

ВІДЗИВ ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

на дисертаційну роботу Мархонь Наталі Олександрівни
«Нейрофармакологічна активність фітоекстрактів та екстракту маточного молочка
за умов експериментального метаболічного синдрому», що її подано
до спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01 при Державній установі
«Інститут фармакології та токсикології НАМН України» для захисту
на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук
за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія

Актуальність теми. Проблема розповсюдження метаболічного синдрому в сучасному світі дедалі набуває актуальності. Метаболічний синдром є полікомпонентним, прогресуючим станом, що тісно пов'язаний з патологією серцево-судинної та нервової систем. Ризик виникнення ішемічної хвороби серця в осіб із наявністю кількох складових метаболічного синдрому в 5 разів вищий, ніж за наявності лише класичних чинників атеросклеротичного ураження судин. Метаболічний синдром сприяє ураженню нервової системи на всіх рівнях. Клінічні прояви часто не є явними, що ускладнює діагностику і призводить до розвитку тяжких, іноді необоротних наслідків, тоді як лікування на ранніх етапах покращує прогноз. Отже, зростає актуальність розв'язання цих проблем.

Ступінь поширеності метаболічного синдрому зумовлює подальший пошук додаткових методів традиційного і нетрадиційного лікування. Значна кількість лікарських препаратів на фармацевтичному ринку не розв'язує проблему адекватного лікування метаболічного синдрому. Водночас, засоби природного походження, що, як правило, мають полівалентні властивості, можуть сприяти нормалізації обміну глюкози та ліпідів, зменшенню кількості вільних радикалів, посиленню чутливості інсулінових рецепторів, покращанню реологічних властивостей крові та судинної проникності, усуненню ендотеліальної дисфункції, нормалізації психоемоційного стану. Тому застосування фітотерапії як одного з методів корекції основних проявів метаболічного синдрому є одним з актуальних напрямів сучасної медицини.

Вищезазначене свідчить про необхідність пошуку, дослідження і впровадження ефективних засобів природного походження при метаболічному синдромі. Тому тема дисертації Н.О.Мархонь є актуальною.

Зв'язок теми дисертації з науковими державними та галузевими програмами і планами. Дисертацію Н.О. Мархонь виконано в рамках наукової теми кафедри фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» та є фрагментом НДР: «Системна фармакологія неопіїдних анальгетиків та засобів медикаментозного захисту мозку в умовах експериментальних патологічних станів» (№ держреєстрації 0114U000935).

Основний зміст дисертації та його оцінка. Загальний обсяг дисертації становить 236 сторінок друкованого тексту, з яких 169 сторінок основного тексту. Робота містить анотацію, список друкованих праць, перелік умовних позначень, вступ, огляд літератури (розділ 1), опис матеріалів і методів дослідження (розділ 2), 3 розділи власних досліджень (розділи 3-5), аналіз та узагальнення результатів дослідження, висновки, бібліографічний покажчик (377 джерел, з яких 135 – кирилицею, 242 – латиницею). Роботу проілюстровано 27 таблицями та 12 рисунками. Отже, структура та обсяг рукопису відповідають чинним вимогам до кандидатських дисертацій.

У вступі дисертантка обґрунтовує актуальність теми, формулює мету та 5 підпорядкованих їй задач, об'єкт і предмет дослідження, наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів, наводить особистий внесок, відомості про апробацію результатів, обсяг і структуру роботи.

В огляді літератури (розділ 1) на 28 сторінках розглянуто сучасні уявлення про розвиток метаболічного синдрому, проблеми порушень нервової системи при ньому та можливі шляхи їх вирішення за допомогою препаратів лікарських рослин та продуктів бджільництва. Огляд складається з шести підрозділів. У першому підрозділі розглянуто порушення систем організму на тлі метаболічного синдрому. У другому підрозділі здобувачка досить ретельно аналізує

патогенетичні предиктори виникнення когнітивних порушень у хворих на метаболічний синдром. Третій підрозділ присвячено ролі оксидативного стресу в розвитку метаболічного синдрому в цілому та пошкодженні головного мозку, які можуть його супроводжувати. У четвертому підрозділі наведено основні напрямки немедикаментозної корекції метаболічного синдрому, проаналізовано можливість нормалізації метаболічних порушень за допомогою лікарських рослин. У п'ятому підрозділі охарактеризовано рослинні біологічно активні сполуки, які доцільно використовувати при метаболічному синдромі. Шостий підрозділ (2 сторінки) містить відомості щодо можливості застосування продуктів бджільництва при метаболічному синдромі та інформацію щодо обраних досліджуваних засобів. Зміст розділу в цілому свідчить про достатню кваліфікацію дисертантки. Проте підрозділи 1.4, 1.5 та 1.6 доцільно об'єднати, щоб конкретніше зіставити властивості рослинних препаратів та продуктів бджільництва з патогенезом метаболічного синдрому. Є невдалі вирази (наприклад, «ферментний обмін» у підрозділі 1.6).

У розділі 2 на 23 сторінках описано матеріали та методи дослідження. Використано 154 білих статевозрілих щурів-самців лінії Wistar масою 170-220 г на початку експерименту із дотриманням біоетичних принципів. Містяться відомості про досліджувані рідкі пропіленгліколеві екстракти, які виготовлено фармацевтичною компанією ТОВ «Науково-виробнича компанія «Віларус» (м. Ладижин, Україна). Для об'єктивізації та відтворюваності результатів важливо, що наведено інформацію щодо стандартизації: екстракту маточного молочка – за вмістом масової долі сирого протеїну; екстракту листя горіху – за сумою флавоноїдів у перерахунку на гіперозид; екстрактів плодів горобини та листя кропиви – за вмістом суми каротиноїдів; екстракту листя малини – за сумою флавоноїдів. Препаратом порівняння служив пірацетам у дозі 500 мг/кг (виникає питання, чому не використано препарат рослинного походження з доведеними нейропротекторними властивостями, наприклад, стандартизований екстракт

Гінкго дволопатевого). Дисертантка вивчала вміст глюкози, ЛПВЩ, ЛПНЩ, загального холестерину, тригліцеридів, МДА, АФГ, КФГ, активність СОД у сироватці крові, АФГ, КФГ, МДА, СОД, NO_x у головному мозку – біохімічними методами; поведінки – фізіологічними методами; гістоструктуру головного мозку – гістологічними та морфометричними методами. Обґрунтовано доцільність та інформативність цих методів для досягнення мети і виконання завдань роботи.

Для статистичної обробки авторка використовувала параметричний *t*-критерій Стюдента, непараметричний *U*-критерій Мана-Уїтні, однофакторний дисперсійний аналіз ANOVA та критерій Дункана, коефіцієнт кореляції Пірсона. Ці методи є адекватними щодо правильної інтерпретації кількісних результатів.

Проте в обговорюваному розділі не вказано, чим обґрунтовано вибір лише однієї дози всіх пропіленгліколевих екстрактів і чому саме 1,5 мл/кг. Не передбачено контролю на пропіленгліколь. Недостатньо обґрунтованим є речення про те, що «в (гліколевих) екстрактах залишаються всі лікувальні властивості екстрагованої рослини».

У трьох розділах (3–5) на 72 сторінках Н.О. Мархонь викладає результати власних досліджень.

У розділі 3 (28 сторінок) дисертантка описала дію досліджуваних засобів на зміни вуглеводного та ліпідного обміну, стан процесів вільнорадикального окиснення білків та ліпідів, активність СОД в сироватці крові щурів на тлі змін, що виникли внаслідок заміни питної води нафруктозний розчин, який і застосовувався для моделювання патологічного стану. Показано, що ресвератрол найбільшою мірою сприяв зниженню рівня ЛПНЩ і підвищенню ЛПВЩ. За умов введення екстракту маточного молочка відмічалось в найбільшій мірі зниження вмісту тригліцеридів та АФГ, підвищення активності СОД, а також метаболічного індексу, який використовувався для непрямой оцінки інсулінорезистентності. За умов введення екстракту плодів горобини відмічена спрямована дія на зменшення вмісту глюкози, МДА, КФГ.

У розділі 4 (15 сторінок) наведено результати дослідження психоемоційного стану щурів. Наводяться дані стосовно впливу сполук на емоційно-поведінкові реакції тварин у тесті «відкрите поле», умовної реакції пасивного уникнення і тесті Порсолта. Отримані результати узагальнено в додатках, де наочно порівнюється активність впливу досліджуваних засобів на мнестичні функції, рухово-дослідницьку активність та прояви депресивності, що виникли при моделюванні метаболічного синдрому. Дисертантка описала вплив ресвератролу, екстрактів маточного молочка, листя кропиви, листя горіху, листя малини та плодів горобини на порушення мнестичних функцій. Доведено, що досліджувані засоби різною мірою зменшують прояви когнітивної дисфункції, а саме покращують процеси навчання, сприяють збереженню умовної навички та розвитку депресивної поведінки. Зіставлення результатів виявило, що найбільший вплив мають екстракт плодів горобини, маточного молочка та ресвератрол, що дозволило обрати їх для подальшого дослідження.

У розділі 5 (29 сторінок) Н.О.Мархонь викладає результати дослідження впливу засобів з найбільшою ноотропною активністю на перебіг реакцій ВРО, а саме процесів ПОЛ, ОМБ та нітрозилування у головному мозку щурів із моделлю метаболічного синдрому. Максимальному зниженню вмісту МДА сприяє екстракт маточного молочка. Екстракти плодів горобини та маточного молочка виявляють статистично значущу ефективність щодо вмісту раннього маркера ушкодження мозку – АФГ – у корі великих півкуль. Екстракт плодів горобини найбільшою мірою знижує рівень нейротоксичного продукту ОМБ – КФГ. Ресвератрол у тварин з індукованим метаболічним синдромом сприяє відновленню рівня стабільних метаболітів оксиду азоту. Дисертантка показала, що екстракт маточного молочка сприяє зменшенню числа апоптотично та деструктивно змінених нейронів CA1- та CA3-зон гіпокампа. Водночас, на тлі впливу екстракту маточного молочка покращується стан мікроциркуляторного русла.

У розділі «Аналіз та узагальнення отриманих даних» на 18 сторінках

дисертантка досить глибоко аналізує та узагальнює отримані результати дослідження, підсумовує і порівнює їх з даними літератури, логічно підводить підсумок проведених досліджень і обґрунтовує висновки роботи. Позитивне враження справляє кореляційний аналіз, який дозволив доказово інтерпретувати експериментальні дані та обґрунтувати висновки.

Робота завершується *7 висновками*, в яких дисертантка логічно узагальнює фактичні результати. Висновки відповідають меті і завданням дослідження, викладені стисло, конкретно. Відносним недоліком можна вважати відсутність у висновках відомостей про дози екстрактів та про статистичну значущість виявлених відмінностей.

Список джерел літератури наведено на 42 сторінках у алфавітному порядку, оформлено за чинними вимогами, містить 377 джерел, з яких кирилицею надруковано 135 і 242 – латиницею. 60 % цитованих робіт датовано останніми 10 роками, що підкреслює обізнаність авторки щодо сучасного стану проблеми.

Наукова новизна результатів не викликає сумніву. Дисертантка переконливо довела, що поряд з загальновизнаними складовими метаболічного синдрому (абдомінальним ожирінням, тригліцеридемією, гіперглікемією, низькими значеннями ХСЛПВЩ крові) додатковими є зниження когнітивних функцій та розвиток депресивного стану на тлі вживання високофруктозного раціону. Велике значення має виявлення взаємозв'язку дисліпідемії та змін нервової системи. Вперше встановлено, що на тлі модельного метаболічного синдрому рідкі пропіленгліколеві екстракти листя кропиви дводомної, плодів горобини звичайної та маточного молочка сприяють зменшенню в крові вмісту глюкози, тригліцеридів, загального холестерину, ліпопротеїдів низької щільності.

Виявлено церебро- та вазопротекторну активність екстрактів листя кропиви дводомної, листя волоського горіху, плодів горобини звичайної, листя малини звичайної, маточного молочка та ресвератролу в умовах відтворення моделі метаболічного синдрому. Встановлено, що екстракти плодів горобини звичайної

та маточного молочка відновлюють індуковані високофруктозним раціоном порушення когнітивних функцій. Вперше встановлено, що екстракт маточного молочка сприяє відновленню клітинного складу CA1 та CA3 зон гіпокампа, структури його гемомікроциркуляторного русла.

Таким чином, рецензована робота вносить вагомий вклад у розв'язання задачі корекції стану центральної нервової системи за умов метаболічного синдрому. Проте було б доречним запатентувати результати принаймні щодо ефективності пропіленгліколевих екстрактів маточного молочка та горобини звичайної, що підкреслювало б наукову новизну.

Теоретичне і практичне значення роботи полягає в тому, що результати дозволяють розширити та поглибити уявлення про основні зміни вуглеводного обміну, стан системи антиоксидантного захисту, когнітивні порушення, морфологічні зміни неокортекса та гіпокампа, зумовлені високофруктозним раціоном. Отримані дані є теоретичним підґрунтям для подальшого дослідження лідерів – екстрактів плодів горобини звичайної та маточного молочка за умов метаболічного синдрому.

Результати дисертації віддзеркалено в інформаційному листі про нововведення в системі охорони здоров'я України №355-2015 «Застосування пропіленгліколевого екстракту плодів горобини звичайної за умов метаболічного синдрому (експериментальні дані)» та впроваджено в науково-педагогічний процес 9 кафедр профільних вищих навчальних закладів, у науково-виробничий процес ТОВ «Науково-виробнича компанія «Віларус». Рівень впровадження є достатнім для кандидатської дисертації.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Наукові положення дисертаційної роботи Наталі Олександрівни Мархонь мають достатній рівень обґрунтованості й достовірності, оскільки базуються на адекватних методах дослідження, достатній

кількості експериментів, коректній математичній і статистичній обробці та професійній інтерпретації результатів.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях і в авторефераті. За матеріалами дисертації опубліковано 20 наукових робіт, з яких 7 статей у фахових виданнях з переліку МОН України (1 без співавторів), 1 стаття – за кордоном, а також 12 тез доповідей у матеріалах з’їздів, конгресів, конференцій та методичні рекомендації. Опубліковано інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров’я України «Застосування пропіленгліколевого екстракту плодів горобини звичайної за умов метаболічного синдрому (експериментальні дані)». Видання віддзеркалюють основні результати досліджень Н.О.Мархонь. Автореферат відповідає дисертації за змістом і структурою.

Недоліки дисертації і автореферату щодо їх змісту й оформлення. Тексти дисертації та автореферату викладено українською мовою із дотриманням наукового стилю. Оформлення дисертації та автореферату в цілому відповідає вимогам МОН України щодо викладення, об’єму, структури, ілюстрації, посилань на джерела літератури. Проте виникла низка зауважень та запитань.

Зауваження:

1. У тексті дисертації та автореферату зустрічаються не виправлені мовні неточності та помилки.
2. Використано лише одну дозу досліджуваних екстрактів, що не дозволяє повною мірою розуміти їх фармакотерапевтичний потенціал.
3. Не виконано дослідження впливу еквівалентної дози пропіленгліколю як екстрагенту на метаболічні процеси та стан центральної нервової системи (vehicle control). Це важливо, оскільки пропіленгліколь використовується переважно в технології косметичних засобів, а до складу лікарських препаратів для внутрішнього застосування входить у малих кількостях і його безпека у складі рідких екстрактів для тривалого застосування у досить високій дозі, не зважаючи на наявні токсикологічні дані, потребує суворого доведення.

4. Не досліджено вплив екстрактів на здорових щурів, що значно збагатило б їх фармакологічну характеристику.

5. В авторефераті на рис.2 наведено фотографію препарату головного мозку щура з моделлю метаболічного синдрому, якому вводили екстракт маточного молочка, проте немає препарату мозку здорової тварини та нелікованого щура з модельною патологією, що зменшує наочність порівняння.

Запитання:

1. Для екстрагування використано 1,2-пропіленгліколь або 1,3-пропіленгліколь? Це важливо з огляду різниці між ними за хімічними властивостями, за реакційною здатністю та, очевидно, за біологічною активністю. Крім того, пропіленгліколь якої концентрації використовується для екстракції?

2. Чи не спряжене тривале використання пропіленгліколю у досить високій дозі (1,5 мл/кг рідкого екстракту, що в перерахунку на людину з метаболічним синдромом, яка зазвичай має зайву масу тіла, навіть з урахуванням коефіцієнту видової чутливості може перевищувати 100 мг/кг) з побічними ефектами, зокрема з боку шлунково-кишкового тракту, нирок, водно-сольового обміну з огляду на досить високу осмотичну активність цієї речовини?

3. Досліджувані екстракти, у тому числі лідери (маточного молочка та плодів горобини) мають різний хімічний склад. З якими саме речовинами може бути пов'язаний їх однотипний позитивний вплив на таргетні метаболічні порушення та на структурно-функціональний стан головного мозку за модельної патології?

Ці зауваження і запитання не зменшують досить високу оцінку дисертації Н.О.Мархонь, у якій наведено важливі для фармакології результати, а висновки відповідають задачам дослідження та ґрунтуються на об'єктивних даних.

Рекомендації щодо використання результатів дисертації у практиці.

Матеріали можуть бути використані для подальшої розробки лікарських засобів для терапії когнітивних порушень на тлі метаболічного синдрому.

Висновок. Дисертація Мархонь Наталі Олександрівни «Нейрофармакологічна активність фітоекстрактів та екстракту маточного молочка за умов експериментального метаболічного синдрому» на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.03.05 (фармакологія) є закінченою, самостійною кваліфікаційною науково-дослідною роботою. З урахуванням актуальності теми, сучасного методичного рівня роботи, достатнього об'єму досліджень і використання адекватних експериментальних моделей, статистичних методів, що дозволило авторці зробити об'єктивні висновки, а також наукової новизни, практичної значущості основних положень та висновків, дисертаційна робота «Нейрофармакологічна активність фітоекстрактів та екстракту маточного молочка за умов експериментального метаболічного синдрому» за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія відповідає вимогам п.11 Порядку присудження наукових ступенів, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 із змінами згідно з Постановою КМ № 656 від 19.08.2015 р., які ставляться до кандидатських дисертацій, а Мархонь Наталя Олександрівна заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук.

Офіційний опонент,

завідувач кафедри фармакології

Національного фармацевтичного університету МОЗ України,

доктор медичних наук, професор

С.Ю. Штриголь

Підпис професора С.Ю. Штриголя засвідчую

Заступник ректора з питань кадрової роботи

З.Ф. Подстрелова

