

РЕЦЕНЗІЯ

професора кафедри клінічної лабораторної діагностики, мікробіології та біологічної хімії, декана факультету медико-фармацевтичних технологій Національного фармацевтичного університету, доктора біологічних наук
Набоки Ольги Іванівни

на дисертаційну роботу Анісімової Марії Сергіївни
на тему «Експериментальне обґрунтування застосування фітокомпозиції
на основі сухого екстракту з листя журавлини для лікування
метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу»,
подану до захисту у спеціалізовану вчену раду PhD 8386 при Національному фармацевтичному університеті МОЗ України, що утворена наказом Національного фармацевтичного університету від 28.03.2025 р. № 48-Адм. для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація»

Актуальність теми. Цукровий діабет 2 типу (ЦД2) та метаболічний синдром (МС) належать до найбільш поширених неінфекційних захворювань сучасності, що характеризуються стійкою інсулінорезистентністю, порушенням вуглеводного і ліпідного обмінів та високим ризиком розвитку серцево-судинних ускладнень. Прогресуюче зростання захворюваності на ЦД2 у світі й в Україні, особливо серед молодого працездатного населення, а також значна частка недіагностованих випадків обумовлюють необхідність пошуку нових підходів до лікування й профілактики цих патологій.

Відомо, що традиційна фармакотерапія не завжди забезпечує повноцінний контроль за метаболічними порушеннями і супутніми ускладненнями, а також супроводжується ризиком розвитку побічних ефектів. У зв'язку з цим зростає інтерес до засобів природного походження з комплексною дією, які можуть не лише знижувати рівень глюкози в крові, а й проявляти антиоксидантну, гепатопротекторну та панкреопротекторну активність. Листя журавлини великоплідної є перспективним джерелом біологічно активних речовин (фенольних сполук, флавоноїдів, аскорбінової кислоти, гідроксикоричних кислот), що обґрунтовує доцільність його використання для створення нових фітопрепаратів для лікування МС та ЦД2.

Посилення терапевтичного ефекту шляхом модифікації екстракту амінокислотами (L-аргініном, таурином, гліцином) дозволяє комплексно впливати на основні патогенетичні механізми захворювань.

Таким чином, експериментальне обґрунтування створення нового комбінованого фітопрепарату «Фітаргін-комбі» для лікування метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу є актуальним завданням сучасної фармацевтичної науки та практики.

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

Дисертаційна робота виконана у межах запланованої науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956).

Обсяг та структура дисертації

Матеріали дисертації викладено на 216 сторінках машинописного тексту, складається з анотації українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», 3 розділів експериментальних досліджень, аналізу та узагальнення одержаних результатів, загальних висновків, списку використаних джерел і 2 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 179 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 21 таблицею та 32 рисунками. Бібліографія містить 232 джерела літератури, з них 45 кирилицею та 187 латиницею.

Основний зміст дисертації та його оцінка

Вступ характеризується загальноприйнятим порядком викладення матеріалу. Дисертанткою чітко обґрунтовано актуальність теми дослідження, що базується на епідеміологічних даних про високу поширеність ЦД2 і МС у світі й в Україні, їхній внесок у зростання смертності, інвалідності та економічні втрати. Марія Сергіївна акцентує увагу на проблемі недостатньої ефективності існуючих схем фармакотерапії, високої частоти побічних ефектів та необхідності розробки нових безпечних і ефективних засобів природного походження для лікування та профілактики цих патологій. Дисертантка

обґрунтовує доцільність створення нового антидіабетичного засобу на основі сухого екстракту з листя журавлини, для якого відома гіпоглікемічна дія через широке застосування у альтернативній медицині та його модифікації з амінокислотами. У вступі сформульовано мету, завдання дослідження, наукову новизну, теоретичне та практичне значення роботи, окреслено об'єкт і предмет дослідження, а також наведено відомості про апробацію роботи та публікації здобувача.

У першому розділі (огляд літератури) подано ґрунтовний аналіз літературних джерел щодо патогенезу ЦД2 та МС із акцентом на роль інсулінорезистентності, оксидативного стресу, ендотеліальної дисфункції та хронічного запалення. Окрему увагу приділено сучасним стратегіям фармакотерапії ЦД2 та МС, характеристиці основних груп лікарських засобів (метформін, інгібітори ДПП-4, агоністи ГПП-1, інсулін, статини тощо), їх механізмам дії та обмеженням у застосуванні. Значна частина розділу присвячена фітотерапії як перспективному напрямку в лікуванні метаболічних порушень, аналізуються результати клінічних і доклінічних досліджень рослинних препаратів. Дисертантка обґрунтовує вибір листя журавлини великоплідної як сировини для створення нового лікарського засобу.

У розділі «Обґрунтування загальної концепції досліджень. Об'єкти, матеріали та методи досліджень» дисертантка детально описує об'єкти дослідження: сухий екстракт листя журавлини великоплідної, комбіновані таблетки «Фітаргін-комбі», а також моделі експериментальної патології (метаболічний синдром, індукований високоцукровою дієтою; ЦД2, індукований стрептозотоцином і нікотинамідом; дексаметазон-індукований ЦД2) та стратегію дослідження. Авторкою надано опис методів досліджень (фармакологічних, біохімічних, морфологічних і токсикологічних) із чітким наведенням доз, способів уведення, тривалості експериментів і критеріїв оцінки результатів. Дисертантка застосувала адекватні методи оцінки гіпоглікемічної активності, стану антиоксидантної системи, процесів ліпідного обміну, морфологічного стану печінки та підшлункової залози. Варто

відзначити застосування багаторівневого підходу до оцінки фармакологічних властивостей таблеток «Фітаргін-комбі». Представлений комплекс морфофункціональних досліджень підшлункової залози та печінки було виконано з метою оцінки панкрео- та гепатопротекторної дії таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі» на тлі МС та ЦД2. Обрані методики є релевантними, сучасними, забезпечують надійність експериментальних даних.

Експериментальні дослідження проведені у Навчально-науковій тренінговій лабораторії медико-біологічних досліджень НФаУ, що сертифікована ДП «Харківстандартметрологія» (посвідчення від 06.08.2021 №01-0084) з використанням 357 білих нелінійних щурів та 30 мишей. Біотичні аспекти досліджень схвалені комісією з питань біоетики НФаУ (протоколи № 7 від 01.11.2021 р., № 8 від 15.02.2023 р.).

Результати власних досліджень наведені у трьох експериментальних розділах.

У третьому розділі дисертанткою наведено результати первинних фармакологічних досліджень гіпоглікемічної активності фітокомпозиції та комбінованого препарату «Фітаргін-комбі». Встановлено ефективну дозу засобу (100 мг/кг) за результатами одноразового та 14-денного уведення на моделі нормоглікемії та порушеної толерантності до глюкози. Проведено дослідження гострої токсичності нових комбінованих таблеток «Фітаргін-комбі». Авторкою доведено, що за внутрішньошлункового і внутрішньоочеревинного уведення вони відносяться до V класу «практично нетоксичні речовини» та не викликають гіпоглікемії у нормоглікемічних тварин. Результати доводять безпеку розробленого засобу для подальших доклінічних і клінічних випробувань.

У четвертому розділі дисертанткою викладено результати поглибленого дослідження комбінованих таблеток «Фітаргін-комбі», вивчення можливих механізмів його антидіабетичної дії. Марія Сергіївна представила результати досліджень ефективності комбінованого препарату на моделі експериментального метаболічного синдрому, індукованого високоцукровою

дієтою у щурів. Модель відтворює основні патофізіологічні зміни МС у людини: розвиток ожиріння, інсулінорезистентності, гіперглікемії та дисліпідемії. Під дією високоцукрозної дієти у тварин відзначено приріст маси тіла майже на 50% ($p \leq 0,05$), збільшення маси вісцерального жиру у 2,4 рази, розвиток толерантності до глюкози та вираженої інсулінорезистентності. У відповідь на введення «Фітаргін-комбі» спостерігалось достовірне зниження приросту маси тіла на 40,4% ($p \leq 0,05$), зменшення рівня глюкози в крові, покращення показників вуглеводного обміну, нормалізація площі під глікемічною кривою (AUCglu).

Ліпідний профіль під дією «Фітаргін-комбі» достовірно поліпшувався: рівні тригліцеринів, загального холестерину, вільних жирних кислот і ліпопротеїнів низької густини знижувалися майже до рівня інтактного контролю. Водночас спостерігалось пригнічення оксидативного стресу, що підтверджувалось зниженням продуктів ПОЛ та відновленням активності антиоксидантних ферментів – каталази і глутатіону.

Морфофункціональні дослідження показали, що «Фітаргін-комбі» виявив протекторну дію щодо підшлункової залози (відсутність дистрофії β -клітин, збереження морфологічної цілісності панкреатичних островців) та печінки (відновлення глікогену, відсутність стеатозу) щурів. За виразністю протекторного впливу на інсулярний апарат підшлункової залози щурів «Фітаргін-комбі» перевершував арфазетин та не поступався метформіну, а за ступенем відновлення порушених метаболічних змін у печінці перевершував обидва препарати.

Отримані результати свідчать, що «Фітаргін-комбі» проявляє комплексну антидіабетичну, гіполіпідемічну, антиоксидантну, панкрео- і гепатопротекторну дію, не поступаючи за ефективністю метформіну, а за деякими параметрами – перевершуючи його.

У п'ятому розділі дисертанткою наведено результати дослідження впливу «Фітаргін-комбі» на перебіг ЦД2 на двох експериментальних моделях: дексаметазон-індукованого діабету та діабету, індукованого стрептозотоцином

і нікотинамідом на тлі високожирової дієти. На моделі дексаметазон-індукованого діабету авторкою доведено, що «Фітаргін-комбі» ефективно знижував рівні глюкози, загального холестерину, тригліцеринів, нормалізував співвідношення ліпопротеїнів високої та низької густини, пригнічував розвиток оксидативного стресу та відновлював антиоксидантний захист. Відзначено також позитивний вплив на ендотеліальну функцію: зниження рівнів оксиду азоту та цитруліну, підвищення вмісту аргініну.

На моделі стрептозотоциново-нікотинамідного ЦД2 «Фітаргін-комбі» достовірно знижував рівень глюкози на 42,3% і рівень інсуліну на 36%, а також нормалізував індекс інсулінорезистентності НОМА-IR. Дослідження процесів неферментативного глікозилювання та маркерів окиснювальної модифікації білків показали значне зменшення пошкодження клітинних структур, що свідчить про потужну антиоксидантну дію «Фітаргін-комбі».

Морфологічний аналіз виявив виражені протекторні ефекти «Фітаргін-комбі» щодо підшлункової залози (збереження структури островців Лангерганса, відсутність некротичних змін) та печінки (відновлення глікогену, зменшення проявів стеатогепатозу).

Заключний розділ дисертації присвячений аналізу та узагальненню результатів досліджень. Наводиться викладена у дисертації наукова інформація, представлені результати вирішення поставлених завдань. Дисертантка систематизувала отримані результати, обґрунтувала комплексний механізм дії «Фітаргін-комбі» через корекцію інсулінорезистентності, зменшення оксидативного стресу, нормалізацію ліпідного обміну та захист паренхіматозних органів. Узагальнення результатів свідчить про високу наукову обґрунтованість та практичну перспективність створення нового препарату для лікування МС і ЦД2.

Загальні висновки дисертаційної роботи повністю відповідають поставленим у вступі завданням, логічно впливають із результатів досліджень і відображають основні наукові положення дисертації.

Фрагменти роботи упроваджено у навчальний процес низки закладів вищої освіти України медичного (фармацевтичного) профілю.

Список використаних джерел літератури містить 232 посилання, що оформлені відповідно до чинних вимог, 67 % посилань за останні 10 років.

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

Дисертація Анісімової М.С. виконана на належному науковому рівні із використанням сучасних методів дослідження, включаючи фармакологічні, токсикологічні, гістологічні та біохімічні показники. У експериментах використано достатня кількість лабораторних тварин, методик та визначення інформаційних показників. Фактично отримані результати експериментальних досліджень оброблені із використанням адекватних статистичних методів. Достовірність отриманих результатів не викликає сумнівів. Експериментально отримані показники наведені у вигляді таблиць, рисунків та графіків.

Проаналізувавши роботу в цілому, маю зазначити, що вона добре оформлена та структурована, експериментальні дослідження виконані на високому науковому рівні із застосуванням сучасних методів і ґрунтуються на змістовному науковому та теоретичному матеріалі. Висновки до розділів та до роботи в цілому є чіткими і ґрунтовними, узгодженими з метою і завданнями дослідження.

Наукова новизна одержаних результатів

У роботі вперше науково обґрунтовано та експериментально доведено доцільність використання фітокомпозиції на основі сухого екстракту листя журавлини з додаванням амінокислот для розробки нових ефективних і безпечних антигіперглікемічних засобів, призначених для корекції інсулінорезистентності та застосування у комплексній терапії цукрового діабету 2 типу.

Вперше проведено скринінг гіпоглікемічної активності фітокомпозиції, що містить сухий екстракт листя журавлини та амінокислот – L-аргініну, таурину і гліцину, які вводилися у трикратному еквімолярному об'ємі відносно загальної кількості фенольних сполук (у перерахунку на галову кислоту). Визначена ефективна доза становить 100 мг/кг, на основі якої розроблено таблетки комбінованого складу «Фітаргін-комбі».

Авторкою вперше доведено, що на тлі експериментальної інсулінорезистентності, «Фітаргін-комбі» здатен зменшувати рівень глікемії у внутрішньоочеревинному тесті толерантності до глюкози через 15 хв після вуглеводного навантаження на 46,3% ($p < 0,05$) та зберігався до 60 хв тестування на рівні 27,3% ($p < 0,05$), за умов дексаметазон-індукованого ЦД2 на 48%, при ЦД2, викликаному введенням стрептозотоцину з попереднім введенням нікотинамідом на тлі ВЖД на 42,3% ($p \leq 0,05$), що статистично достовірно відрізняється від груп контрольної патології.

Вперше вивчено гіполіпідемічну активність «Фітаргін-комбі» та встановлено його здатність коригувати дисліпідемію, яка розвивається на тлі МС та ЦД2, що підтверджено нормалізацією показників ліпідного спектру крові.

Вперше встановлено, що на різних моделях експериментальної інсулінорезистентності «Фітаргін-комбі» виявляє гепатопротекторну дію. Вперше виявлено антиоксидантні властивості «Фітаргін-комбі», які були досліджені на тлі модельної інсулінорезистентності, індукованої високоцукровою дієтою. «Фітаргін-комбі» знижував вміст ТБК-реактивних у гомогенаті печінки в 2,5 рази, дієнових кон'югатів у 2 рази та відновлював стан антиоксидантної системи за рахунок підвищення рівня відновленого глутатіону, каталази та супероксиддисмутази в 2,9, 2,1 та 2,3 рази відповідно у гомогенаті печінки ($p \leq 0,05$).

На тлі дексаметазон-індукованої інсулінорезистентності «Фітаргін-комбі» достовірно знижував вміст ТБК-реактивних у гомогенаті печінки у 2,6 рази, дієнових кон'югатів – у 3,3 рази ($p \leq 0,05$) відносно групи тварин з контрольною

патологією. Резерв GSH зростав у 3 рази ($p \leq 0,05$) порівняно з групою контролю. При ЦД2 під впливом «Фітаргін-комбі» рівень ТБК-Р знижувався у 2,7 рази у порівнянні з контролем, рівень ранніх і пізніх маркерів пошкодження клітинних білків був нижчим ніж у групі контрольної патології у середньому на 58%, підвищувався рівень антиоксидантних ферментів у гомогенаті печінки: каталази – в 1,4 рази та GSH – у 1,5 рази ($p \leq 0,05$) відносно контролю.

Авторкою вперше показаний позитивний вплив «Фітаргін-комбі» на стан NO-синтазної системи. За умов дексаметазонової інсулінорезистентності «Фітаргін-комбі» виразно зменшував рівень оксиду азоту на 33,5 % та цитруліну на 36 % і підвищував рівень аргініну на 56 % ($p \leq 0,05$) відносно групи контрольної патології.

За здатністю нормалізувати вуглеводний обмін, антиоксидантні, атерогенні процеси, за вираженістю протекторного впливу на інсулярний апарат підшлункової залози, за ступенем відновлення порушених метаболічних змін у печінці «Фітаргін-комбі» перевершував арфазетин і метформін. Вперше показано, що одноразове внутрішньошлункове введення «Фітаргін-комбі» у дозі 5000 мг/кг не змінювало рівень глюкози у крові через 30, 60, 120 хв та через добу після введення, що свідчить про відсутність гіпоглікемічної дії у нормо-глікемічних тварин і визначає його переваги перед синтетичними гіпоглікемічними препаратами. Поряд з високою фармакологічною активністю, «Фітаргін-комбі» належить до V класу токсичності – «практично нетоксичні речовини» за класифікацією Hodge та Sterner.

Практичне значення одержаних результатів

Одержані результати обґрунтовують доцільність створення нового антидіабетичного лікарського засобу на основі сухого екстракту з листя журавлини, L-аргініну, таурину та гліцину для профілактики та фармакокорекції інсулінорезистентних станів та ЦД 2, як у вигляді

монотерапії, так і у комплексі з пероральними цукрознижуючими засобами. Результати експериментальних досліджень за темою дисертаційної роботи впроваджено у науково-педагогічний процес кафедри патологічної фізіології з курсом нормальної фізіології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету (протокол № 8 від 09.12.2024), фармакології та клінічної фармації Національного фармацевтичного університету (протокол №9 від 19.12.2024), фармакології та медичної рецептури Харківського національного медичного університету (протокол № 9 від 19.12.2024) та у наукову діяльність Навчально-наукового інституту прикладної фармації Національного фармацевтичного університету (протокол № 2 від 12.12.2024).

Повнота викладу наукових положень дисертації в опублікованих працях

Матеріали дисертаційної роботи опубліковані у 6 статтях, які розміщені у фахових виданнях України, три з них у базі Scopus. Основні положення дисертації оприлюднені на 6 наукових форумах різного рівня, відповідно опубліковано 6 тез доповідей. У роботі відсутні порушення академічної доброчесності.

Зауваження, що стосуються оформлення і змісту дисертації та анотації

Разом із загальною позитивною оцінкою дисертаційної роботи Анісімової Марії Сергіївни слід відмітити деякі зауваження та пропозиції:

1. У дисертації зустрічаються стилістично недосконалі вислови.
2. У деяких місцях зустрічається дублювання інформації.
3. У переліку умовних позначень відсутнє скорочення на «Фітаргін-комбі», проте посилання на нього зустрічаються на сторінках 3 і 161.
4. Доцільним було оцінити вплив «Фітаргін-комбі» на активність ключових ферментів метаболізму глюкози, таких як глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа або піруватдегідрогеназа, що дозволило б глибше пояснити молекулярні механізми дії фітокомпозиції.

5. У роботі встановлено, що застосування «Фітаргін-комбі» сприяє відновленню запасів глікогену в гепатоцитах і покращенню глікогенсинтезуючої функції печінки у щурів з експериментальним метаболічним синдромом. Потребує уточнення, які механізми дії фітокомпозиції можуть опосередковувати ці ефекти, зокрема, чи пов'язані вони з потенційним впливом на активність ферментів глюконеогенезу, таких як глюкозо-6-фосфатаза та фосфоенолпіруваткарбоксикіназа?

Проте, зауваження, що виникли при аналізі дисертації, не стосуються суті роботи та наукових положень, що виносяться на захист, і мають рекомендаційний характер.

Крім того, хотілось би почути думку дисертантки на запитання, що виникли у процесі рецензування:

1. Які основні біологічно активні речовини екстракту листя журавлини визначено у дослідженні, і які з них є ключовими для реалізації гіпоглікемічного ефекту? Який внесок амінокислот у загальну реалізацію гіпоглікемічного ефекту фітокомпозиції?

2. Які результати дослідження свідчать про потенційний вплив «Фітаргін-комбі» на профілактику ускладнень, пов'язаних з цукровим діабетом, таких як діабетична нефропатія чи ретинопатія?

Висновок

На підставі викладеного вище вважаю, що дисертаційна робота Анісімової Марії Сергіївни «Експериментальне обґрунтування застосування фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини для лікування метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу», є самостійною працею, завершеним науковим дослідженням. Дисертаційна робота містить науково обґрунтовані положення з фармакології, що в сукупності становлять суттєвий внесок до вирішення актуального науково-практичного завдання фармакології,

що полягає у розробці та дослідженні нового засобу на основі листя журавлини для терапії метаболічного синдрому і цукрового діабету 2 типу.

За актуальністю, науковою новизною, практичним значенням, обсягом проведених досліджень, рівнем виконання, повнотою публікацій дисертаційна робота Анісімової Марії Сергіївни «Експериментальне обґрунтування застосування фітокомпозиції на основі сухого екстракту з листя журавлини для лікування метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу» відповідає вимогам Постанови КМ України №44 «Порядок присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження доктора філософії», а дисертантка заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».

Рецензент:

Професор кафедри клінічної лабораторної діагностики,
мікробіології та біологічної хімії,
декан факультету медико-фармацевтичних технологій
Національного фармацевтичного університету,
доктор біологічних наук, професор

Ольга НАБОКА