

ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора Горчакової Надії Олександрівни на дисертаційну роботу Шевчук Оксани Олегівни «Обґрунтування застосування вуглецевих ентеросорбентів та препаратів гранулоцитарного колонієстимулюючого фактору для мінімізації побічних реакцій протипухлинних лікарських засобів», представлену до спеціалізованої Вченої ради Д.26.550.01 при ДУ «Інститут фармакології і токсикології» НАМН України на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю фармакологія-14.03.05

Актуальність. Проблема персоніфікованого лікування злоякісних новоутворень залишається вельми актуальною. Сьогоденне застосування поліхіміотерапія у високих дозах дозволяє досягти ефективності лікування та подовження тривалості виживання хворих. Серед протипухлинних препаратів, незважаючи на впровадження імунотерапії та таргетних засобів, актуальними і ефективними залишаються алкілюючі сполуки та антрациклінові антибіотики. Призначення вищезазначених препаратів, а також їх сполучення з променевою терапією призводить не тільки до реалізації лікувального ефекту, але також до виникнення побічних реакцій, серед яких треба зазначити пригнічення кровотворної функції кісткового мозку з розвитком лейкопенії, фебрилярної нейтропенії. Крім вищезазначених побічних реакцій препарати, також викликають диспептичні розлади, порушення функціонування печінки, нирок та інших органів, порушення репродуктивної функції. Вищезазначені небажані реакції вимагають рекомендації прийому препаратів супроводу, які стимулюють кровотворення та можуть захистити внутрішні органи від неблагодійного впливу протипухлинних медикаментів. Є відомості щодо застосування гемосорбції та сорбентів аплікаційно разом з променевою терапією. Але відсутні результати досліджень щодо використання ентеросорбентів для зниження гематотоксичності при проведенні поліхіміотерапії онкологічних захворювань.

В зв'язку з вищезазначеним, дисертаційна робота Шевчук О.О. є актуальною та своєчасною, тому що обґрунтовує доцільність окремого та сумісного застосування сорбційної терапії з препаратами гранулоцитарного колонієстимулюючого фактору росту для зменшення проявів побічної дії протипухлинних лікарських засобів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом комплексних науково-дослідних робіт кафедри фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України «Встановлення ефективності препаратів метаболічного типу дії та ентеросорбції при патологічних процесах

різної етіології»(№ державної реєстрації 0113U001246,2013-20154 р.р.)НДР загального академічного конкурсу науково-технічних процесів та розпорядження Президії НАН України від 27.02.2013 № 133 Договор № 2.222.5.380 від 01.03.2013 р.»Розробка та оптимізація технології захисту кісткового мозку від цитостатичної мієлодепресії на основі комплексного застосування мас-фракційних вуглецевих сорбентів та гранулоцитарного колонієстимулюючого фактору» та «Фармакологічні та фармакокінетичні аспекти протекторного впливу імунобіологічних препаратів, ентеросорбентів, речовин природного та синтетичного походження за різних патологічних станів» (№державної реєстрації 0116U004148, 2016-2018 р.р.),у виконанні яких автором проведені дослідження змін біохімічних та патоморфологічних показників функціонування внутрішніх органів,процесів ліпідної пероксидації,стану антиоксидантної системи,показників кардіогемодинаміки, цитокинового статусу,процесів апоптозу та некрозу клітин у щурів,росту перевинної карциноми за умов застосування протипухлинних препаратів та експериментальної корекції патологічних змін, що при цьому виникають,застосування ентеросорбції та препаратів гранулоцитарного колонієстимулюючого фактору для зменшення побічних реакцій протипухлинних лікарських засобів.

Обсяг та структура дисертації. Дисертація виконана на 306 сторінках(основний обсяг становить 270 сторінок), складається з анотацій українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, 6 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел літератури (всього 316 найменувань,з яких 127 кирилицею, 189 латиницею), додатків. Робота проілюстрована 38-ма таблицями, 102-ма рисунками.

Оцінка змісту роботи й завершеність. Розділ дисертаційної роботи «Вступ» розкриває актуальність дисертації,сучасний стан фармакологічних підходів до мір по зменшенню частоти розвитку побічних ефектів без пониження ефективності протипухлинних лікарських засобів. Підкреслюється,що при хіміотерапії пухлин протипухлинними засобами розвиваються побічні реакції, які можуть бути результатом пригнічення кровотворення,виникнення лейкопенії, нейтропенії, що потребує призначення стимуляторів лейкопоезу з групи гранулоцитарних колонієстимулюючих факторів. Протипухлинні препарати можуть також викликати порушення функції печінки, нирок,селезінки, диспептичні розлади,що є підставою для включення в схеми лікування новоутворень сорбентів. Дисертант пропонує поєднати призначення засобів сорбційної терапії з гемопоетичними факторами росту для профілактики і лікування побічної дії поліхіміотерапії онкологічних захворювань.

В цьому розділі обґрунтовується доцільність проведення конкретних експериментальних досліджень, зазначена мета та 8 завдань дослідження, конкретизовані експериментальні методи дослідження. Об'єкт та предмет дослідження вказані коректно. Розкриті наукова новизна, практична значимість, в тому числі розкриті нові інноваційні препарати, що застосовувалися з групи сорбентів та емоційних факторів росту. Є посилання на публікації та апробацію результатів дослідження.

Розділ 1. Огляд літератури, що має назву «Побічна дія протипухлинних лікарських засобів та методи і засоби її профілактики» складається з 3-х підрозділів: «Типові побічні ефекти анти неопластичної поліхіміотерапії», «Побічні ефекти антрациклінових антибіотиків», «Шляхи зменшення побічної дії протипухлинних лікарських засобів», «Ентеральна сорбційна терапія в онкології».

Розділ 2 присвячений матеріалам і методам дослідження, розкриває фармакологічні, цитологічні, цитофлуометричні, імуноферментні, патоморфологічні математико-статистичні методи.

Розділ 3 «Дослідження ефективності волокнистого вуглецевого ентеросорбента Карболайн для зменшення побічної дії цисплатина». Встановлено, що волокнистий вуглецевий ентеросорбент Карболайн у щурів з перевивною карциномою Герена знижує інтенсивність проявів системної токсичності цитостатику Цисплатину, гальмує розвиток пухлини та проявляє нефро-, гепато-, спленопротекторну дію. Сорбент попереджає загибель тварин, сприяє зменшенню втрати маси тіла, нівелює тенденцію до зростання маси печінки та селезінки. Карболайн дозволяє в 1,6 рази зменшити втрату маси тіла піддослідних тварин при застосуванні Цисплатину, сприяє зниженню масового коефіцієнту нирок, знижує підвищення на третину рівнів сечовини та креатиніну та нормалізує активність аланінамінотрансферази. Карболайн на тлі Цисплатину при перевивній карциномі Герену не тільки не послаблює, але навіть посилює дію Цисплатину, що проявляється зменшенням маси пухлини, загибеллю більшості клітин, проростанням сполучною тканиною. При цьому нормалізується структура печінки, зникають некротичні зміни, зменшуються прояви дистрофії, з'являються «темні гепатоцити», як маркери регенерації. Під впливом Карболайну в тканинах нирок понижуються прояви тубулярного некрозу та деструкції клубочків. У селезінці відбувається редукція вторинних центрів розмноження, покращується клітинна структура у крайових зонах, зникають деструктивні форми еритроцитів у червоній пульпі.

Розділ 4 «Дослідження ефективності гранульованих вуглецевих ентеросорбентів на моделі цитотоксичної мієлодепресії, спричиненої мелфаланом». Спочатку були визначені показники гострої токсичності Мелфалану. Встановили, що DL50 Мелфалану за методом Прозоровського складає

4,765-+1,003мг/кг, за методом Фінні 4,22+0,62мг/кг при парентеральному введенні, що буде застосовано для моделювання уражень кісткового мозку. Одноразове внутрішньовенне введення Мелфалану в дозі 3мг/кг через 3 та 7 діб не викликало достовірних змін кількості поліхромафільних еритроцитів, тільки демонструвалася тенденція до зниження. При введенні Мелфалану внутрішньочеревинно спостерігали падіння кількості поліхроматофільних еритроцитів в 1,4 рази. Чисельність ядерних клітин в кістковому мозку при інтраперитонеальному введенні понизилася в 2 рази, при внутрішньовенному - в 1,3 рази. Максимальний ефект Мелфалану досягається в дозі 9мг/кг. Кількість гранулоцитів в клітинах кісткового мозку при внутрішньовенному введенні Мелфалану спостерігається на 7 добу. Цитотоксичний ефект Мелфалану стосовно всіх ядерних клітин зазначений при внутрішньовенному та інтраперитонеальному введенні, тобто здійснюється пригнічення еритроцитарного та мієлоїдного ростків кроветворення. Враховуючи отримані результати для подальших досліджень було обрано одноразове внутрішньовенне введення Мелфалану у дозі 3 мг/кг з зазначенням показників на 9 добу (через 7 днів) після ін'єкції препарату. При дослідженні структури і сорбційних параметрів сорбентів С1 та С2 встановили, що С2 має більшу пористість та інші переваги. Сорбенти дозувалися в об'ємних одиницях. Ентеральна сорбція має значний мієлопротективний, нефропротективний ефекти, пригнічує ліпопероксидацію, захищає ферментні та неферментативні ланки антиоксидантного захисту. С2 має нормалізуючий вплив на показники кроветворення, біохімічні показники, функцію нирок. Мелфалан викликав гістологічні зміни тканин тонкого кишечника нирок, селезінки, сім'яників. Застосування С2 зменшувало гістологічні зміни тканин органів. При мієлодепресії викликаній за допомогою LPAм (алкілюючий препарат) встановлений захисний вплив С2 на показники кроветворення та антиоксидантного захисту.

Розділ 5 «Дослідження ефективності комбінованого застосування гранульованого вуглецевого ентеросорбента С2 та препаратів гранулоцитарного колонієстимулюючого фактору при цитостатичній мієлодепресії».

Встановлено, що застосування ентеросорбенту С2 з препаратами гранулоцитарного колонієстимулюючого фактору Філграстимом і рекомбінантним засобом більш ефективно відновлює кроветворення при мієлодепресії, викликаній Мелфаланом, має нефропротекторну, антиоксидантну дію, сприяючи нормалізації показників-ТБК-активних продуктів, активності СОД, каталази, вмісту відновленого глутатіону та церулоплазміну. Сполучення препаратів покращувало мікроскопію кишечника, нирок, селезінки, яєчок. Вітчизняний рекомбінантний гранулоцитарний, колонієстимулюючий фактор не поступався Філграстиму. Саме поєднані лікарські засоби покращували

мієлопротекцію та системну дію, корелювали поліпатичні прояви після введення алкілюючого агенту мелфалану.

Розділ 6 «Вивчення ефективності комбінованого застосування рекомбінантного гранульоцитарного колонієстимулюючого фактору та ентеросорбента С2 при застосуванні Мелфалану у дозі 5,5мг/кг». Встановлено, що

Встановлено, що рекомбінантний гранульоцитарний колонієстимулюючий фактор значно покращував гематологічні показники тварин на фоні застосування Мелфалану в високих дозах. Комбінація рекомбінантного колонієстимулюючого фактору з ентеросорбентом С2 значно покращувало мієлопротекторну дію порівняно з ефектом кожного компоненту окремо, а також запобігало збільшенню летальності тварин при передозуванні L-PAM.

Розділ 7 «Дослідження дії препаратів гранульоцитарного колонієстимулюючого фактору та ентеросорбента С2 на моделі цитостатичної мієлодепресії у щурів з перевивною карциномою Герена». Встановлено, що при призначенні Філграстиму або рекомбінантного гранулоцитарного колонієстимулюючого фактору разом з ентеросорбентом С2 та Мелфалміном спостерігалася активація клітин гранулоцитарного ряду та базофілів, останнє могло бути проявом алергічної реакції. В цілому комбінована терапія збільшувала рівень плазматичних та ретикулярних клітин.

Глава 8. «Ефективність ентеросорбції та препарату гранулоцитарного колонієстимулюючого фактору при доксорубіциновій субхронічній токсичності.»

Доксорубіцин вводили в дозі 5 мг/кг 4 тижня, ентеросорбент С2 вводили, починаючи з наступного дня після Доксорубіцину та припинили за добу до наступного введення. Філграстим вводили підшкірно 4 доби після останнього введення Доксорубіцину (50мг/кг). При введенні одного Доксорубіцину понижилася маса тварин та маса їх серця, підвищилася маса печінки, спостерігалася ремоделювання камер серця. Застосування доксирубіцину з сорбентом та Філграстимом запобігало пониженню маси тіла та серця, а також викликало тенденцію до пониження маси печінки, понижилися показники ремоделювання. Доксорубіцин понизив вміст еритроцитів, лейкоцитів, гемоглобіну, в крові підвищив вміст показників цитолізу – АсАТ, КФК-МВ, АлАТ, порушував білково - синтетичну функцію печінки, підвищував вміст креатиніну, сечовини. Застосування Доксорубіцину з сорбентом та Філграстимом сприяло нормалізації біохімічних показників. В зв'язку з важливою роллю цитокінів в розвитку серцевої недостатності, визначили зростання під впливом доксорубіцину TNF alpha, IL –beta, що свідчить про глибокі органічні зміни. Паралельно розвинувся дисбаланс прооксидантно-антиоксидантної системи. В тканинах серця, печінки, нирок, в крові зростав вміст ТБК-активних продуктів, понижився рівень відновленого глутатіону, активність СОД, каталази. При сполученні

Доксорубіцину з сорбентом та Філграстимом спостерігалася нормалізація біохімічних показників. Доксорубіцин викликав порушення показників гемодинаміки, що характеризують насосну функцію серця, а також показників кінцево-діастолічного об'єму. Введення доксорубіцину з сорбентом та Філграстимом викликало тенденцію до нормалізації показників кардіогемодинаміки. Під впливом одного Доксорубіцину спостерігалися порушення гістологічної структури кишечника, серця, нирок, а при введенні Доксорубіцину з сорбентом та Філграстимом спостерігалася менше гістологічних порушень органів.

Розділ 9 «Аналіз і узагальнення результатів дослідження». В цьому розділі дисертант акцентує увагу на необхідності пошуку препаратів супроводу до засобів протипухлинної терапії і приводить аргументи на користь доповнення до цитостатиків-алкілюючих агентів та антрациклінового антибіотику Доксорубіцину препаратів волокнистих ентеросорбентів та гранулоцитарного колоніє-стимулюючого фактору-Філграстиму та вітчизняного лікарського засобу, які можуть попередити та усунути небажані ефекти цитостатиків.

Висновки, надані дисертантом, в цілому аргументовані та висвітлюють результати експериментальних досліджень, а також відповідають поставленим завданням.

Наукова новизна отриманих результатів. За результатами проведених експериментальних досліджень було отримано нові дані і поглиблено існуюче уявлення про механізми розвитку побічних ефектів протипухлинних лікарських засобів в експерименті та доведено можливість їх ефективної корекції за допомогою ентеросорбції із застосуванням гранульованого вуглецевого ентеросорбенту С2 (насіпна вага 0,18 г/см³, розмір гранул 0,15-0,25 мм, питома площа поверхні пор за BET 2162 м²/г, площа мезопор 565 м²/г) та препараті агранулоцитарного колонієстимулюючого фактору, особливо при їх комбінованому застосуванні.

Доведено, що волокнистий вуглецевий ентеросорбент Карболайн проявляє нефропротекторний ефект та зменшує системні токсичні ефекти Цисплатину, одночасно зменшуючи, а й навіть дещо посилюючи його протипухлинний ефект. Вперше показано, що комбіноване застосування Карболайну з Цисплатином сприяє проростанню сполучною тканиною перевивної карциноми Герена.

Продемонстровано, що за умов індукованої внутрішньовенним введенням алкілюючого препарату мелфалану (L-PAM) мієлодепресії спеціально розроблений ентеросорбент С2 з питомою вагою 0,18 г/см³ переважає за мієлопротекторним ефектом типовий ентеросорбент С1 з питомою вагою 0,28 г/см³.

Встановлено, що ентеросорбція з використанням С2 та циклічне введення філграстиму чи р-ГКСФ мають аналогічний мієлопротекторний ефект, збільшуючи загальну кількість лейкоцитів периферичної крові на 40-60% (а саме на 43,8%; 57,0%; та 53,9% відповідно) у порівнянні з групою тварин, яким не проводилася корекція. Водночас застосування комбінації С2 з Г-КСФ забезпечує зростання загальної кількості лейкоцитів на 138,3% порівняно з групою тварин, яким без корекції. Вперше доведено, що комбіноване застосування ентеросорбенту С2 та Філграстиму супроводжується зростанням чисельності тромбоцитів вдвічі. Ці позитивні зміни відбуваються на тлі помітного нефропротекторного ефекту, зниження показників оксидативного стресу та ступеня ендогенної інтоксикації. Комбінація вітчизняного р-ГКСФ з вітчизняним ентеросорбентом С» проявляє аналогічну ефективність щодо стимулювання тромбоцитопоезу.

Вперше доведена ефективність комбінації ентеросорбції та препаратів Г—КСФ для зменшення мієлотоксичного впливу протипухлинних цитостатиків.

Встановлено кардіопротективний ефект ентеросорбції при субхронічній доксорубіциновій токсичності (модель дилатаційної кардіоміопатії), що підтверджується позитивною динамікою показників ушкодження міокарда (АсАТ, КФК-МВ) та супроводжується зниженням рівня прозапальних цитокінів TNF- α , IL-1 β , відновленням прооксидантно-антиоксидантного балансу, зниженням рівня ендогенної інтоксикації; відновленням активності ферментної та неферментної ланок антиоксидантного захисту, покращенням гістологічної структури міокарда піддослідних тварин.

Доведений гонадопротекторний ефект комбінації ентеросорбції з препаратами Г-КСФ, що проявляється суттєвим покращенням мікроскопічної структури яєчок на тлі введення Мелфалану та Доксорубіцину.

Вперше експериментально доведено, що вітчизняна версія рекомбінантного гранулоцитарного колонієстимулюючого фактору р-ГКСФ за своєю активністю не поступається офіційальному препарату Філграстим.

Вперше в експерименті на щурах з перевивною карциномою Герену доведено, що застосування препаратів корекції (Карболайну, ентеросорбента С2, Філграстиму, р-ГКСФ) окремо та при їх комбінованому введенні не зменшує протипухлинну та цитостатичну активність Мелфалану та Цисплатину.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані експериментальні результати щодо ефективності ентеральної сорбційної терапії та препаратів Г-КСФ, які проявляють виражену мієло-, гонадо-, нефро-, гепато- та кардіопротекторну дію на тлі введення антинеопластичних лікарських засобів Мелфалану, Цисплатину та Доксорубіцину, слугують підґрунтям для поглибленого дослідження результатів їх комбінованого застосування з

метою подальшої апробації у клініці з метою зменшення проявів побічної дії протипухлинної хіміотерапії. Отримані в експерименті на щурах з перививною карциномою Герена докази синергічної протекторної дії досліджуваних чинників при їх комбінованому застосуванні, а також доведення факту, що застосування обох препаратів корекції окремо чи при їх комбінуванні не зменшує протипухлинної та цитостатичної активності Мелфалану і Цисплатину і може бути враховано при розробці схем супровідної терапії онкологічних хворих в клініці.

Основні результати досліджень, які відображають особливості корегуючого впливу ентеральної сорбційної терапії та препаратів гранулоцитарного колонієстимулюючого фактору, як окремо, так і в комбінації, на тлі застосування Цисплатину, Мелфалану, Доксорубіцину в експерименті, впроваджені в навчальний процес кафедр та лабораторій вищих навчальних медичних закладів України.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків, рекомендацій, сформованих в дисертації. Проведений аналіз отриманих результатів та літературних джерел доводить доцільність включення вуглецевого волокнистого ентеросорбента Карболайну, розробленого оригінального гранульованого вуглецевого ентеросорбенту С2 та рекомбінантного гранулоцитарного колонієстимулюючого фактору при їх окремому і сумісному введенні для корекції токсичних ефектів антинеопластичних лікарських засобів без зменшення їх цитостатичного та протипухлинного ефекту. Висновки, надані дисертантом в цілому аргументовані, висвітлюють результати експериментальних досліджень.

Повнота викладених результатів в опублікованих роботах. Результати досліджень, що викладені в дисертації, знайшли відображення у 52 наукових працях, з них 21 стаття у фахових наукових журналах, рекомендованих МОН України, глави у трьох монографіях, виданих у закордонних видавництвах «Nova Science Publishers» (категорія C SENSE) та «Intech Open», 2 патенти на корисну модель, 23-у матеріалах і тезах конференцій, з'їздів.

Недоліки дисертації стосовно її змісту та оформлення. Незважаючи на наукову новизну, практичну значимість, методичне забезпечення виникають зауваження, побажання, питання.

До зауважень можна віднести:

1. В науковій новизні доцільно конкретизувати деякі отримані результати, надати зміни в відсотках.
2. Після кожної глави надати конкретні висновки.
3. Додати до списку робіт праці за 2019, 2020 роки.
4. Виправити друкарські помилки.

При знайомстві з дисертацією виникли певні питання: оскільки в аналізі і узагальненні результатів не знайдено певних відповідей

1. Які на Вашу думку механізми кардіопротекторної дії ентеросорбції при доксорубіциновій кардіотоксичності?

2. Чому у своїй роботі Ви зосередилися на доволі старих протипухлинних лікарських засобах – мелфалані, цисплатині, доксорубіцині? Чим Ви користувалися при їх виборі? Адже фармакологія стрімко розвивається і сьогодні уже є багато нових препаратів, наприклад, таргетна терапія?

3. Чому Ви обрали саме вуглецеві ентеросорбенти для дослідження, а не, наприклад, кремнійорганічні чи якісь інші?

4. Які переваги вітчизняного рекомбінантного колонійстимулюючого фактора в порівнянні з референтним препаратом філграстим?

Висловлені зауваження не понижують наукову новизну і практичну значимість досліджень.

ВИСНОВКИ. Дисертаційна робота Шевчук О.О. є самостійним, закінченим науковим дослідженням, виконаним на високому методичному рівні, містить новий напрямок наукових досліджень, а саме підвищення ефективності і безпечності засобів протипухлинної терапії шляхом комбінованого застосування з ентеросорбентами та стимуляторами кровотворення-грануляційними колонієстимулюючими факторами. Робота має практичне значення, тому що містить нові схеми комбінованого лікування онкологічних захворювань, які сприяють підвищенню ефективності та безпечності. Результати роботи впроваджені в педагогічний процес і наукову роботу Вищих медичних закладів України. Назва роботи відповідає спеціальності 14.03.05-фармакологія. За актуальністю обраної теми, методичним та науково-практичним значенням отриманих результатів дисертаційна робота Шевчук О.О. відповідає п.10 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року №567, які висувають до докторських дисертацій з фармакології, а її автор заслуговує присудження наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.05-фармакологія.

Офіційний опонент

Професор кафедри фармакології

Національного медичного університету

імені О.О.Богомольця

доктор медичних наук, професор



Н.О.Горчакова

Підпис _____
ЗАСВІДЧУЮ
ВЧЕНИЙ СЕКРЕТАР УНІВЕРСИТЕТУ
20__р.