

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора Супрун Еліни Владиславівни на дисертаційну роботу НАГОРНОЇ Олени Олександрівни «Кардіо- та ендотелійпротекторні властивості похідних 1,2,4-триазолу», подану в спеціалізовану вчену раду Д.26.550.01 при ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія

Дисертаційна робота Нагорної Олени Олександрівни присвячена актуальній проблемі сучасної медицини та фармації – розробці нових ефективних оригінальних препаратів з прямою ендотелійпротекторною дією.

Актуальність теми дисертації. Серцево-судинні захворювання – артеріальна гіпертензія (АГ), ішемічна хвороба серця (ІХС), хронічна серцева недостатність (ХСН) – посідають перше місце серед причин смертності, інвалідності, непрацездатності населення. В основі патогенезу виникнення серцево-судинних захворювань провідна роль відводиться ендотеліальній судинній дисфункції, фармакологічна корекція якої при серцево-судинній патології є наразі одним з найбільш перспективних напрямків сучасної медицини.

Ендотеліальна дисфункція (ЕД) як системна патологія пов'язана з порушенням мікроструктури і секреторної функції ендотелійзалежних клітин, що призводить до зниження ендотелійзалежної вазодилатації, гіперкоагуляції, підвищеного тромбоутворення, збільшення судинної проникності та міграції ліпопротеїнів в інтиму судин, проліферації гладком'язових клітин і ремоделювання міокарда та судин.

Основним механізмом формування ЕД є зниження утворення і біодоступності NO, поява його цитотоксичних форм на фоні оксидативного стресу та дефіциту відновлених низькомолекулярних тіолів. При цьому основними причинами дефіциту NO в ендотеліальних клітинах можуть бути знижений вміст попередника оксиду азоту (L-аргініну), зниження експресії або активності ендотеліальної синтази оксиду азоту, недостатність кофакторів синтезу NO (особливо тетрагідробіоптерину), підвищення рівня ендогенних інгібіторів eNOS асиметричного диметиларгініну і монометил-L-аргініну, підвищене утворення реактивних форм кисню (зокрема, супероксид аніону), а також ліпопротеїнів низької щільності (особливо їх окиснених форм). Молекулярні основи дисфункції судинного ендотелію – складна і не до кінця вивчена проблема.

Вивчення стану ендотеліальної стінки, корекція ендотеліальної дисфункції при серцево-судинній патології є наразі одним з найбільш перспективних напрямків, що визначає можливість розвитку судинних ускладнень, сприяє поліпшенню прогнозу. Для лікування захворювань серцево-судинної системи застосовують препарати різної хімічної структури та механізму дії: бета-адrenoблокатори, інгібітори ангіотензин-

перетворюючого ферменту, антагоністи кальцію, блокатори ангіотензинових рецепторів, діуретики, метаболітотропні препарати.

У теоретичному плані ще остаточно не з'ясована роль порушень при вищезазначених станах окремих лімітуючих ланок метаболізму: енергетичного обміну, обміну оксиду азоту, показників тіол-дисульфідної системи, факторів росту ендотелію, прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу та компенсаторних метаболічних шляхів, а також молекулярних механізмів їх регуляції у формуванні ішемічного пошкодження міокарда та ефективність ендогенної кардіоміопротекції. Проведення цілеспрямованої кардіо- та ендотеліопротекції можливо тільки після дослідження змін цих показників та з'ясування ролі ендотелію в патогенезі вищезазначених захворювань, що дасть можливість проведення цілеспрямованої фармакологічної корекції. На сьогодні мало відомо про позитивний вплив на функціональний стан ендотелію препаратів різних фармакологічних груп, що належать до засобів первинної та вторинної кардіопротекції. Тому значну цінність являють собою дані про вплив різних метаболітотропних засобів на функціональні характеристики ендотелію. Зважаючи на роль оксиду азоту, а також речовин, пов'язаних з його обміном, в підтримці функції ендотелію, особлива увага була приділена препарату «Тіотриазолін», який володіє властивістю стабілізувати оксид азоту та бере участь у його транспорті, та похідним амінокислоти L-лізину – коректора порушень функцій ендотелію, що також підтримує енергетичний потенціал серцевого м'яза. Враховуючі ці дані, на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету синтезована нова молекула, до структури якої входять складові молекул тіотриазоліну та L - лізину – похідне 5-тіокарбонових кислот: 1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат, яка за попереднім скринінгом визнана сполукою – лідером (отримала назву ангіолін) та яка являє зацікавленість в плані створення нових високоефективних та безпечних метаболітотропних кардіопротекторів з вираженим впливом на ендотелій судин міокарду. Тому дослідження фармакологічних властивостей нових похідних 1,2,4-триазолу є перспективними з позицій розробки засобів метаболітотропної кардіо- та ендотеліопротекції та оцінки їх ефективності при експериментальній патології серцево-судинної системи. Таким чином, обрана дисертантом тема докторської дисертації без усяких сумнівів є високоактуальною і дуже своєчасною з двох сторін: з фундаментальної та практичної.

З фундаментального боку – тема є важливою, оскільки налаштовує на бачення перспектив застосування і розробки нового класу ефективних ендотеліопротекторів, здатних позитивно та комплексно проявляти кардіо- та ендотеліопротекторну дію при моделюванні інфаркту міокарда у щурів (на підставі показників оксидативного та нітрозуючого стресу, системи оксиду азоту та тіол-дисульфідної системи, морфо-функціональних показників ендотеліоцитів) та гострої оклюзії коронарної артерії з реєстрацією лімітуючих ланок енергетичного метаболізму та компенсаторних шунтів продукції АТФ, впливати на ендотелій як мішень для профілактики та

лікування патологічних процесів серцево-судинної системи, що призводять до ІХС, ХСН, АГ.

З боку практичного втілення результатів пошуку – можливість довести комплексну дію на ендотелій як мішень для профілактики та лікування патологічних процесів серцево-судинної системи, отже обґрунтувати практичне використання ефективних коректорів ендотеліальної дисфункції, а саме доцільності призначення ангіоліну в моно- та комбінованій терапії ішемічної хвороби серця, хронічної серцевої недостатності та артеріальної гіпертензії.

Все це свідчить про актуальність пошуку та необхідність вивчення нових ефективних сполук, що можуть рекомендуватися у якості ендотеліопротекторів. Можна стверджувати, що обрана тема ґрунтується на сучасних досягненнях біологічної та медичної науки і створює передумову для кращого розуміння біохімічних та фізіологічних механізмів фармакологічної корекції ендотеліальної дисфункції. Отже, вибрана дисертантом тема конкретного дисертаційного дослідження без усяких сумнівів є високоактуальною і важливою з огляду на фундаментальне та практичне значення результатів.

Ступінь обґрунтованості положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність. Дисертаційна робота є фрагментом наукових робіт кафедри фармакології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, що виконувалась за темами: «Експериментальне обґрунтування комбінованого застосування кардіотропних препаратів» (№ державної реєстрації – 0111U009417) та «Експериментальне дослідження фармакологічних властивостей ендотеліопротекторних сполук» (№ держреєстрації 0115U004159). Робота також виконана відповідно до плану наукових досліджень Запорізького державного медичного університету і є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри фармакології та медичної рецептури за темою «Молекулярно-біохімічні механізми формування мітохондріальної дисфункції нейронів головного мозку за умов гострої церебральної ішемії: нові мішені для нейропротекції» (№ держ.реєстрації 0113U000797; 2013-2015pp.) та «HSP70/HIF-1 α -опосередковані механізми ендогенної нейропротекції: розробка підходів до її фармакологічної регуляції» (№ держ.реєстрації 0117U000658; 2017-2020)U009417). Дисертант є співвиконавцем вищезазначених тем.

Результати досліджень, представлених в дисертації, обґрунтовані об'ємним і достовірним матеріалом. Наукові положення та висновки дисертаційної роботи наводяться на підставі вичерпного аналізу результатів фармакологічних, токсикологічних, електрофізіологічних, біохімічних, морфологічних, імуногістохімічних, фармакокінетичних, квантово-хімічних 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 346 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 7 розділів власних досліджень, обговорення результатів, а також висновків та списку використаних літературних джерел. Дисертація ілюстрована 67 таблицями та 11 рисунками. Список використаних джерел налічує 379 найменувань (242 – кирилицею, 137 – латиницею).

За темою дисертації опубліковано 53 наукові праці, у тому числі 30 робіт у наукових фахових виданнях, 23 матеріалах з'їздів, конференцій, конгресів. Дисертант є співавтором 2 методичних рекомендацій, 2 монографій, отримано 3 патенти України.

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

Огляд літератури висвітлює молекулярно-біохімічні механізми розвитку ендотеліальної дисфункції та шляхи пошуку ендотеліопротекторів і складається з чотирьох підрозділів: «Функціональний стан судин та ендотелію при захворюваннях серцево-судинної системи», «Лікарські засоби з ендотеліопротекторною дією», «Фармакологічна характеристика похідних 1,2,4-триазолу та лікарських засобів на їх основі» та «Похідні 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіокарбонових кислот – перспективні кардіо- та ендотеліопротектори». Проаналізовано проблему дослідження властивостей ендотелію судин у зв'язку з отриманими даними щодо його провідної ролі між багатьма важливими функціями: вазодилатацією та вазоконстрикцією, інгібіторами та промоутерами росту, анти- та тромбозом, факторами, що сприяють та перешкоджають запальному процесу, анти- та прооксидантами.

Під дисфункцією ендотелію розуміють дисбаланс між системами локальної регуляції гомеостазу та судинного тону, а також між анти- і прокоагулянтними медіаторами, факторами росту та їх інгібіторами. Ендотеліальну дисфункцію вважають системною патологією, тому що вона пов'язана з порушенням мікроструктури і секреторної функції ендотелійзалежних клітин та різних органів, що призводить до зниження ендотелійзалежної вазодилатації, гіперкоагуляції, підвищеного тромбоутворення, збільшення судинної проникності та міграції ліпопротеїдів в інтиму судин, проліферації гладком'язових клітин і ремоделюванню міокарда та судин.

Ендотелій здійснює і синтез цілого ряду факторів росту, що беруть участь у формуванні атеросклеротичного ураження. Їх продукція також збільшується під дією медіаторів запалення і факторів ризику атеросклерозу. Сьогодні велика увага дослідників привертається до процесів ангіогенезу,

процесу утворення нових кровоносних судин з вже існуючої судинної системи.

Одним з найважливіших та специфічних факторів, що регулюють процеси ангіогенезу, є васкулоендотеліальний фактор росту (VEGF). Наведені дані щодо важливої ролі VEGF в патогенезі артеріальної гіпертензії. Показано, що одним з побічних ефектів блокади VEGF з боку серцево-судинної системи є розвиток артеріальної гіпертензії. Це може обмежувати широке використання препаратів, що блокують дію VEGF, які вже широко та ефективно використовуються в онкології.

Оскільки у даний час не існує препаратів для специфічної корекції ендотеліальної дисфункції, велику цінність мають дані про вплив серцево-судинних лікарських засобів різних фармакологічних груп на функціональні характеристики ендотелію. Значний практичний інтерес може представляти комплексне лікування ЕД при хронічній церебральній ішемії, артеріальній гіпертензії, алкогольному пошкодженні міокарда та головного мозку, хронічній серцевій недостатності, коли базова кардіопротекторна і нейропротекторна терапія буде поєднуватися із застосуванням препаратів, які оптимізують енергообмін. Застосування таких препаратів зменшує негативний вплив оксидативного і нітрозуючого стресу на ендотелій судинної стінки, та індукують утворення оксиду азоту. Можна вважати, що майбутнє належить препаратам, які мають не лише кардіо- або нейропротекторну дію, але й опосередковано позитивно впливають на ендотеліальну функцію. Тому актуальним стало вивчення ендотеліопротекторних властивостей препаратів з різними патогенетичними механізмами дії, що поліпшують метаболізм, мають антиоксидантні властивості, є природними донорами оксиду азоту та активаторами ферменту NO-синтази, що містять у своєму складі "есенціальні" фосфоліпіди, а також афінно очищені антитіла до ендотеліальної NO-синтази. Складні ефіри триметилгідразонію пропіонату і гамма-бутиробетаїну є структурними аналогами ацетилхоліну. Триметилгідразонію пропіонат, стимулюючи рецептори ацетилхоліну, викликає індукцію ендотеліальної NO-синтази. Впливаючи якості активатора на рецептори ацетилхоліну, триметилгідразонію пропіонат поліпшує нейропластичні властивості мозку, які здатні стати основою для багатьох церебральних клінічних ефектів. Також відомі наукові факти підтверджують, що в даний час використовують цитопротектори метаболічної дії (триметазидин, триметилгідразонію пропіонат), які не тільки блокують бета-окиснення жирних кислот в мітохондріях, а також на альтернативній основі стимулюють окиснення глюкози, впливають на індукцію біосинтезу оксиду азоту за рахунок збільшення кількості гамма-бутиробетаїну, а також здатності протистояти окислювальному стресу. Триметилгідразонію пропіонат частково сповільнює транспорт жирних кислот, зменшує їх окиснення, в результаті чого зменшується потреба клітини у кисні. Препарат запобігає накопиченню токсичних проміжних продуктів обміну речовин (ацилкарнітин і ацил-КоА) і викликані ними пошкодження клітин. Зменшення швидкості окиснення

жирних кислот включає альтернативну систему виробництва енергії – окиснення глюкози,

Згідно європейських та українських рекомендацій, інгібітори АПФ і блокатори рецепторів ангіотензину II, які володіють опосередкованим впливом на функцію ендотелію залишаються препаратами першої лінії для лікування артеріальної гіпертензії. Разом з тим, в цих групах у деяких препаратів більше виражені органо- та ендотеліопротекторні властивості. Це стосується інгібітору АПФ – квінаприлу та блокатору рецепторів ангіотензину II 1 типу ірбесартану.

Останнім часом для корекції ЕД у практиці ангіоневрології знаходить все більше застосування український препарат *L*-лізину есцинат, в основі його потужної протизапальної, антиексудативної дії лежить здатність підвищувати резистентність судин за рахунок зменшення кількості пор капілярів та їх діаметра, мембранотропного ефекту і змочуваності ендотеліоцитів, що полегшує спрямований всередину капіляра струм тканинної рідини і знижує периваскулярний набряк.

Останнім часом з усіх вищеперелічених антиоксидантів найбільше застосування як в експериментальній, так і в практичній медицині знайшли “прямі” антиоксидантні препарати – дибунол і α -токоферол ацетат. Враховуючи багатокomпонентність процесів ВРПО, ведеться пошук речовин з антиоксидантною активністю серед різних класів хімічних сполук — селенітів, сірковмістких сполук, 6-оксипіридинів, комплексоутворюючих речовин, нативних ферментів і т.д. За кордоном вже проходять клінічну апробацію препарати, створені на основі меркаптопропіоніл гліцину, супероксидисмутази, каталази та ін.

Співпрацівниками кафедр фармакології Запорізького державного медичного університету та Національної фармацевтичної академії серед похідних 5-тіо-1,2,4-триазолу і 4-аміно-1,2,4-триазолу виявлені сполуки з високою анаболічною, ранозагоюючою, антигіпоксичною активністю. Сполуки даних рядів проявляли високу антиоксидантну активність і перевершували за силою ефекту широко застосовуваний антиоксидант – токоферолу ацетат.

Базуючись на експериментальних даних про фармакологічні властивості *L*-лізину, Тіотриазоліну, співробітники НВО «Фарматрон» і кафедри фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету синтезували нову, раніше не відому молекулу: *L* - лізіна 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат [211, 212] (робоча назва «Ангіолін»), яка представляє інтерес в плані створення нових високоефективних і безпечних ендотеліо–органопротекторів і, визначили доцільність і перспективність проведення дослідження вданому напрямку. Експериментально встановлена нейропротекторна, органопротекторна дії ангіоліну, які підтверджені фармакологічними, біохімічними, гістологічними, морфологічними дослідженнями, що може бути підставою для висловлення припущення про наявність у ангіоліну кардіо- та ендотеліопротекторної активності.

В останні роки широке застосування в неврологічній і нейрохірургічній практиці отримали Тіотриазолін і L-лізину есцинат. Обидва ці препарати, володіючи унікальними властивостями, в різній мірі здатні переривати каскад реакцій, що запускаються в головному мозку у відповідь на ішемічне ураження і зменшувати пошкодження ендотелію.

Ендотеліальна дисфункція розглядається як предиктор цереброваскулярних і серцево-судинних захворювань. При цьому встановлення ролі ендотелію в патогенезі вищезазначених захворювань призвело до розуміння того, що ендотелій регулює не тільки периферичний кровотік, а й функції життєвоважливих органів. Саме тому об'єднуючим стала концепція про ендотелій як про мішень, вплив на яку грає роль в профілактиці і лікуванні патологічних процесів, як при цереброваскулярних так і при серцево-судинних захворюваннях.

Експериментально встановлена нейропротекторна, органопротекторна дії ангіоліну, які підтверджені фармакологічними, біохімічними, гістологічними, морфологічними дослідженнями, що може бути підставою для висловлення припущення про наявність у ангіоліну кардіо- та ендотеліопротекторної активності.

Розділ 2 «Матеріали і методи досліджень» представлений характеристиками об'єктів та предметів дослідження, характеристиками лабораторних тварин та переліку використаних засобів та методів дослідження. У дисертаційній роботі застосовували наступні препарати: ангіолін – (НВО «Фарматрон» (Україна), фармацевтична компанія «Артеріум» (Україна), мілдронат – АО «Гріндекс» (Латвія), апровель (ірбесартан) – Санофі Вінтроп Індастрія (Франція), аккупро (квінаприл) – Пфайзер Менюфекчуринг Дойчленд ГмбХ, (Німеччина), доксорубіцин «Ебеве» (доксорубіцин) – ЕБЕВЕ Фарма Гес.м.б.Х. Нфг. КГ (Австрія), пітуїтрин – АВ «Endokrininiai» (Литва), ізадрин – ОАТ «Нижфарм» (Російська Федерація).

Ефективність обраних препаратів та механізми їх дії вивчалися в експериментах на кролях породи Шиншила обох статей, отриманих з віварію Національного медичного університету імені О.О. Богомольця; білих щурах обох статей стадного розведення лінії Вістар та щурах-самцях зі спонтанною артеріальною гіпертензією (САГ), отриманих з віварію інституту фізіології ім. О.О.Богомольця; білих мишах лінії С57BL/6, та СВА в центральній науково-дослідній лабораторії НФаУ та ЦНДЛ Запорізького державного медичного університету, сертифікованих Державним експертним центром МОЗ України.

Дисертант в своїх експериментах використала дуже широкий набір експериментальних підходів для вирішення поставленої мети, яку він сформулював наступним чином: «проведення первинного скринінгу за антиоксидантною, цитопротекторною активностями в ряду похідних 1,2,4-триазолу in vitro, визначення сполуки-лідера, вивченняїї кардіо- та ендотеліопротекторних властивостей, оцінкаїї ефективності на моделях патологічних станів серцево-судинної системи різного генезу та створення на

її основі оригінального препарату». Для її виконання були поставлені та вирішені 8 основних завдань.

Перед моделюванням патологічних станів визначали гостру та хронічну токсичність на 3 видах тварин (миші, щури, кролі). Вивчення гострої токсичності проводили за методом Кербера в модифікації А.О. Лойта и М.Ф. Савченкова, використовуючи класифікацію К.К. Сидорова. Середню ефективну дозу ангіоліну визначали на моделі гострої ішемії міокарда за активністю кардіоспецифічного ізоензіма креатинфосфокінази (МВ-КФК) і вмісту нітротирозину.

Моделями патологічних станів серцево-судинної системи були обрані: гострий інфаркт міокарда (ГІМ) (дрібновогнищевий) у щурів, що моделювали поетапним введенням ізадрину і пітуїтрину; гостра ішемія міокарда у щурів, яку моделювали шляхом незворотньої оклюзії гілки нисхідної артерії; ХСН у білих безпородних щурів-самців, яку викликали введенням доксорубіцину; артеріальна гіпертензія (АГ), в якій використовували щурів з АГ лінії (Окамото – Аокі) SHR, що за патогенезом наближається до артеріальної гіпертензії у людей, та нормотензивні щурі лінії Вістар.

Кардіопротекторну активність препаратів при моделюванні ГІМ та незворотньої оклюзії оцінювали за показниками ЕКГ. Артеріальний тиск вимірювали плетизмографічним методом на хвостовій артерії щурів. Реєстрація ЕКГ відбувалася шляхом накладання на кінцівки голчастих електродів за загальноприйнятою схемою в стандартних відведеннях під тіопентал-натрієвим наркозом (40 мг/кг). Показники кардіо- та системної гемодинаміки визначали загальними методами – у гострому експерименті після катетеризації лівого шлуночка серця реєстрували максимальний тиск лівого шлуночка (РЛШ) мм рт. ст., системний артеріальний тиск (САТ) мм рт. ст., частоту серцевих скорочень (ЧСС) уд / хв. на приладі HP VIRICUA Component Monitoring System Hewlet Packard, Німеччина. За допомогою методу термодилуції реєстрували хвилинний обсяг крові (ХОК) мл. З урахуванням величини ХОК, САТ, ЧСС і поверхні тіла (ПТ) м² розраховували РІЛШ, РУІЛШ.

Біохімічними дослідженнями у щурів визначали вплив препаратів на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз, енергетичний обмін, показники обміну оксиду азоту і тіол-дисульфідної системи, які ідентифікували в мітохондріальній і цитозольній фракціях. Цитоплазматичну і мітохондріальну фракції виділяли методом диференційного центрифугування на рефрижераторній центрифугі «Sigma 3-30k» (Німеччина) при 14000 g 10 хв при +4°C. Ступінь окислювальної модифікації білків визначали за реакцією взаємодії окислених амінокислотних залишків з 2,4-динітрофенілгідразином з утворенням маркерів окисної модифікації білка – альдегідфенілгідразонів (АФГ), кетонфенілгідразонів (КФГ). Антиоксидантні ферменти (активність каталази та супероксиддисмутази) визначали спектрофотометрично. Стан енергетичного обміну визначали за рівнем найбільш значущих інтермедіатів – АТФ, АДФ, АМФ, лактату, пірувату,

малата, активності малатдегідрогенази (МДГ) та креатинфосфокінази. Про продукцію, метаболізм та транспорт NO судили за активністю NO-синтази (NOS), вмістом нітротирозину, нітратів, рівню сумарних SH-груп і активності глутатіонредуктази. Мітопротекторну дію визначали за здатністю досліджуваної речовини запобігати утворенню мітохондріальних пор і знижувати мембранний потенціал (Ψ) мітохондрій. Концентрацію в цитоплазматичній або мітохондріальній фракціях органів (серце, головний мозок) HSP70 визначали методом Вестерн-блот аналізу.

Для вивчення морфофункціонального стану міокарда та ядер ендотеліоцитів гістологічні зрізи депарафінували за стандартною методикою за забарвлювали галоціанін-хромовими квасцями по Ейнарсону для специфічного виявлення РНК. Морфометричний аналіз кардіоміоцитів та ендотеліоцитів проводили на мікроскопі Axioskop (Ziess, Germany) за допомогою відеокамери COHU-4922(USA) та вводили в систему цифрового аналізу зображення VIDAS-386 (KontronElectronic, Germany).

Фармакокінетичними дослідженнями кількісно визначена субстанція (S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат – розчин для ін'єкцій та таблетках препарату «Ангіолін». Визначення концентрації активної складової сполуки «Ангіолін» проводили за допомогою високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з мас-спектрометричним детектором фірми «Agilent Technologies 1200 Series» (США). Квантово-фармакологічні молекулярні структури ангіоліну досліджували за показниками: енергії сольватації, вільної енергії у водному розчині з урахуванням ефектів сольватації-десольватації, енергії молекулярних орбіталей і значення дипольного моменту, встановлених за допомогою теорії функціоналу густини, з використанням гібридного функціоналу B3LYP у неемпіричному базисі 6-31G (d,p) із поляризаційними функціями та сольватаційної моделі IEFPCM програмного пакету GAMESS.

Отримані результати оцінювали на підставі статистичної обробки методами варіаційної статистики. Статистичну обробку результатів досліджень проводили за допомогою спеціалізованої програми “BioStat 2009” (AnalystSoft Inc., USA) та пакета програм “Statistica 6.0”.

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

Розділ 3 присвячений результатам власних досліджень первинного скринінгу у ряду похідних 3-метил-1,2,4-триазол-5 тіокарбонових кислот антиоксидантної, протиішемічної, NO-ергічної, цитопротекторної активностей *in vitro*. Вивчення антиоксидантної активності проводилися в дослідах *in vitro* за умов моделювання нітрозативного стресу шляхом додавання до інкубаційного середовища динітрозольного комплексу заліза (DNIC) в токсичній концентрації 250 мкмоль/л на відібраних 11 сполуках – похідних 1,2,4-триазолу – 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіокарбонових кислотах та їх солях. Внесення до інкубаційного середовища досліджуваних сполук показало наявність у них здатності обмежувати реакції оксидативного стресу,

що спричинені додаванням DNIC. Найбільш активними у цьому відношенні виявилися сполуки під робочим шифром 1.2 (тіотриазолін) та 1.11 (ангіолін), які обмежували окисну деструкцію білків і накопичення їх альдегідних похідних на 35,9 та 41,5%% відповідно.

Паралельно з накопиченням альдегідних похідних, спостерігалось зростання кетонфенілгідразонів (КФГ), що є пізніми маркерами окисної деструкції білкових молекул та свідчать про розгортання реакцій оксидативного стресу, які відбувалися на фоні підвищення маркеру нітрозативного стресу – нітротирозину. Проведеними дослідженнями встановлена здатність досліджуваних сполук виступати у якості молекул-«пасток» для монооксиду азоту та інших його реакційно-здатних активних форм, що проявлялося зменшенням вмісту нітротирозину в інкубаційному середовищі. Більш активними у цьому відношенні були тіотриазолін та ангіолін.

Встановлено, що інкубування нейронів з DNIC призводило до зміщення тіол-дисульфідної рівноваги в бік окислених тіолів, про що свідчило зниження рівня відновленого глутатіону у 5,9 разів, що відбувалося на фоні накопичення його окисленої форми у 3,6 разів. Вказане порушення тіол-дисульфідної рівноваги розгорталося на тлі зниження активності ключових ферментів системи глутатіону – Г-S-T і ГР відносно інтактних проб. Внесення до інкубаційного середовища тіотриазоліну та ангіоліну в дослідах *in vitro* обмежували не лише окисну модифікацію білків, а й завдяки модуляції патобіохімічних реакцій окисного стресу сприяли обмеженню окисної модифікації ферментів, зберігаючи їхню функціональну активність. Так, внесення тіотриазоліну викликало збереження активності глутатіон-S-трансферази у 3,5 разів, а глутатіон-редуктази – у 2,3 рази. Ангіолін чинив у даному відношенні більш виражену дію та підвищував активність вказаних ферментів у 3,7 та 2,7 разів відповідно, у порівнянні з показниками активності в контрольній серії.

Отримані результати дозволили зробити висновок, що, на підставі проведених експериментальних досліджень було виділено найбільш активну сполуку - лідера, а саме ангіолін для проведення подальших досліджень щодо виявлення ендотеліопротекторної та кардіопротекторної дії цього засобу.

4-й розділ присвячений дослідженню нешкідливості ангіоліну в гострому і хронічному експерименті та визначенню ЕД₅₀. Критеріями фармакологічної активності препаратів були обрані інтегральні показники ефективності – визначення гострої токсичності при внутрішньошлунковому і внутрішньоочеревинному введенні у мишей, гострої токсичності при внутрішньошлунковому і внутрішньоочеревинному введенні препарату у щурів, гострої токсичності при внутрішньовенному введенні препарату у кролів. За результатами дослідження гострої токсичності препарату «Ангіолін» (миші, щури, кролі) препарат віднесли до V класу токсичності (практично нетоксичні речовини). Препарат «Ангіолін» не виявляє шкірно-подразнюючу дію на неушкоджену шкіру щурів, і не володіє ульцерогенною дією у щурів.

Підрозділи 4.2 та 4.3 присвячені аналізу кумулятивних властивостей Ангіоліну та його хронічної токсичності. Доведено, що досліджуваний препарат не має кумулятивних властивостей відповідно до індексу кумуляції. Вивчення загальнотоксичної дії ангіоліну при 90-денному внутрішньоочеревинному введенні 2,5% розчинув дозах 50, 250 і 500 мг/кгта при 180-денному внутрішньошлунковому введенні терапевтичної (100 мг/кг), проміжної (500 мг/кг) і субтоксичної (1000 мг/кг) доз показало відсутність значущих негативних змін функцій органів і систем, тобто продемонструвало безпеку препарату.

В підрозділі 4.4 проаналізовано обґрунтування ефективної дози ангіоліну при внутрішньоочеревинному введенні на моделі гострої ішемії міокарда (ГІМ), викликаній введенням адреналіну і кофеїну-бензоату натрію щурам. Визначена ефективна доза ангіоліну (50 мг/кг) при внутрішньоочеревинному введенні щурам за змінами активності МВ-КФК на моделі гострої ішемії міокарда.

Розділ 5 відведений опису результатів кардіо- і ендотеліопротекторної активності Ангіоліну за моделювання гострого інфаркту міокарда. Проведено вивчення кардіопротекторного впливу ангіоліну порівняно до мілдронату на показники ЕКГ при ГІМ. Встановлено, що препарат достовірно знижував ЧСС на 21,7%, зменшував відхилення ST на 20%, сприяв відновленню до контрольного рівня амплітуди зубця Т. При вивченні впливу ангіоліну на морфо-функціональні показники кардіоміоцитів і ендотеліоцитів при ГІМ був показаний кардіопротекторний ефект препарату, про що свідчило зменшення зони некрозу в міокарді на 57,8%, підвищення концентрації РНК в ядрах на 15,5% і цитоплазмі міокардіоцитів на 20,1%.

При визначенні впливу ангіоліна на показники NO/відновленні тіоли при моделюванні ГІМ, отримані дані, які говорять про те, що Ангіолін не має прямої стимулюючої дії на активність NO-синтази та рівень L-аргініну, проте має унікальні властивості – протекторний вплив по відношенню до транспорту NO за рахунок збереження відновлених тіолів. Так, Ангіолін при ГІМ збільшував рівень відновлених тіольних груп на 53,3%, тіолвміщуючих амінокислот – метіоніну на 35,1%, цистеїну на 170%, як за рахунок прямої антиоксидантної дії тіольної групи в молекулі препарату, так і за рахунок підвищення активності глутатіонредуктази на 18%.

При дослідженні показників впливу Ангіоліну на енергетичний обмін міокарда при моделюванні ГІМ доведено посилення продукції АТФ на 53,6% за рахунок інтенсифікації аеробних процесів та обмеження активності анаеробного гліколізу в умовах ішемії, про що свідчить пониження рівня лактата на 57%. При цьому Ангіолін нормалізував окиснення в циклі Кребса на дикарбоновій ділянці (підвищення рівня малата на 120%), трикарбоновій ділянці циклу Кребса (підвищення рівня ізоцитрату на 60%) та в дихальному ланцюгу (підвищення активності цитохром-С-оксидази на 46,7%). Ангіолін інтенсифікував активність малат-аспартатного шунта, про що свідчить підвищення активності МДГ на 153%, збільшення рівня аспартату на 18%, глутамату на 35%.

Ангіолін при введенні експериментальним тваринам з ГІМ мав значний антиоксидантний ефект (підвищення активності СОД, ГПР) та вплив на маркери окислювальної модифікації білку (зниження вмісту АФГ, КФГ) в порівнянні з мілдронатом при лікувальному та профілактичному режимах введення. В лікувальному режимі Ангіолін знижував рівень маркерів окислювальної модифікації білку – АФГ на 36,2%, КФГ на 48%, що приводило до зменшення ішемічних порушень міокарда (згідно зменшенню відхилень ST) на 74%.

Отже, в умовах ГІМ Ангіолін за ступенем позитивного впливу на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз, а також на енергетичний обмін (рівень АТФ, показники гліколізу, малат-аспартатного шунта) перевищував мілдронат, а також нормалізував функцію мітохондрій, співвідношення тіол-дисульфідної системи і системи оксиду азоту в міокарді. Ангіолін продемонстрував високу кардіопротекторну активність на моделі ГІМ при лікувальному і профілактичному режимах парентерального введення.

6-й розділ присвячений визначенню кардіо- і ендотеліопротекторної активності Ангіоліну при моделюванні хронічної серцевої недостатності – в дозі 100 мг/кг при внутрішньошлунковому введенні він подовжував виживання тварин, збільшував кількість рухових актів за 3 хвилини, зменшував кількість тварин з важкою симптоматикою. Крім того, препарат відновлював регенеративні процеси, збільшував площу кардіоміоцитів і синтез білку, знижував індекс маси серця внаслідок зменшення площі апоптично та деструктивно змінених кардіоміоцитів. Після лікування ангіоліном у щурів з ХСН зменшувалась кількість кардіоміоцитів з літичними і контрактурними пошкодженнями міофібрил, повністю були відсутні клітини з ознаками некрозу, знижувалась щільність апоптично змінених клітин, гальмувався розвиток замісного кардіосклерозу та статистично значимо гальмувався процес активного фіброзу. Ангіолін також зменшував прояви дисфункції ендотелію, підвищуючи щільність ендотеліоцитів на 25,5%, площі ендотеліоцитів на 12,5% та зростання концентрації РНК в ядрах на 62,2%. Курсове призначення щурам з ХСН ангіоліну сприяло достовірному зниженню маркерів дисфункції ендотелію – фактору некрозу пухлин (TNF- α), С-реактивного білку та інтерферону-гама (IFN- γ) на фоні підвищення експресії васкулоендотеліального фактору (VEGF).

Також встановлено, що при курсовому введенні Ангіоліну спостерігалось зростання в цитозолі міокарда тварин з ХСН активності загальної NOS, вмісту L-аргініну та стабільних метаболітів NO. У міокарді щурів при хронічній доксорубіциновій серцевій недостатності порушуються показники енергетичного обміну: знижувався вміст АТФ, АДФ, малату, ізоцитрату, пірувату, аспартату, глутамату, активність НАД-малатдегідрогенази, креатинфосфокінази в цитозолі і мітохондріях, зростав вміст АМФ і лактату. Ангіолін в дозі 100 мг/кг при внутрішньошлунковому введенні щурам відновлював вміст показників, що характеризують синтез, транспорт енергії, активність компонентів циклу Кребса та малат-аспартатного шунта, а також

значну антиоксидантну дію (за підвищенням активності СОД, ГПР та пониженням маркерних продуктів – АФГ та КФГ). Порівняння протекторного впливу ангіоліну з мілдронатом на моделі ішемічної хвороби серця та хронічної серцевої недостатності дозволило виявити більшу кардіо- та ендотеліопротекторну дію ангіоліну порівнянно з мілдронатом на функціональні біохімічні та морфологічні показники.

Розділ 7-й відведений опису результатів кардіо- і ендотеліопротекторної активності Ангіоліну при його комбінуванні з базовими антигіпертензивними препаратами за умов артеріальної гіпертензії. Так, в експериментах на щурах зі спонтанною генетично зумовленою артеріальною гіпертензією (САГ) ангіолін в монотерапії не впливав на артеріальний тиск, а в комбінації з ірбесартаном та квінаприлом не змінював їх антигіпертензивної дії. Цікаво відзначити, що Ангіолін в дозі 100 мг/кг знижував при монотерапії, а в більшому ступені в сполученні з квінаприлом, ірбесартаном маркери окислювальної модифікації білків (АФГ, КФГ) та нормалізував жирнокислотний склад ліпідів в плазмі крові щурів: відношення насичених і ненасичених жирних кислот. Ангіолін при внутрішньошлунковому введенні (100мг/кг) на відміну від ірбесартану (30 мг/кг) та квінаприлу (10 мг/кг) збільшував в мітохондріальній і цитозольній фракціях міокарду щурів з САГ вміст аденілових нуклеотидів, білку теплового шоку (HSP 70) та попереджав відкриття мітохондріальної пори.

Ангіолін підвищував активність ГР в мітохондріальній фракції гомогенату серця щурів при артеріальній гіпертензії в 2,1 рази, при сполученні з квінаприлом в 2,2 рази, з ірбесартаном – в 2,6 рази. При цьому вміст загальних відновлених тіолів зростає під впливом ангіоліну на 19%, його комбінації з квінаприлом на 42%, з ірбесартаном – в 1,6 рази. В цитозольній фракції гомогенату міокарду щурів ангіолін збільшував активність ГР в 2,1 рази, в комбінації з квінаприлом в 2,4 рази, з ірбесартаном – в 3,3 рази.

Не менш важливими, на наш погляд, є дані, наведені в останньому **8-му розділі**, де представлені результати визначення параметрів фармакокінетики ангіоліну таблеток, при пероральному введенні та розчину для ін'єкцій, при в/м введенні щурам. Квантово-хімічними дослідженнями визначені реакційні центри молекули, що беруть участь у комплексоутворенні. Ангіолін може бути переносником NO утворюючи з ним стабільні S-нітрозильні комплекси. Ангіолін запобігав перетворенню NO під дією АФК в пероксинітрит, зберігаючи його ендотеліопротекторні властивості.

Отримані дані є теоретичним обґрунтуванням перспективності позитивного впливу Ангіоліну на функцію і метаболізм серцево-судинної системи при патологічних станах та стали основою його доклінічних та експериментальних досліджень, за результатами виконання яких було дозволено проведення першої та другої фази клінічних випробувань ангіоліну, як кардіо- та ендотеліопротекторного засобу.

Наукова новизна отриманих результатів. Поза сумнівом, ступінь новизни роботи високий, оскільки мова йде про зовсім нове

експериментальне вирішення актуальної задачі сучасної фармакології, а саме визначенні на підставі проведених фармакологічних, токсикологічних, електрофізіологічних, морфологічних, імуногістохімічних, фармакокінетичних, квантово-хімічних досліджень визначені патобіохімічні механізми розвитку ЕД, що стали підґрунтям для створення нового ендотеліопротектора прямої дії – ангіоліну.

Вперше, в дослідях *in vitro* серед похідних 1,2,4-триазолу визначена сполука-лідер-(S)-2,6 діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат (Ангіолін), яка за антиоксидантними та цитопротекторними властивостями перевищує подібні в референс-препаратах. Вперше на моделях гострої і хронічної ішемії міокарда вивчені молекулярно-біохімічні механізми кардіо- та ендотеліопротекторної дії ангіоліну. Вперше показано, що механізм ендотеліопротекторної дії ангіоліну безпосередньо пов'язаний з підвищенням експресії VEGF, підвищенням біодоступності і подовженням часу «життя» NO, за рахунок нормалізації сполучених систем NO/SH, а також за рахунок підвищення щільності ендотеліоцитів і стимуляції їх проліферації. Вперше показано, що кардіопротекторні властивості ангіоліну пов'язані з активацією компенсаторного малат-аспартатного човникового механізму, нормалізацією NO/SH-механізмів регуляції ланок енергетичного метаболізму міокарда і антиоксидантного/прооксидантного гомеостазу, а також за рахунок зменшення загибелі кардіоміоцитів і поліпшенню загальної та кардіогемодинаміки. Показані принципові переваги ангіоліну перед бестселером метаболітотропної кардіопротекції мілдронатом.

Вперше вивчений фармакокінетичний профіль ангіоліну при внутрішньовенному та внутрішньошлунковому введенні. Продемонстрована його висока кардіотропність.

Вперше продемонстрований профіль безпеки ангіоліну. Доведено, що препарат відноситься до V класу токсичності, не має негативного впливу на органи і системи при тривалому парентеральному і внутрішньошлунковому введенні.

Показаний потенціюючий ефект ангіоліну при сумісному застосуванні з ірбесартаном і квінаприлом у щурів зі спонтанною артеріальною гіпертензією щодо впливу на біохімічні показники (вміст аденілових нуклеотидів, маркери окислювальної модифікації білків, антиоксидантні ферменти, показники гліколізу, білки теплового шоку, компоненти системи оксиду азоту та тіол-дисульфідної системи).

В результаті квантово-хімічних розрахунків ангіоліну виявлені основні реакційні центри молекули, які можуть брати участь у комплексоутворенні. Аналіз квантово-хімічних параметрів молекули ангіоліну свідчить про те, що препарат може бути переносником NO, утворюючи з ним стабільні S-нітрозильні комплекси, що є одним із механізмів реалізації ендотеліопротекції.

Здійснено теоретичне та експериментальне обґрунтування доцільності призначення ангіоліну в моно- та комбінованій терапії ішемічної хвороби серця, хронічної серцевої недостатності та артеріальної гіпертензії.

Практичне значення отриманих результатів. Практична значущість роботи визначається тим, що вперше на підставі отриманих результатів експериментальних досліджень розроблено концепцію фармакологічної корекції такого загрозливого предиктора серцево-судинної патології (АГ, ХС, ХСН) як ендотеліальна дисфункція, яка полягає в визначенні пріоритетних ланок-мішеней – сполучені системи NO/SH, біодоступність NO, регуляція експресії VEGF, а також у включенні в комплексну терапію даної патології препаратів, які впливають на ці ланки, зокрема ангіоліну. В результаті проведених досліджень НВО «Фарматрон» розроблені лікарські форми ангіоліну – 2,5% розчин для ін'єкцій та таблетки. На основі результатів досліджень складений звіт з доклінічних випробувань ангіоліну, який був представлений в ДЕЦ МОЗ України з метою отримання дозволу на клінічну апробацію нового лікарського засобу.

Отримання цього дозволу є підставою для перспективного випуску лікарського засобу під назвою «Ангіолін». За даними експериментальних досліджень отриманий дозвіл МОЗ України на проведення I та II фази клінічних досліджень. Завершена I фаза клінічних досліджень.

Результати досліджень впроваджені в навчальний процес та науково-дослідну роботу на 9 кафедрах фармакології вищих медичних учбових закладів України.

Апробація результатів дисертації. Основні результати викладені та обговорені на наукових конференціях та засіданнях кафедри фармакології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, на чисельних симпозіумах та конференціях, а також на XII з'їзді Всеукраїнського лікарського товариства ВУЛТ (Київ, 2013), XIV Національному конгресі кардіологів (Київ, 2014), XIII Конгресі СФУЛТ (Чернівці, 2014), V Національному з'їзді фармакологів України (Запоріжжя, 2017 р.) та ін. Загалом матеріали дисертації викладені та обговорені на 16 з'їздах та 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 (12) характері і обсязі вони повністю відповідають матеріалу, опублікованому у фахових виданнях, викладеному в дисертації та авторефераті. Зроблені висновки характеризують основні досягнення, здобуті і 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. І дисертація і автореферат написані красиво, логічно з дотриманням існуючих вимог щодо структури, змісту і технічного оформлення.

Зауваження:

1. Використання лише одного рівня значущості ($p < 0,05$) при статистичних розрахунках, при цьому в таблицях 5.1 наведено позначку $P < 0,05$. В примітках під таблицями 3.1-3.3 вказано, що показник (p) відображає достовірність змін між показниками різних груп, а не достовірність істотності розходжень між показниками різних груп. Потрібно уніфікувати ці значення.
2. Відсутність нумерації приміток під таблицями 3.3, 5.4, 5.7-5.12, 6.1-6.5, 6.8-6.14, 7.1-7.14. Нумерація приміток під таблицею 4.14 починається з цифри 3.
3. Назва, заголовки та підзаголовки граф таблиць не повною мірою відображають зміст наведених результатів (т.4.3,4.9) або відсутні одиниці вимірювання (т. 6.3), не наведена загальна кількість експериментальних тварин (т.4.3,4.9).
4. Повтор нумерації таблиць (т.4.10 наведена на сторінках 138 та 139).
5. Наявність розривів тексту та наведення таблиць (ст. 167,187,194,201,223).
6. Відсутність використання при аналізі даних кореляційного аналізу між дослідженими показниками.
7. В роботі зустрічаються друкарські, стилістичні та орфографічні (ст. 48,53,82,93,107,115,143,173,228,241) помилки, 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 значимість.

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

1. Поясніть роль специфічних факторів-регуляторів процесів ангиогенезу, таких як васкулоендотеліальний фактор росту (VEGF) та інших, в формуванні та прогресуванні ендотеліальної дисфункції при серцево-судинній патології. Які ланки-мішені на вашу думку є найбільш перспективними в цьому відношенні для ендотеліозалежної кардіопротекції з урахуванням сучасних засобів, які використовуються в клінічній практиці?
2. З даних літератури відомо, що активний вплив на формування ендотеліальної судинної дисфункції при серцево-судинній патології мають цитокіни, а саме розвиток «цитокінового дисбалансу» – гіперпродукція прозапальних цитокінів (IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8) та відносний дефіцит протизапальних цитокінів (IL-1ra, IL-10) та ростових факторів. Чи проводили Ви дослідження або існують літературні дані щодо впливу цитокінових препаратів на досліджені Вами параметри ендотеліальної дисфункції?
3. Чи проводився статистичний аналіз кореляцій отриманих результатів експериментів щодо впливу ангіоліну на вміст аденілових нуклеотидів, маркери окислювальної модифікації білків, антиоксидантні

ферменти, показники гліколізу, білки теплового шоку, компоненти системи оксиду азоту та тіол-дисульфідної системи?

4. На основі Ваших досліджень які рекомендації Ви змогли б внести у вигляді доповнень в інструкції для медичного застосування до препаратів, що досліджувались (мілдронат, апровель (ірбесартан), аккупро (квінаприл))?

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.
Дисертація Нагорної Олени Олександрівни «Кардіо- та ендотеліпротекторні властивості похідних 1,2,4-триазолу» 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 патобіохімічних механізмів розвитку ендотеліальної дисфункції в умовах експериментального інфаркту міокарда, гострої ішемії міокарда, хронічної серцевої недостатності та спонтанної артеріальної гіпертензії та впливу на них ангіоліну, ірбесартану, квінаприлу та їх комбінацій. Робота володіє практичним значенням, тому що обґрунтовує доцільність створення комбінованого препарату з кардіо- та ендотеліпротекторною дією для нормалізації функціонування серцево-судинної системи за умов патологічних станів різного генезу та раціональність призначення ангіоліну в моно- та комбінованій терапії ішемічної хвороби серця, хронічної серцевої недостатності та артеріальної гіпертензії.

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 Нагорної Олени Олександрівни «Кардіо- та ендотеліпротекторні властивості похідних 1,2,4-триазолу», що представлена до офіційного захисту на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія, є самостійним, завершеним науковим експериментальним дослідженням і повністю відповідає вимогам п. 10 Порядку присудження наукових ступенів, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року №567 (зі змінами), а її автор Нагорна Олена Олександрівна заслуговує на присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія.

Професор кафедри
загальної фармації та безпеки ліків
Інституту підвищення кваліфікації
спеціалістів фармації
Національного фармацевтичного
університету МОЗ України
доктор медичних наук, професор



О.В. Супрун
О.В. Супрун

О.В. Супрун Е.В. Супрун