

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора Деримедвідь Людмили Віталіївни на дисертаційну роботу Гайнюк Мар'яни Богданівни «Детоксикуюча дія порошку яблучного пектину за умов алкогольної інтоксикації (експериментальне дослідження)», подану в спеціалізовану вчену раду Д.26.550.01 при ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія

Актуальність теми дисертації.

Проблема зловживання психоактивними сполуками, у тому числі, й алкоголем, є актуальною для багатьох країн світу. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), майже 2 млрд людей на земній кулі вживають спиртні напої, а 76,3 млн мають патологічні стани, обумовлені вживанням алкоголю. 6 % від усіх смертей у світі пов'язані з вживанням алкоголю. Серед осіб, що зловживають алкоголем, рівень летальності в 2 - 4 рази вище, ніж серед хворих у загальній популяції.

Згідно з інформацією Європейського регіонального бюро ВООЗ «Європейський план дій по скороченню шкідливого вживання алкоголю, 2012-2020 рр.», у всьому світі алкоголь є третьою провідною причиною нездоров'я і передчасної смерті, поступаючись лише такими причинами, як низька маса тіла при народженні і небезпечний секс, та випереджає тютюн. Алкоголь чинить тератогенну, канцерогенну, міелосупресивну, нейро-, гепато-, кардіотоксичну та ін. дії. Надмірне вживання етанолу призводить до широкого спектра умисних і ненавмисних травм. Низка багатоцентрових досліджень, проведених в Європі та Північній Америці, довели суттєвий вплив зловживання алкоголем на перебіг і летальність від серцево-судинних захворювань; зростання ускладнень цукрового діабету; збільшення частоти ускладнень у людей з патологією ЦНС, зростання захворюваності на інфекційні захворювання (в тому числі і такі, що передаються статевим шляхом), порушення функцій ШКТ.

Ще однією особливістю надмірного вживання етанолу є надмірне генерування активних форм кисню (АФК), що спричиняє каскад вільнорадикальних порушень. Неоксидативний метаболізм алкоголю відбувається в кишківнику через реакції з мембранними фосфоліпідами та / або вільними жирними кислотами. Все це призводить до підвищення проникності кишкової стінки, дисбіозу, пригнічення локального імунітету та виникненню хронічного запалення слизової оболонки як тонкої, так і товстої кишок.

Тривале зловживання алкоголем призводить до розвитку алкогольної хвороби печінки, котра може трансформуватись у цироз чи рак. Згідно даних статистики розвиток алкогольного гепатиту і цирозу в Україні став причиною смертності у 51,6 % чоловіків та 58,4 % жінок від загальної кількості осіб, що мали подібну патологію іншого генезу.

Тож проблема фармакокорекції алкогольних уражень є актуальною. В комплексній терапії алкоголізму та патологій спричинених вживанням етанолу, досить широко застосовуються засоби детоксикаційної дії.

Необхідність пошуку і впровадження в практику нових фармакологічних препаратів і методів екстреної детоксикації при зловживанні алкоголем є актуальним завданням, що має наукове і практичне значення. З методів еферентної терапії, за критерієм простоти застосування і доступності, ентеросорбція залишається найперспективнішою. Ентеросорбенти зв'язують екзо- і ендogenous речовини в шлунково-кишковому тракті (ШКТ) шляхом адсорбції, іонообміну або комплексоутворення.

Перспективним напрямом у цьому плані є застосування яблучного пектину (ЯП). Як відомо, одним із важливих показників, що характеризують властивості адсорбентів є величина сорбційної поверхні. Для активованого вугілля величина сорбційної поверхні становить 1,5-2 м²/г, однак для яблучного пектину (ЯП) вона становить 220 м²/г, що робить його досить перспективним для подальших досліджень.

Завдяки великій площі активної поверхні пектин має високу адсорбувальну дію та виводить з організму токсини, є безпечним, на відміну від активованого вугілля позбавлений травматичної дії на слизову оболонку ШКТ, не викликає закрепів, не впливає на мікробіоценоз кишки та має пребіотичні властивості.

У зв'язку з вищезазначеним, дисертаційна робота Гайнюк М. Б. «Детоксикуюча дія порошку яблучного пектину за умов алкогольної інтоксикації (експериментальне дослідження)», є вельми актуальною, тому що в ній вперше проведене фармакологічне дослідження активності порошку яблучного пектину (ЯП) в якості детоксиканта за гострої та хронічної алкогольної інтоксикації.

Ступінь обґрунтованості положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх вірогідність. Дисертаційна робота виконана згідно з планом наукових досліджень Державного вищого навчального закладу «Івано-Франківський національний медичний університет» і є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри фармакології «Фармакологічне обґрунтування використання деяких лікарських речовин і засобів природного та синтетичного походження у комплексній корекції захворювань внутрішніх органів та шкіри» (№ державної реєстрації 0115U001726).

Як здобувач наукового ступеня кандидата медичних наук, Гайнюк М. Б. у своїй роботі спирається на чіткі критерії щодо відтворення окремих патологічних моделей та використання надійних методичних підходів визначення відповідних механізмів патогенезу ураження.

Результати досліджень, представлених в дисертації, обґрунтовані об'ємним і достовірним матеріалом. Наукові положення та висновки дисертаційної роботи наводяться на підставі вичерпного аналізу результатів патофізіологічних, фізико-хімічних, фармакологічних, біохімічних, морфометричних досліджень, що базуються на адекватних методах та

достатній статистичній і математичній обробці отриманого цифрового матеріалу, що відповідає міжнародним стандартам. Весь комплекс застосованих методичних прийомів повністю відповідає сформульованим цілі та задачам дослідження, кількість яких достатня для отримання достовірних результатів.

Загальні відомості про роботу. Дисертаційна робота викладена на 169 сторінках (обсяг основного тексту 124 сторінок), проілюстрована 28 таблицями, 17 рисунками. Перелік посилань, обсягом 19 сторінок, налічує 160 джерел, серед яких 72 кирилицею та 88 латиницею.

За темою дисертації опубліковано 10 робіт, з них 5 статей: 4 – у вітчизняних фахових виданнях, 1 – у закордонному виданні (рец. Index Scientificus) (Індія); та 5 тез доповідей в матеріалах науково-практичних конференцій та з'їздів.

Характеристика змісту роботи. *Вступ* до роботи написано лаконічно із залученням основних посилань на узагальнені літературні джерела. Він є достатнім як з позиції актуальності обраної теми, так і сформульованої мети та завдань досліджень. У вступі відображено наукову новизну дослідження та її науково-практичну цінність. Наведено дані щодо публікацій та апробації основних, базових результатів досліджень.

Огляд літератури висвітлює токсичний вплив алкоголю на організм та методи лікування алкогольної інтоксикації та складається з трьох підрозділів: «Токсикологічні властивості етилового спирту», «Засоби для лікування гострого алкогольного отруєння та хронічного алкоголізму. Основні механізми дії препаратів, що використовуються» та «Пектини (структура, ефекти, механізми дії). Властивості яблучного пектину та його застосування в медицині і фармації».

Розділ 2 «Матеріали і методи досліджень» представлений характеристиками об'єктів та предметів дослідження, характеристики лабораторних тварин та переліку використаних засобів та методів дослідження.

Гостру алкогольну інтоксикацію відтворювали шляхом введення 30% етанолу у шлунок за допомогою зонда з оливою із розрахунку 2 мл / 100г маси тіла через .30 хв після годування протягом 3 діб. Дослідження проводили у два етапи – за лікувального та лікувально-профілактичного режиму введення.

Модель підгострої алкогольної інтоксикації відтворювали введенням 30% етанолу у шлунок протягом 11 діб.

За моделювання субхронічної алкогольної інтоксикації дослідним тваринам вводили етанол (30%) у шлунок протягом 28 діб (через 30 хв після годування) зондом з оливою, з розрахунку 2 мл/100 г маси тіла 1 раз на добу.

З метою з'ясування можливого механізму дії ЯП проведене *in vitro* визначення рН у сумішах, що імітують вміст шлунку, тонкої та товстої кишки з додаванням хлороводневої кислоти та алкоголю. Також було проведене визначення значення заряду поверхні пектину.

У піддослідних тварин визначали вміст глюкози, гемоглобіну, кількість еритроцитів, активність АсАт і АлАТ. Стан активності ПОЛ /АОС досліджували шляхом визначення вмісту малонового діальдегіду (МДА), ДК і активністю каталази (КТ у сироватці крові.) Досліджували вміст холестеролу, загального білку, ліпопротеїдів та триацилгліцеролів сироватки крові та визначали рівень середньомолекулярних пептидів (МСМ). На всіх етапах експериментального дослідження дисертант проводила визначення приросту маси тіла та розраховували масовий коефіцієнт печінки за формулою.

Основний матеріал дисертації викладений в *розділі 3* «Результати власних досліджень», де автор послідовно представляє результати власних досліджень, їх оцінку, обговорення та проміжні висновки.

В ньому описано результати дослідження детоксикуючої дії яблучного пектину за гострої алкогольної інтоксикації, підгострої та субхронічної інтоксикації етанолом, наведено зміни гематологічних та біохімічних показників крові тварин за гострої алкогольної інтоксикації, підгострої та субхронічної інтоксикації етанолом та данні щодо застосування яблучного пектину. Також наведено данні щодо вмісту алкоголю в крові алкоголізованих щурів методом газо-рідинної хроматографії

Дисертанткою встановлено, що застосування яблучного пектину та активованого вугілля і кремній диоксиду, уведених у шлунок щурів у лікувальному режимі за умов гострої алкогольної інтоксикації, сприяє зменшенню вмісту алкоголю в крові та збільшенню у порівнянні з контролем кількості тварин, у яких алкоголь відсутній. За здатністю нормалізувати специфічні показники гострого отруєння етиловим спиртом: виживання, стан центральної нервової системи (координація рухів, пізнавальна активність), температура тіла і частота дихальних рухів, вміст гемоглобіну та кількість еритроцитів, активність біомаркерів алкоголю, АсАТ і АлАТ, про-антиоксидантний статус яблучного пектину за лікувального та лікувально-профілактичного режиму застосування значно перевищує ефективність препаратів порівняння. За умов інтоксикації етиловим спиртом внаслідок повторного внутрішньошлункового введення щурам протягом 11 та 28 днів ЯП сприяв зниженню активності маркерів цитолізу (АсАТ, АлАТ), зменшенню кількості молекул середньої маси, вмісту холестеролу, триацилгліцеролів та інтенсивності процесів ПОЛ сироватки крові у порівнянні з контролем, переважаючи дію активованого вугілля та кремній диоксиду.

В *розділі 4* наведено данні морфологічних досліджень печінки за умов гострої та субхронічної алкогольної інтоксикації. Результати морфологічних досліджень тканин печінки за гострої та субхронічної алкогольної інтоксикації свідчать про детоксикуючий та органопротекторний вплив ЯП, оскільки його застосування за лікувального режиму сприяло зменшенню інтенсивності дистрофічних змін та регресу жирової дистрофії печінки, відновлювало репаративні процеси у гепатоцитах і пригнічувало розвиток склеротичних змін портальному полі.

В *розділі 5* досліджено вплив яблучного пектину *in vitro* (вивчено вплив ЯП на рівень рН у середовищах, що імітують умови шлунку та кишки та досліджено сорбційні властивості ЯП). На моделях *in vitro*, що імітують середовище різних відділів шлунково-кишкового тракту, було виявлено, що яблучний пектин на відміну від активованого вугілля і кремній диоксиду проявляє буферні властивості, і за введення алкоголю викликає зсув рН у кислий бік. За результатом визначення точки нульового заряду яблучного пектину можна стверджувати, що за рН вище 3,69 він адсорбує катіони металів або органічних речовин, що пояснює здатність зв'язувати етанол. Вірогідним механізмом захисної дії яблучного пектину за інтоксикації етанолом є абсорбція алкоголю, а також утворення густого шару драглів, що зменшує контакт і всмоктування етанолу в кров, усуваючи розвиток оксидативного стресу, реалізуючи нейро- та гепатопротекторну дію, що підтверджено біохімічними та морфологічними показниками.

У розділі *«Аналіз та обговорення результатів* дослідження» дисертантка досить обговорює результати, намагається висвітлити їхній взаємозв'язок, інтерпретує фармакологічні властивості досліджуваних сполук.

Робота завершується *6 висновками*. Вони пов'язані з результатами, віддзеркалюють фактичні дані та відповідають задачам дослідження.

Наукова новизна отриманих результатів. Наукова новизна результатів, безумовно, не підлягає сумніву, оскільки мова йде про зовсім нове експериментальне вирішення актуальної задачі сучасної фармакології, а саме пошуку нових вискоелективних ентеросорбентів, в досліджах *in vitro* та *in vivo* експериментально обґрунтовано використання яблучного пектину в якості ентеросорбента в умовах моделювання алкогольних уражень, містить нові науково-обґрунтовані та експериментально доведені результати досліджень, які вирішують поставлену наукову задачу.

В досліджах на лабораторних тваринах оцінено ефективність ЯП як засобу фармакологічної корекції токсичної дії на організм етилового спирту та експериментально обґрунтовано доцільність його застосування за умов гострого та хронічного отруєння етанолом.

Встановлено, що за специфічними критеріальними показниками гострої інтоксикації етиловим спиртом – виживання, вміст алкоголю, неврологічний статус (координація рухів, пізнавальна активність), температура тіла і частота дихальних рухів - найефективнішим серед досліджених сорбентів за лікувальної та лікувально-профілактичної схеми застосування є ЯП. Дисертанткою встановлено, що ЯП за гострого отруєння етанолом та повторного перорального введення щуром етилового спирту у токсичних дозах протягом 11 та 28 днів дозволяє нормалізувати біохімічні показники білкового, ліпідного, вуглеводного обміну, маркерів гепатоцитолізу, кількості еритроцитів і вмісту гемоглобіну в периферичній крові щурів, сприяє зменшенню дистрофічних порушень печінки та активації репаративних процесів у гепатоцитах. ЯП попереджає активацію ПОЛ,

нормалізуючи про-антиоксидантний статус організму дослідних тварин за інтоксикації етанолом, переважаючи антиоксидантну дію АВ та КД.

За даними фізико-хімічних досліджень доведено, що механізм детоксуючої дії ЯП за алкогольної інтоксикації зумовлений його здатністю адсорбувати катіони органічних сполук та частково нейтралізувати алкоголь, змінюючи рН середовища.

Практичне значення отриманих результатів. Практична значущість роботи визначається тим, що вперше на основі фармакологічних, біохімічних, патофізіологічних та морфологічних методів досліджено ефективні схеми застосування ЯП в якості детоксиканта за гострого алкогольного отруєння та повторного прийому етанолу в токсичних дозах. Одержані результати є підґрунтям для подальших поглиблених досліджень та розробки лікарського засобу на основі ЯП для впровадження його в медичну практику з метою застосування як фармакотерапевтичного засобу при отруєнні етиловим спиртом.

Результати роботи впроваджено в науково-педагогічний процес кафедр фармакології Вінницького національного медичного університету імені М.І.Пирогова (протокол №3 від 12.10.2018р.), кафедри фармакології та клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія» (протокол №6 від 19.12.2018р.), кафедр фармакології Національного фармацевтичного університету (протокол №15 від 13.12.2018р.), ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України» (протокол №11 від 18.12.2018р.), ДВНЗ «Буковинський державний медичний університет МОЗ України» (протокол №9 від 29.12.2018р.).

Апробація результатів дисертації. Основні результати викладені та обговорені на наукових конференціях: VIII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (Харків, 2016), V Національному з'їзді фармакологів України (Запоріжжя, 2017), IV Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 2016); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Довкілля і здоров'я» (Тернопіль, 2018), 88-й науково-практичній конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 2019). Загалом матеріали дисертації доложено та обговорено на 2 з'їздах та 3 конференціях, за результатами яких надруковані тези.

Висновки узагальнюють результати досліджень, є обґрунтованими та відображають основні напрями в цій галузі. Вони викладені лаконічно, що свідчить про відповідні досягнення при розв'язанні поставлених завдань та мети роботи. В якісному і кількісному (6) характері і обсязі вони повністю відповідають матеріалу, опублікованому у фахових виданнях, викладеному в дисертації та авторефераті. Зроблені висновки характеризують основні досягнення, здобуті та викладені в дисертації.

Недоліки дисертації і автореферату щодо їх змісту та оформлення. Дисертаційна робота виконана на високому сучасному рівні, дає привід для наукової дискусії. Назва дисертації повністю відповідає змісту. Висновки

аргументовані і базуються на великій кількості експериментальних даних. В дисертаційній роботі та авторефераті суттєвих недоліків не виявлено. Дисертація та автореферат написані логічно з дотриманням чинний вимог щодо структури, змісту і технічного оформлення.

Рукопис дисертації та автореферат, на жаль, як і будь-яка інша робота, не позбавлені недоліків оформлення, зокрема наявності не зовсім чітких та вдалих речень (с. 40, 71, 95, 133 і т.д.), стилістичних (с. 43, 97, 142 та ін.) і орфографічних помилок, які утруднюють сприйняття матеріалу, але ніяким чином не знижують загальну високу оцінку виконаної роботи. Інші зауваження зроблені в окремих розділах та на полях рукопису.

Зауваження:

1. Враховуючи методику дослідження МДД за реакцією з тіобарбітуровою кислотою, краще використовувати термін не МДА, а ТБК-активний продукт.

2. Дублювання даних про методики дослідження в розділі результатів власних досліджень.

3. В тексті на стр. 75-76 написано, що вивчали вміст МДА, ДК, каталази, в той же час в таблиці 3.14 – «показники активності МДА, ДК, КТ». В таблиці 3.24 (стр. 94.) вказано «Вміст МДА, ДК та активність КТ» за тих же самих розмірностей показників.

4. В таблицях 3.4, 3.10 вказано «Гематологічні показники тварин за умов...», але наведено лише данні про вміст гемоглобіну та еритроцитів. Краще написати «Вплив ЯП, АВ і КД на рівень гемоглобіну та кількість еритроцитів».

5. Повторення даних «Огляду літератури» в розділі «Обговорення даних дослідження».

6. Недостатня кількість використаних літературних джерел з глибиною пошуку до 5 років.

7. В роботі зустрічаються друкарські стилістичні та орфографічні помилки (с. 40, 43, 71, 95, 97, 133, 142 і т.д.), не всі джерела літератури оформлені за правилами.

Ці зауваження і побажання не є принциповими, не впливають на загальну високу оцінку рецензованої роботи та загальну позитивну оцінку дисертації, а також не зменшують її високу наукову і практичну значущість.

Крім того, хотілося б почути точку зору дисертанта на питання, що виникли у процесі роботи з дисертацією:

1. Чим обґрунтовано вибір препаратів порівняння?

2. Навіщо вивчали рН шлунка і товстого кишківника? Що дає те, що рН буде змінюватись у кислу сторону? Чи не буде це викликати явищ гастриту, враховуючи те, що при тривалому вживанні алкоголю шлунок і так має пошкодження.

3. Чим обумовлено моделювання підгострої алкогольної інтоксикації саме протягом 11 діб та субхронічної алкогольної інтоксикації протягом 28 діб? Які зміни будуть спостерігатись саме у ці строки досліджень і внаслідок чого?

Вітальні функції у тварин за субхронічної інтоксикації досліджували на 1, 3 та 28 добу. Чому не робили проміжний контроль на середині експерименту?

4. Одним із маркерів пошкоджень при алкоголіній хворобі печінки є зростання ГГТП та ЛФ. Чому Ви досліджували активності АСАТ, АЛАТ, але не вивчали зміни ГГТП та ЛФ?

5. При тяжких ступенях інтоксикації алкоголем застосовують багатокomпонентну фармакотерапію. Як, на Ваш погляд, яблочний пектин буде взаємодіяти з іншими препаратами, у тому числі й при пероральному шляху введення останніх?

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.
Дисертація Гайнюк Мар'яни Богданівни «Детоксикуюча дія порошку яблучного пектину за умов алкогольної інтоксикації (експериментальне дослідження)», являє собою закінчену наукову роботу, що виконана на хорошому методичному рівні із застосуванням сучасних методів на достатній кількості тварин.

Робота має наукову новизну, тому що присвячена дослідженню яблучного пектину за умов алкогольної інтоксикації. Робота має практичне значення, тому що обґрунтовує раціональні підходи фармакокорекції алкогольних інтоксикацій.

Таким чином, за актуальністю проблеми, високим методичним рівнем, обсягом досліджень, науковою новизною, теоретичним та практичним значенням отриманих результатів, їх вірогідністю, обґрунтованістю висновків, ступенем опублікування та загальним науковим рівнем дисертаційна робота Гайнюк Мар'яни Богданівни «Детоксикуюча дія порошку яблучного пектину за умов алкогольної інтоксикації (експериментальне дослідження)», що представлена до офіційного захисту на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія, є самостійним, завершеним науковим експериментальним дослідженням і повністю відповідає вимогам п. 11 Порядку присудження наукових ступенів, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року №567 (зі змінами), а її автор Гайнюк Мар'яна Богданівна заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія.

Професор кафедри фармакології
Національного фармацевтичного університету
доктор медичних наук, професор

 Л.В.Деримедвідь

Підпис проф. Деримедвідь Л.В. засвідчую


  