

ВІДГУК

офіційного опонента доктора фармацевтичних наук, професора, завідувачки кафедри клінічної фармакології ІПКСФ Національного фармацевтичного університету Міщенко Оксани Яківни на дисертацію **Драчук Віри Михайлівни** за темою «Нефропротекторна активність похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) за умов експериментального гострого пошкодження нирок», 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. Гостре пошкодження нирок (ГПН) – широкомасштабна, загальносвітова, медико-соціальна проблема, частота якої в загальній популяції конкурує з рівнем захворюваності на гострий інфаркт міокарда. Підвищення рівня смертності при ГПН спостерігається як в ранньому, так і у віддаленому періодах захворювання, а летальний результат у більшості випадків визначається «нирковими причинами», коли нирки не можуть виконувати основну роль екскреторного органа. Важливість вивчення і вдосконалення лікування ГПН визначається значною небезпекою цього синдрому, високою частотою і різноманітністю причин розвитку, реальною можливістю часткового або повного відновлення ниркової функції хворого зі збереженням працездатності та якості життя при своєчасній діагностиці і ефективному лікуванні.

Патогенез ГПН є комплексним багатофакторним і лише в деякій мірі залежить від причин виникнення пошкодження, оскільки ураження токсинами при ГПН в кінцевому результаті призводить до локальної або генералізованої ішемії ниркової тканини, а ренальна вазоконстрикція – до пошкодження структури і функції каналців.

Поряд з певними досягненнями у медикаментозному лікуванні хворих на ГПН, в удосконаленні методів нирково-замісної терапії, смертність від ГПН залишається досить високою (до 70%), а недостатньо ефективне лікування визначає актуальність удосконалення фармакотерапії та пошуку альтернативних засобів ефек-

тивної нефропротекції для усунення етіологічного, патогенетичного та симптоматичного компонентів даної патології. Загальноприйнятими є методи профілактики патології, що включають усунення патогенетичного чинника, підтримку кровопостачання нирок, застосування нефропротекторних лікарських засобів та проведення замісної терапії.

З огляду на вищенаведене, тема дисертаційної роботи Віри Михайлівни Драчук, безперечно, актуальна, оскільки присвячена обґрунтуванню доцільності застосування існуючих природних похідних сірковмісних амінокислот, що відіграють важливе значення в біохімічних процесах організму людини, як нефропротекторів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертацію виконано в рамках міжкафедральної науково-дослідної роботи ВДНЗ «Буковинський державний медичний університет» МОЗ України, яка виконувалась на кафедрі фармакології за темою «Дизрегуляторні порушення нейроімуноендокринних взаємовідносин та шляхи їх корекції» (№ держреєстрації 0114U002496). Автор є співвиконавцем зазначеної НДР.

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

Положення дисертаційної роботи ґрунтуються на результатах експериментів, виконаних на 322 нелінійних статевозрілих щурах обох статей та 35 мишах. Формування експериментальних груп, відбір тварин, підбір методик обґрунтовані, відповідають поставленим меті та завданням. Кількість тварин у серіях 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 одержані результати вірогідними. Наукові положення і висновки обґрунтовані, впливають з поставлених завдань і отриманих результатів дослідження. Результати вдало представлені в таблицях та ілюстровані рисунками. Наукова робота виконана на сучасному науково-методичному рівні у відповідності до положень з біоетики. Отримані дисертан-

том результати достатньо оприлюднені в матеріалах наукових форумів та наукових виданнях.

Наукова новизна отриманих результатів.

У дисертаційній роботі вперше в порівняльному аспекті досліджено нефротропні ефекти похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) за умов експериментального ГПН різної етіології з урахуванням тривалості та режиму введення, з обґрунтуванням механізмів їх нефропротекторної дії та виявленням ефективнішого засобу. Вперше продемонстровано здатність похідних сірковмісних амінокислот впливати на функціональний стан нирок інтактних щурів, виявляючи помірний діуретичний та антипротеїнуричний ефекти.

Вперше встановлено, що виразніша нефропротекторна ефективність адеметіоніну в дозі 20 мг/кг за умов рабдоміолітичного гострого пошкодження нирок забезпечується коригувальним впливом на основні патогенетичні ланки патологічного процесу – розлади видільної функції нирок та внутрішньониркових механізмів авторегуляції, розвиток оксидативного стресу та енергодефіциту у нирках.

Доведено, що при гетаміциновій нефропатії похідні сірковмісних амінокислот (адеметіонін, таурин та глутатіон), а найефективніше таурин у дозі 100 мг/кг, зменшують токсичний вплив гентаміцину, що підтверджується збереженням швидкості клубочкової фільтрації, реабсорбції іонів натрію, попередженням розвитку ретенційної азотемії, гіпокаліємії, зменшенням про-/антиоксидантного дисбалансу.

За умов розвитку ішемічно-реперфузійного ГПН продемонстровано покращення морфофункціонального стану нирок під впливом похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону); найефективнішою була корекція препаратом глутатіону дозою 30 мг/кг, що виявилася збільшенням швидкості клубочкової фільтрації, реабсорбції іонів натрію, зменшенням протеїнурії, екскреції калію, а також нормалізацією креатинінемії.

Вперше встановлено, що нефропротекторний ефект похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) за умов розвитку ГПН опосередкований антиоксидантною дією, поліпшенням енергетичного забезпечення, а також відновленням внутрішньониркових механізмів авторегуляції, що підтверджується існуван-

ням кореляцій між показниками.

Основні наукові положення, висновки та одержані результати наукового дослідження, сформульовані В. М. Драчук, збагачують рівень наукових знань щодо нефропротекторних властивостей досліджуваних похідних сірковмісних амінокислот за умов пошкодження нирок різної етіології та доцільність їх подальшого вивчення як потенційних засобів нефропротекторної терапії.

Практичне значення отриманих результатів.

Дисертаційне дослідження має практичну спрямованість, оскільки отримані результати є експериментальним обґрунтуванням доцільності подальшого вивчення похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) як лікарських засобів для профілактики та корекції ГПН різного генезу. Виявлена нефропротекторна активність досліджуваних сполук та встановлено особливості механізмів їх дії при різних типах ниркової патології, що надає можливість оптимізувати фармакотерапію ГПН. Результати дослідження впроваджено в науково-педагогічний та науково-дослідний процес на 4 кафедрах: фармакології ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, фармакології з клінічною фармакологією ДВНЗ «Тернопільський національний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України», експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВДНЗ «Українська медична стоматологічна академія».

Основний зміст дисертації та його оцінка.

Дисертаційна робота викладена на 247 сторінках машинописного тексту, традиційно складається з анотації українською та англійською мовами з переліком публікацій автора, вступу, огляду літератури, розділу матеріалів і методів дослідження, 5 розділів власних досліджень, розділу аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел та 2 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 153 сторінки друкованого тексту. Робота ілюстрована 22 таблицями, 43 рисунками. Список використаних джерел містить 320 найменувань, з них 136 кирилицею та 184 латиницею.

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

У **вступі** (9 сторінок) дисертантом обґрунтовано актуальність обраної теми, сформульовано мету, основні завдання, висвітлено об'єкт, предмет дослідження, методи дослідження, наукову новизну, практичне значення отриманих результатів, особистий внесок, апробацію результатів на наукових форумах та публікації.

Огляд літератури викладено на 20 сторінках та складається з двох підрозділів, у яких проаналізовано дані вітчизняної і світової наукової літератури щодо сучасних аспектів патогенезу ГПН та висвітлені сучасні підходи та перспективи нефропротекції. Показано вплив досліджуваних похідних сірковмісних амінокислот адеметіоніну, таурину та глутатіону, як ендогенних сірковмісних амінокислот, на фізіологічні функції, а також їх фармакологічні властивості як лікарських засобів. Базуючись на наведених даних, автор висновує актуальність дослідження нефропротекторної активності похідних сірковмісних амінокислот. В цілому огляд літератури заслуговує високої оцінки.

У **розділі «Матеріали та методи дослідження»**, що викладений на 10 сторінках, описані використані автором методи дослідження. Розділ дає уяву про об'єм, структуру та послідовність досліджень. Експериментальні дослідження проведені на достатньому матеріалі (використано – 322 щури і 35 мишей) і виконані з дотриманням положень біоетики, що підтверджено висновком комісії з питань біомедицинової етики ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» МОЗ України (протоколи №8 від 15.05.2014 р. та №8 від 17.05.2018 р.).

Для експериментальних досліджень було обрано метаболічні препарати похідних сірковмісних амінокислот – адеметіонін, таурин та глутатіон, що відносяться до різних фармакологічних груп і мають спільну ознаку – наявність в хімічній структурі активного атома сірки та взаємне біохімічне перетворення. У всіх серіях експериментів досліджувані препарати вводилися внутрішньо-очеревинно у вигляді водного розчину після приготування відповідних розведень.

У роботі були досліджені: препарат адеметіоніну – «Гептрал» (виробник «Abbott S.p.A.», Італія) у формі порошку ліофілізованого для приготування розчину

для ін'єкцій; препарат глутатіону «ТАД 600» (виробник «Biomedica Foscoma», Італія), лікарська форма – порошок ліофілізований для приготування розчину для внутрішньовенного введення та субстанція таурину («Sigma-Aldrich», США).

Дисертантом були використані препарати порівняння з експериментально доведеною нефропротекторною активністю: при ішемічно-реперфузійному ГПН – етилметилгідроксипіридину сукцинат (Мексидол, р-н для ін'єкцій, НВК «Фармасофт, РФ) внутрішньоочеревинно дозою 100 мг/кг; при рабдоміолітичному ГПН – ліпосомальний препарат кверцетину Ліпофлавіон (порошок ліофілізований для приготування розчину для ін'єкцій, ЗАТ «Біолік», Україна), який вводили внутрішньоочеревинно дозою 296 мг/кг; на моделі гентаміцинової нефропатії – Канефрон (краплі оральні, «Bionogica SE», Німеччина) внутрішньошлунково дозою 27 мг/кг.

Автором використано чотири експериментальні моделі гострого пошкодження нирок (етиленгліколева, рабдоміолітична, гентаміцинова, ішемічно-реперфузійна) та чисельні фармакологічні і біохімічні методи дослідження функціонального стану нирок, прооксидантно-антиоксидантного балансу в крові та тканині нирок, енергетичного потенціалу нефроцитів, інтенсивності фібринолізу та протеолізу в тканині нирок, а також гістологічні методи дослідження структури нирок. Для статистичної обробки результатів було використано коректні методи статистичного аналізу з використанням параметричного t-критерію Ст'юдента (при нормальному розподілі) та непараметричного U-критерію Манна-Уїтні (при невідповідності нормальному розподілу), кутового перетворення Фішера для оцінки виживаності тварин, H-критерій Краскела-Уоліса для аналізу мультигрупових відмінностей. Наявність кореляційного зв'язку встановлювали за допомогою коефіцієнта кореляції Спірмена.

Результати власних досліджень автором наведені у 5 розділах, що викладені на 106 сторінках.

У третьому розділі «Скринінгові дослідження нефропротекторної дії похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону)» автором на моделі рабдоміолітичного гострого пошкодження нирок встановлено їх дозозалежну нефропротекторну активність за впливом на екскреторну та

іонорегулювальну функції, стан прооксидантно-антиоксидантного балансу та на гістоструктуру нирок, а також визначені умовно ефективні дози: для адеметіоніну – 20 мг/кг, для таурину – 100 мг/кг та для глутатіону – 30 мг/кг, які були використані для подальших досліджень. В цьому розділі наведено результати верифікації нефропротекторної дії адеметіоніну, таурину та глутатіону за впливом на інтегральний показник – виживаність тварин – на моделі етиленгліколевого ГПН. Встановлено виразніший ефект глутатіону.

Четвертий розділ «Ренальні ефекти похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) при застосуванні в інтактних тварин» присвячений дослідженню нефротропних ефектів похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) на тлі водного навантаження після тривалого (впродовж 7 діб) введення тваринам без патології. Встановлено, що досліджувані сполуки змінювали каналцевий транспорт іонів, що виявилось зростанням натрійурезу, помірним зменшенням реабсорбції води та зниженням екскреції білка з сечею. При цьому досліджувані засоби не спричиняли патологічних змін тканини нирок та нефротоксичних ефектів.

У п'ятому розділі «Динаміка функціональних порушень нирок та їх корекція похідними сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) при рабдоміолітичному гострому пошкодженні нирок» наведено результати дослідження впливу засобів на функціональний стан нирок, стан прооксидантно-антиоксидантного балансу та гістоструктуру органу при профілактичному (впродовж 3-х діб до моделювання патології) та лікувальному (впродовж 7-ми днів після моделювання патології) введенні. Встановлено максимальний коригувальний ефект засобів при лікувальному режимі введення з перевагою адеметіоніну над таурином та глутатіоном. Показано, що протекторний вплив адеметіоніну полягав в гіпоазотемічному та антипротеїнуричному ефектах, підвищенні клубочкової фільтрації та зниженні гіперкаліємії завдяки активації каналцево-каналцевого балансу, фібринолітичній, протинекротичній та антиоксидантній дії. Адеметіонін не поступався ефекту препарату порівняння ліпофлаону.

У шостому розділі **«Вплив похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) на перебіг гентаміцинової нефропатії»** показано, що лікувально-профілактичне застосування досліджуваних засобів зменшувало ступінь пошкодження та попереджувало виникнення значних порушень діяльності нирок, що підтверджує їх нефропротекторну активність. Доведено, що в порівнянні з адеметіоніном, таурином та референс-препаратом канефроном, ефективнішу нефропротекторну дію виявляв таурин, що визначено за рядом показників: збільшенням ШКФ, зменшенням ступеня ретенційної азотемії, протеїнурії та за нормалізацією іонорегулювальної функції (збільшення абсолютної реабсорбції іонів натрію зі зменшенням його фракційної екскреції) порівняно з модельною патологією, а також за зростанням антиоксидантно-прооксидантного індексу в тканині нирок та зменшенням активності гамма-глутамілтранспептидази в сечі.

За результатами дослідження, що наведені в **сьомому розділі «Реалізація нефропротекторного ефекту похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) при ішемічно-реперфузійному гострому пошкодженні нирок»** встановлено їх нормалізувальний вплив на видільну, іоно- та кислотнорегулювальну функції органу, на активність ферментів антиоксидантного захисту. Найефективнішим був глутатіон, який сприяв збільшенню швидкості клубочкової фільтрації, абсолютної реабсорбції іонів натрію, зниженню протеїнурії, та за рядом показників переважав ефективність препарату порівняння мексидолу. Відмічено відновлення енергозабезпечення клітин, що підтверджується зростанням активності сукцинатдегідрогенази в нирках. Про цитопротекторний вплив свідчило зниження активності гамма-глутамілтранспептидази в сечі, а також підвищення антиоксидантно-прооксидантного індексу в тканині нирок поряд зі зниженням індексу оксидативного стресу в крові тварин.

Розділ «Аналіз та узагальнення результатів досліджень» викладений автором на 22 сторінках. Обговорення результатів проведено логічно, починається з висвітлення проблеми і ключових компонентів патогенезу ГПН, якими є зниження або пошкодження системи антиоксидантного захисту та порушення сталості

прооксидантно-антиоксидантного балансу із активацією запальних реакцій, порушенням енергетичного обміну в нефроцитах, що обґрунтовує доцільність застосування для фармакокорекції засобів метаболічної дії з антиоксидантними властивостями. Автор вміло залучає для обговорення і аргументації отриманих результатів та зроблених висновків сучасні дані наукової літератури, що дало можливість зробити всебічний і глибокий аналіз власних результатів.

Автором сформульовано **сім загальних висновків**, які відповідають меті та поставленим завданням дослідження, логічно витікають з отриманих даних і обґрунтовані та аргументовані результатами статистичного аналізу, що характеризує їх достовірність.

Список літератури оформлений згідно з чинними вимогами, містить 320 посилань (з них 184 – латиницею та відповідно 136 – кирилицею), що свідчить про широту проведеного автором літературного пошуку та аналізу сучасного стану досліджуваної проблеми, оскільки літературні джерела за останні 5 років становлять більшість наведеного переліку.

Повнота викладу наукових положень дисертації в наукових працях.

За матеріалами дисертації опубліковано 20 наукових праць, з них 10 статей: 5 – у фахових журналах, рекомендованих МОН України, 2 статті в закордонному виданні, 1 патент України на корисну модель, методичні рекомендації, 8 тез 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. Проте зустрічаються поодинокі граматичні і технічні помилки (на стор. 20, 21 – номери розділів у висновках не співпадають з номерами розділів, на стор. 56; 145).

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

1. Яке практичне значення має посилення видільної функції нирок на тлі дії досліджуваних засобів за умов відсутності патологічного процесу?

2. Чи можна стверджувати про наявність антипротеїнуричної дії за результатами зниження вмісту білка в сечі під впливом досліджуваних засобів за умов відсутності патологічного процесу?

3. Усі досліджувані засоби виявляють антиоксидантну активність і за умов різних етіологічних чинників пошкодження нирок процеси ВРО інтенсифікуються, проте є певні відмінності в ефективності засобів, чи є здатність засобів коригувати анти-/прооксидантний дисбаланс провідним механізмом їх нефропротекторної дії?

Відповідність дисертації встановленим вимогам. Дисертація Драчук Віри Михайлівни на тему: «Нефропротекторна активність похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) за умов експериментального гострого пошкодження нирок» 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.

Офіційний опонент:

завідувач кафедри

клінічної фармакології ІПКСФ НФаУ

доктор фармацевтичних наук, професор

О. Я. Міщенко

О. Я. Міщенко

Підпис проф. Міщенко О. Я. засвідчую:

Начальник відділу кадрів НФаУ



З. Ф. Подстрелова

З. Ф. Подстрелова