

ВІДГУК

офіційного опонента, доктора біологічних наук, професора Фіри Людмили Степанівни 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», поданої до спеціалізованої вченої ради PhD 8386 у Національному фармацевтичному університеті, що утворена наказом НФаУ № № 48-Адм. від 28 березня 2025 р., для розгляду та проведення разового захисту дисертації на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація»

Актуальність. На сьогодні метаболічний синдром є однією з найактуальніших світових медико-соціальних проблем. Значна поширеність, його роль у розвитку коморбідних захворювань — цукрового діабету 2-го типу, артеріальної гіпертензії, дисліпідемії, атеросклерозу не викликає сумнівів і визначає інтенсивність наукових пошуків ключових ланок патогенезу, діагностики, профілактики та лікування даного синдрому.

Ключовим моментом формування метаболічного синдрому є інсулінорезистентність, що запускає ціле коло симптомів, які призводять до появи тяжких серцево-судинних ускладнень — ішемії міокарду, мозкового інсульту і недостатності кровообігу. У той же час інсулінорезистентність не виникає спонтанно. Ініціюючим моментом як інсулінорезистентності, так і всього метаболічного каскаду найчастіше служить ожиріння, яке в свою чергу, призводить до розвитку артеріальної гіпертензії та здатне спричиняти зниження чутливості периферичних тканин до інсуліну і наступного накопичення надмірної маси тіла.

У світі понад 1,9 млрд людей мають надлишкову масу тіла, а понад 600 млн з них страждають від ожиріння. За останнє десятиліття число хворих на ожиріння збільшилося на 75 %. За прогнозами Всесвітньої організації охорони здоров'я очікується, що до 2030 р. у Європі від ожиріння страждатимуть уже 73 % чоловіків і 63 % жінок.

Ожиріння може викликати інсулінорезистентність, яка призводить до збільшення секреції інсуліну β -клітинами підшлункової залози, у результаті чого

розвивається компенсаторна гіперінсулінемія. Спочатку компенсаторна гіперінсулінемія дозволяє підтримувати вуглеводний обмін в нормі, але сприяє при цьому розвитку метаболічних, гемодинамічних і органних порушень, які призводять до виникнення різних захворювань, у тому числі цукрового діабету 2-го типу.

Згідно з існуючими канонами лікування як ЦД, так і МС, схеми терапії цих захворювань є комплексними та передбачають обов'язкову модифікацію способу життя, раціоналізацію дієти, прийом гіпоглікемічних препаратів (для хворих із ЦД) та засобів, що сприяють нормалізації метаболічних процесів і запобігають розвитку ускладнень.

Лікарські препарати рослинного походження займають провідне місце у комплексній терапії багатьох захворювань. Асортимент даного сегменту препаратів постійно розширюється завдяки тому, що рослинні лікарські засоби поєднують у собі широкий спектр терапевтичної дії. В Україні дозволено лише декілька рослинних засобів з антидіабетичною дією, що робить доцільним пошук та створення нових препаратів для профілактики та лікування як метаболічного синдрому, так і цукрового діабету 2 типу.

Увагу дисертантки привернув сухий екстракт з листя журавлини, модифікований амінокислотами, який в перспективі зможе покращити метаболічні процеси в умовах інсулінорезистентності.

Виходячи з цього, **метою роботи** стало експериментальне обґрунтування доцільності розробки нового лікарського засобу на основі сухого екстракту з листя журавлини, а також таблеток комбінованого складу «Фітаргін-комбі», до складу яких входять сухий екстракт з листя журавлини, L-аргінін, таурин і гліцин для попередження та лікування цукрового діабету 2 типу та метаболічного синдрому.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956), в якій дисертантка є співвиконавцем.

Наукова новизна одержаних результатів. Дисертанткою вперше науково обґрунтовано та експериментально підтверджено доцільність використання фітокомпозиції на основі сухого екстракту листа журавлини з додаванням амінокислот для розробки нових антигіперглікемічних засобів, призначених для корекції інсулінорезистентності та застосування в комплексній терапії цукрового діабету 2 типу.

Встановлено, що Фітаргін-комбі належить до V класу токсичності – «практично нетоксичні речовини».

Авторкою вперше проведено скринінг гіпоглікемічної активності фітокомпозиції та визначена ефективна доза, яка становить 100 мг/кг маси тіла. На основі цієї дози розроблено таблетки комбінованого складу «Фітаргін-комбі».

Дисертантка вперше довела, що на тлі експериментальної інсулінорезистентності, Фітаргін-комбі здатен зменшувати рівень глікемії у внутрішньоочеревинному тесті толерантності до глюкози через 15 хв після вуглеводного навантаження. Вперше було вивчено здатність Фітаргін-комбі коригувати дісліпідемію, яка розвивається на тлі метаболічного синдрому та ЦД2.

Анісімовою М.С. виявлені та підтверджені антиоксидантні та гепатопротекторні властивості фітозасобу Фітаргін-комбі, які були досліджені на тлі модельної інсулінорезистентності, та показаний позитивний вплив його на стан NO-синтазної системи. Поряд з тим, в експерименті було показано, що новий засіб Фітаргін-комбі за активністю значно перевищував препарати порівняння – збір «Арфазетин» та метформін.

Отримані результати роблять перспективними та доцільними подальші дослідження фітокомпозиції Фітаргін-комбі з метою створення вітчизняного антигіперглікемічного засобу для профілактики та лікування метаболічного синдрому та цукрового діабету 2 типу.

Практичне значення одержаних результатів. Анісімовою М.С. експериментально обґрунтовано доцільність створення нового антидіабетичного лікарського засобу на основі сухого екстракту з листа журавлини, L-аргініну, таурину і гліцину для профілактики та фармакокорекції інсулінорезистентних

станів та ЦД 2 типу. Це дозволить розширити асортимент засобів для лікування цукрового діабету та сприятиме оптимізації їх комплексної фармакотерапії.

Результати дослідження дисертаційної роботи впроваджені в науково-навчальний процес ряду профільних кафедр ЗВО України.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків, рекомендацій, їх достовірність. Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень та висновків не викликають сумніву. Дослідження проведені на достатній кількості експериментального матеріалу з використанням сучасних методів аналізу та відповідають меті та поставленим завданням.

Загальні висновки до дисертаційної роботи викладені чітко, стисло та відображають результати проведеної роботи, їх достовірність не викликає сумнівів.

Матеріал, наведений у дисертаційній роботі, є перспективним для впровадження у практичну фармацію.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях. За темою дисертації опубліковано 12 наукових праць, з них 6 публікацій у фахових виданнях (з яких 3 опубліковані у журналах, що входять до наукометричної бази Scopus) та 6 тез доповідей на науково-практичних конференціях.

Обсяг і структура дисертаційної роботи. Дисертаційна робота викладена на 218 сторінках машинописного тексту, складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів, 3 розділів експериментальних досліджень, аналізу та узагальнення одержаних результатів, загальних висновків, списку використаних джерел і 2 додатків. Робота ілюстрована 21 таблицями та 32 рисунками. Список використаних джерел містить 232 найменування, з них 45 кирилицею та 187 латиницею.

У вступі обґрунтовано актуальність теми досліджень, сформульовано мету і завдання, визначено об'єкти та предмет досліджень, наведено основні наукові результати, їх новизну та практичну значимість, відомості про впровадження та апробацію результатів роботи, а також її структуру.

У першому розділі (огляді літератури) дисертанткою наведено аналіз наукових літературних джерел щодо сучасних даних з молекулярних механізмів

розвитку ЦД2 та МС, наведені методи та засоби лікування МС та ЦД2 та його ускладнень. Проведено аналіз рослинних засобів, що застосовуються в профілактиці та лікуванні МС, ЦД2. У цьому ж розділі переконливо наводиться доцільність створення нових андидіабетичних засобів природного походження.

Розділ написаний грамотно, матеріал викладений логічно, в основному, з використанням джерел літератури за останні 10 років. Закінчується він висновками, які вказують на доцільність досліджень вибраного об'єкту.

У другому розділі наведено відомості про об'єкти досліджень та детально описаний дизайн експерименту, описана схема дослідження найбільш ефективних доз використаної рослинної субстанції. Авторкою детально описані експериментальні моделі МС та ЦД2, які були використані для поглибленого вивчення таблеток «Фітаргін-комбі». Як препарат порівняння був вибраний збір Арфазетин та детально описано його приготування, а також антидіабетичний засіб метформін.

У цьому ж розділі наведений вміст БАР у сухих екстрактах з листя журавлини високоплідної.

Наведено методи досліджень щодо вивчення гіпоглікемічної активності, методи визначення біохімічних показників, які характеризують гепатопротекторну, ліпотропну та антиоксидантну дію.

Анісімовою М.С. проведено комплекс морфофункціональних досліджень підшлункової залози та печінки, що є вдалим підтвердженням гепато- та панкреопротекторної дії обраної фітокомпозиції.

Для проведення розрахунків використовували стандартний статистичний пакет «Statistica, версія 6.0» Окрім того, обробки даних проводили за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA. При застосуванні методів математичної статистики був прийнятий рівень значущості $p \leq 0,05$. Статистичне порівняння результатів проведених досліджень здійснювалось за допомогою коефіцієнтів Стюдента та Манна-Уїтні.

Розділ 3, 4 та 5 присвячені власним експериментальним дослідженням. У розділі 3 Анісімова М.С. провела визначення гострої токсичності фітокомпозиції сухого екстракту з листя журавлини, а також скринінгові

дослідження гіпоглікемічної дії фітокомпозиції, L-аргініну, таурину та гліцину, а також таблеток на їх основі.

При дослідженні гострої токсичності нових комбінованих таблеток на основі журавлини з додаванням амінокислот було доведено, що як при внутрішньошлунковому введенні, так і внутрішньоочеревинному введенні, вони відносяться до V класу «практично нетоксичні речовини».

Всі експерименти були проведені на тваринах з нормальним вуглеводним гомеостазом при одноразовому та 14-денному введенні і за умов порушеної толерантності до глюкози. При порушеній толерантності до глюкози, яка викликана дексаметазоном, було доведено пригнічення гіперглікемії фітокомпозицією в дозах 100 і 125 мг/кг. Це дозволило обрати дозу 100 мг/кг як умовнотерапевтичну для проведення наступних досліджень.

Дисертанткою доведено, як фітокомпозиція, так і досліджувані таблетки не викликають гіпоглікемії у нормоглікемічних тварин.

Розділ закінчується чіткими висновками та в кінці нього наведені наукові праці, у яких наведені результати досліджень представлені у даному розділі.

У розділі 4 Анісімовою М.С. представлено результати поглибленого вивчення таблеток Фітаргін-комбі ФК при експериментальному метаболічному синдромі, викликаного високоцукровою дієтою у щурів.

Досліджувалися гіпоглікемічна, гіполіпідемічна, антиоксидантна, панкрео- та гепатопротекторна дія досліджуваних таблеток.

Авторкою встановлено, що Фітаргін-комбі підвищував толерантність до глюкози в 1,8 раза, активував синтез глікогену в печінці в 2,2 раза, знижував інсулінорезистентність в 2,9 раза. Застосування Фітаргіну-комбі викликало покращення процесів енергозабезпечення клітин печінки, що підтверджується підвищенням активності сукцинатдегідрогенази в 2,2 раза та пригніченням глюконеогенезу, на що вказує зменшення вмісту піровиноградної кислоти в 1,7 раза щодо показників групи контролю.

Експериментально доведено, що за активністю таблетки Фітаргін-комбі

перевершують збір Арфазетин та ефективність їх знаходиться на рівні метформіну.

При дослідженні ліпідного спектру встановлені антиатерогенні властивості досліджуваного засобу. Пригнічення окиснювальних процесів за метаболічного синдрому, а також позитивний вплив на показники антиоксидантної системи засвідчують антиоксидантні властивості Фітаргін-комбі.

Морфологічними дослідженнями підтверджено протекторну дію панкреатичних β -клітин. Даний засіб запобігає дистрофічним і некробіотичним змінам у підшлунковій залозі.

У кінці 4 розділу дисертантка робить проміжні висновки та наводить публікації, у які увійшли результати даних досліджень.

У розділі 5 наведені результати вивчення впливу досліджуваних комбінованих таблеток «Фітаргін-комбі» на показники вуглеводного, ліпідного обмінів, процеси неферментативного глікозилювання, показники перекисного окиснення ліпідів, стан антиоксидантної системи, ендотеліальної дисфункції, морфофункціональний стан підшлункової залози та печінки на моделі стрептозотоцин-нікотинамід-індукованого на тлі високожирової дієти ЦД2, а також дослідження антидіабетичних властивостей таблеток комбінованого складу на моделі дексаметазон-індукованого ЦД2.

Позитивним є факт, що відтворюваність індукованого глюкокортикоїдами ЦД2 була продемонстрована не лише в експериментах на тваринах, але й експериментах *in vitro* з використанням ізольованих або культивованих клітин.

Авторка використала сучасні методи дослідження для підтвердження антидіабетичних властивостей Фітаргін-комбі: активність NO-синтазної системи, органоспецифічного для печінки ензиму — гама-глутамілтранспептидази, окиснювальну модифікацію протеїнів.

Встановлено, що ФК за умов лікувально-профілактичного введення проявив виражений гіполіпідемічний та гіпохолестеринемічний ефект.

Морфологічним підтвердженням ефективності застосованого Анісімовою М.С. засобу в 5 розділі є таблиця 5.9, де наведено вплив Фітаргін-

комбі на стан інкреторного апарату щурів за умов ЦД2 (Ме (Q25; Q75)).

Лікувально-профілактичне введення ФК позитивно вплинуло на прояви морфологічних ознак порушення структурно-функціонального стану ендокринної складової підшлункової залози щурів.

За своїм впливом на вуглеводний обмін, процеси ПОЛ/АОС, гіполіпідемічними та гіпохолестеринемічними властивостями Фітаргін-комбі значно перевищував дію препаратів порівняння, що і знайшло відображення у висновках до даного розділу.

Розділ «Аналіз та узагальнення результатів» написаний на 18 сторінках, грамотно, лаконічно. Авторка обґрунтовує доцільність створення нового відчизняного ЛЗ у формі таблеток, до складу якого входить сухий екстракт листя журавлини та ряд амінокислот, для комплексного лікування ЦД2 та інсулінорезистентних станів. Всі виявлені дисертанткою властивості даного засобу обумовлюють антидіабетичні його властивості. Це може бути використано як з профілактичною, так і лікувальною метою у клініці цукрового діабету 2 типу.

Анісімова М.С. з отриманих експериментальних результатів зробила 7 висновків, які адекватні поставленій меті та відповідають завданням, що і були сформульовані на початку дослідження.

Зауваження і пропозиції. Дисертаційна робота Анісімової М.С. містить значний фактичний матеріал, виконана із застосуванням сучасних методів аналізу, висновки авторки ґрунтуються на достовірному фактичному матеріалі.

Проте, поряд з позитивною характеристикою дисертаційної роботи є ряд зауважень та пропозицій.

1. В анотації відсутня новизна досліджень та практичне значення, на що відразу звертається увага усіх, хто ознайомлюється з даною роботою.

2. В огляді літератури, на нашу думку, можна було б більше уваги надати характеристиці такій рослині як журавлина великоплідна та обґрунтувати глибше вибір її, опираючись на дані як народної, так і офіційної медицини.

3. Огляд літератури закінчується наведенням наукових праць дисертантки, в якій представлені експериментальні дані. Хіба в огляді літератури мають місце власні експериментальні результати?

4. Розділи експериментальних досліджень (3,4 та 5) занадто перенавантажені рисунками (особливо морфологічними).

5. На нашу думку, підтверджувати позитивний вплив Фітаргін-комбі на енергетичні процеси у клітинах, посиляючись на активність сукцинатдегідрогенази та вміст глікогену, недоцільно. Бажано було дослідити ще активність цитохромоксидази і макроергічних сполук (АТФ, АМФ).

6. У роботі зустрічаються невдалі вирази, русизми, орфографічні помилки.

Проте, вказані зауваження не мають принципового характеру і не впливають на наукову, практичну значимість роботи і на загальну позитивну оцінку дисертації.

У порядку проведення наукової дискусії вважаю доцільним, щоб дисертантка відповіла на такі запитання:

1. Чим обумовлений вибір метформіну для порівняння антиоксидантних властивостей вашого препарату, адже метформін не проявляє таких властивостей?

2. Поясніть вибір доз фітокомпозиції на етапі скринінгового дослідження.

3. Які, на вашу думку, головні переваги Фітаргін-комбі в порівнянні з сучасною терапією цукрового діабету 2 типу?

Висновок про відповідність дисертації, що пред'являються до дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії. Розглянувши дисертацію 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» та наукові праці, в яких висвітлені основні наукові результати, вважаю, що робота є актуальним і закінченим науковим дослідженням, у якому одержані нові науково обґрунтовані результати, використані сучасні методи аналізу, має наукову новизну та практичну значимість. У роботі відсутні порушення академічної доброчесності.

Отже, дисертаційна робота повністю відповідає вимогам Порядку присудження наукового ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою КМУ від 12 січня 2022 року №44, а її авторка, Анісімова Марія Сергіївна, заслуговує на присвоєння наукового ступеня доктора філософії з галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація».

Офіційний опонент:

Завідувачка кафедри фармації факультету
післядипломної освіти Тернопільського
національного медичного університету
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України
доктор біологічних наук, професор

ЛЮДМИЛА ФІРА