ілюстрований фотографіями. Автор доводить, що тривале введення ізоніазиду та рифампіцину сприяє розвитку нейродегенеративних процесів у гіпокампі тварин із зростанням питомої кількості дегенеративно змінених нейронів та значними змінами ультраструктури (порушення з боку нейронального, гемомікроциркуляторного, нейрогліального компонентів та нейропіле). Показано, що S-адеметионін, комбінація іпідакрин/фенібут, комбінація йогурту та лактулози активує адаптаційно-компенсаторні процеси у нейронах, знижує дезорганізацію синаптичних структур, зменшує ушкодження гематоенцефалічного бар'єру та астроглії в гіпокампі.

Аналіз та узагальнення результатів викладено на 16 с. Автор узагальнює результати у зіставленні з відомими даними літератури. Дисертант намагається ранжувати ефекти окремих препаратів та їх комбінацій (табл.7.1), вивести проблему зазначеного вибору на рівень доказового експериментального обґрунтування, узагальнює переваги та недоліки того чи іншого препарату або комбінації. Очевидно, у цьому розділі варто чітко визначити критерії та глибше обґрунтувати доцільність першорядного застосування певних лікарських препаратів для корекції наслідків пошкодження печінки протитуберкульозними препаратами, визначити зв'язок змін окремих нейромаркерів, морфологічних та ультраструктурних змін та функціонального стану ЦНС. Зокрема, для цього автору, як зазначено вище, став би в пригоді кореляційний аналіз.

Висновки (їх 5) добре віддзеркалюють фактичний матеріал. Вони відповідають послідовності завдань дослідження та містять, як цього вимагають чинні правила оформлення дисертацій, конкретизацію певних показників із наведенням кількісних та статистичних характеристик.

Наукова новизна. Результати дисертації Ю.В. Харченко мають беззаперечну наукову новизну. Вперше наведено порівняльні експериментальні дані щодо впливу низки препаратів різної спрямованості дії (пробіотик йогурт, пребіотик лактулоза, гепатопротектор S-аденозил-L-метіонін, комбінація іпідакрин/фенібут) на кишковий мікробіоценоз, а також функціональний і морфологічний стан печінки і ЦНС на тлі гепатотоксичного впливу ізоніазиду та рифампіцину. Доповнено характеристику психотропних властивостей S-аденозил-L-метіоніну, раніше відомого як антидепресант – виявлено його позитивну мнемотропну дію, за якою він майже не поступається відомому комбінованому ноотропному засобу іпідакрин/фенібут. Доведено, що комбінація про- та пребіотика якнайкраще відновлює стан обміну речовин у печінці та її гістоструктуру, а синергізм гепатопротекторного впливу цих препаратів і S-аденозил-L-метіоніну відсутній. З'ясовано, що сумісне застосування пре- та пробіотика помірно покращує пам'ять на тлі порушення кишкового мікробіоценозу та токсичного впливу на печінку. Виявлено, що нейротропні ефекти досліджуваних препаратів можуть бути зумовлені впливом на металопротеіназу 2 у гіпокампі, зростанням цитозольного вмісту молекул адгезії нервових клітин і гліального фібрилярного кислого протеїну, а морфологічно вони супроводжуються зменшенням питомої кількості дегенеративно змінених нейронів, активацією адаптаційно-компенсаторних процесів у нейронах, синаптичному апараті, функціонуванні ГЕБ та астроглії гіпокампа.

Практичне значення та впровадження результатів. Матеріали дисертації експериментально обґрунтовують доцільність застосування насамперед відомих нейропротекторних (іпідакрин/фенібут) та гепатопротекторних (S-аденозил-L-метіонін), а також про- та пребіотичних

препаратів (йогурт, лактулоза) для відновлення структурно-функціональних порушень ЦНС при тривалому застосуванні протитуберкульозних препаратів першого ряду. Наукові положення дисертації впроваджено в науково-педагогічний процес 9 кафедр закладів вищої освіти України.

Повнота викладу положень дисертації в опублікованих працях. Матеріали дисертації достатньо опубліковано та репрезентовано на наукових конференціях різного рівня. Зокрема, наявні 4 статті у фахових виданнях з переліку, затвердженого МОН України, 1 стаття у профільному закордонному журналі та 11 тез доповідей. На жаль, новизну матеріали дисертації, які, безумовно, є патентоспроможними, не захищено патентом.

Відповідність текстів дисертації та автореферату. Дисертація та автореферат викладені в науковому стилі з використанням сучасної української мови. Зміст дисертації та автореферату є ідентичним, автореферат достатньо розкриває всі наукові положення дисертації.

Оформлення дисертації в цілому відповідає чинним вимогам, недоліки майже відсутні. В окремих випадках сторінки не повністю заповнені текстом (с.123, с.146), у деяких таблицях (2.1, 2.2, 7.1) використано дрібний шрифт.

Пропозицій щодо використання результатів дисертації. З огляду на практичну цінність основних наукових положень дисертації вважаю за доцільне видання інформаційного листа про нововведення в сфері охорони здоров'я, в якому варто викласти інноваційний підхід автора до корекції побічних ефектів протитуберкульозної фармакотерапії. Для розвитку теми, більшої доказовості, з'ясування унікального або не унікального характеру впливу досліджуваних про- та пребіотиків, гепатопротекторів і психотропних засобів при первинному ураженні печінки доцільно дослідити ефекти не лише протитуберкульозних препаратів, але й інших гепатотоксичних препаратів (наприклад, парацетамолу, тетрацикліну). Насамкінець, як вже обговорювалось вище, в розвиток ідей дисертації доцільно з'ясувати вплив досліджуваних засобів нейрокорекції не лише на стан пам'яті та поведінки в умовах стрес-реакції у відкритому полі, а й інших показників стану ЦНС (зокрема, збудливості, емоційної сфери тощо).

Зауваження та запитання. Дисертація та автореферат Ю.В. Харченко справляють гарне враження. Проте виникла низка зауважень (окрім вже висловлених у характеристиці розділів рукопису) та запитань.

Зауваження:

1. Ізоніазидові (дещо меншою мірою рифампіцину) притаманні токсичні впливи не лише на печінку, а й нейротоксичні властивості. Тому виокремити первинний (прямий) або вторинний (за рахунок гепато-ентеральної дисфункції) характер ураження головного мозку за застосованого дизайну дослідження проблематично.
2. Для з'ясування ролі змін певних показників стану печінки та мікробіоценозу кишечника у змінах функціонального стану ЦНС доцільно використати кореляційний аналіз.
3. У дисертації трапляються поодинокі невиправлені мовні недоліки. Зокрема, інколи вживаються неточні слова (наприклад, *наступні* замість *такі*), трапляються нечисленні пунктуаційні помилки.

Ці зауваження не стосуються суті дисертаційного дослідження, а отже не є принциповими та не знижують високу оцінку дослідження Ю.В. Харченко.

Запитання:

1. Чим зумовлений вибір як гепатотоксичних агентів протитуберкульозних препаратів ізоніазиду та рифампіцину, тимчасом як асортимент токсичних для печінки препаратів дуже великий і містить значну кількість засобів інших груп, зокрема широко вживаних безрецептурних (у т.ч. парацетамол)? До того ж існує безліч гепатотоксичних нелікарських ксенобіотиків.
2. Ізоніазид сприяє збудженню ЦНС, що є досить типовою побічною дією цього протитуберкульозного препарату. Як пояснити, що на тлі його дії спостерігається пригнічення рухової та інших видів активності у тесті «відкрите поле»?
3. Як пояснити, що гепатопротектор адеметіонин за комбінації з йогуртом та лактулозою не покращує стан печінки на моделі ураження ізоніазидом та рифампіцином?

4. Які конкретно препарати та їх комбінації можна вважати найбільш доцільними (першорядними) для одночасної корекції порушень з боку печінки, кишкового мікробіоценозу та стану ЦНС на тлі тривалого застосування протитуберкульозних засобів 1 ряду ізоніазиду та рифампіцину?

Висновок. На підставі вищезазначеного вважаю, що дисертація Харченко Юлії Валеріївни «Фармакологічна корекція розладів мозку за умов експериментальної гепато-ентеральної дисфункції, спричиненої ізоніазидом і рифампіцином» є самостійною кваліфікаційною науковою працею, яка має теоретичне та практичне значення для фармації та медицини. За актуальністю, методичним рівнем та обсягом досліджень, науковою новизною результатів, їх теоретичним і практичним значенням, достатністю та повнотою публікацій матеріалів дослідження, їх апробації на наукових форумах дисертація відповідає вимогам п.11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.1015 р. № 1159 від 30.12.2015), Наказу МОН України № 40 від 12.01.2017 «Про затвердження вимог до оформлення дисертацій», а Харченко Ю.В. заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук.

Офіційний опонент,
завідувач кафедри фармакології
та фармакотерапії
Національного фармацевтичного
університету,
доктор медичних наук, професор _____ **Сергій ШТРИГОЛЬ**

Підпис проф. Сергія Штриголя засвідчую
Провідний фахівець з питань
кадрової роботи відділу кадрів НФаУ _____ **Віра ДВЕРНИЦЬКА**

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Національний фармацевтичний університет
№02010936