

ВІДГУК

офіційного опонента, завідувача кафедри загальної і клінічної фармакології та фармакогнозії Одеського національного медичного університету, доктора медичних наук, професора Рожковського Ярослава Володимировича на дисертаційну роботу Молодан Юлії Олегівни на тему:

«ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ОЦІНКА ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ ІННОВАЦІЙНОГО АЛКОКСИПОХІДНОГО 1,4-БЕНЗОДІАЗЕПІНУ В КОМБІНАЦІЇ З ФЛАВОНОЇДОМ», представлену до захисту у разову спеціалізовану вчену раду Одеського національного університету імені І.І. Мечникова для розгляду та проведення захисту дисертації на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія

Актуальність теми дисертації.

Проблема запалення як універсального типового патологічного процесу залишається однією з центральних у сучасній експериментальній біології, фізіології, фармакології та медицині. Запальна реакція лежить в основі розвитку значної кількості гострих і хронічних патологічних станів, супроводжується активацією медіаторних, імунних, оксидативних і метаболічних механізмів, а за умов тривалого перебігу може набувати системного характеру та спричиняти порушення функціонального стану різних органів і тканин.

Незважаючи на наявність широкого арсеналу протизапальних засобів, питання підвищення ефективності та безпечності фармакологічної корекції запалення не можна вважати остаточно вирішеним. Застосування традиційних НПЗЗ часто обмежується розвитком небажаних ефектів, зокрема гастротоксичності, нефротоксичності, метаболічних порушень, а також недостатньою ефективністю при хронічних запальних процесах. У зв'язку з цим особливої актуальності набуває пошук нових сполук і комбінованих підходів, здатних впливати не лише на окремі ланки запалення, але й на оксидативний стрес, тканинну деструкцію, цитопротекторні механізми та стан слизових оболонок.

У цьому контексті дисертаційна робота Молодан Ю. О. є своєчасною та науково обґрунтованою, оскільки присвячена експериментальній оцінці протизапальної дії інноваційного алкоксипохідного 1,4-бензодіазепіну - пропоксазепаму - у комбінації з флавоноїдом кверцетином. Вибір досліджуваних речовин є доцільним: пропоксазепам становить інтерес як

сполука з мультимодальним фармакологічним потенціалом, тоді як кверцетин є природним біофлавоноїдом із відомими антиоксидантними, протизапальними, мембраностабілізуючими та цитопротекторними властивостями. Поєднання цих речовин створює підстави для очікування комплексного впливу на різні патогенетичні ланки запального процесу.

Важливою перевагою дисертації є використання двох експериментальних моделей - гострого карагінан-індукованого запалення та хронічної перхлорат-індукованої інтоксикації. Такий підхід дозволив автору оцінити досліджувану комбінацію як за умов гострої ексудативної реакції, так і за умов тривалого токсично індукованого патологічного процесу, що супроводжується системними запальними змінами, оксидативним стресом, гематологічними зрушеннями, дисбіотичними порушеннями та ушкодженням слизових оболонок травного тракту.

Слід також зазначити, що актуальність роботи посилюється сучасними медико-біологічними викликами, пов'язаними зі зростанням частоти стрес-асоційованих, запальних, метаболічних і гастроентерологічних порушень. У таких умовах пошук засобів із поєднаною протизапальною, антиоксидантною, гастропротекторною та потенційно нейромодуючою дією має як теоретичне, так і практичне значення.

Отже, обраний напрям дослідження є актуальним, має належне наукове обґрунтування та відповідає сучасним тенденціям експериментальної біології, фізіології, фармакології й токсикології.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконана в межах науково-дослідних робіт кафедри фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти Одеського національного університету імені І. І. Мечникова: «Дослідження лікувально-профілактичних властивостей раковин молюсків Чорного моря», № ДР 0119U000499 та «Дослідження механізмів розвитку патологічних станів у людини та тварин під впливом ксенобіотиків», № ДР 0124U004566.

Оцінка наукового рівня дисертації і наукових публікацій здобувачки.

Дисертаційна робота Молодан Ю. О. виконана на належному науково-методичному рівні. Автором коректно сформульовано мету дослідження, визначено його завдання, об'єкт і предмет, обґрунтовано вибір експериментальних моделей та застосовано комплекс методів, достатній для

всебічної оцінки протизапальної, антиоксидантної та антиульцерогенної ефективності досліджуваних речовин.

Для вирішення поставлених завдань використано сучасні експериментальні й розрахунково-прогностичні методи, зокрема комп'ютерне моделювання *in silico*, прогнозування токсичності перхлорату калію, ADME-аналіз пропоксазепаму, молекулярний докінг кверцетину, моделювання гострого карагінан-індукованого запалення та хронічної перхлоратної інтоксикації у щурів. Експериментальна частина доповнена морфометричними, гематологічними, біохімічними та статистичними методами дослідження.

Слід позитивно оцінити комплексність методичного підходу. Авторка не обмежилася аналізом одного показника запального процесу, а дослідила локальні морфометричні прояви набрякової реакції, системні гематологічні зміни, біохімічні маркери запалення, оксидативного стресу, антиоксидантного захисту та стан слизових оболонок травного тракту. Такий підхід дав змогу отримати цілісне уявлення про ефекти досліджуваної комбінації за різних експериментальних умов.

Комплексне застосування зазначених методів дозволило здобувачці отримати достовірні результати, що логічно узгоджуються з поставленою метою та завданнями. Основні положення дисертації висвітлені у наукових публікаціях, які відповідають темі роботи та підтверджують апробацію отриманих результатів.

Новизна представлених теоретичних та/або експериментальних результатів проведених здобувачкою досліджень, повнота викладу в опублікованих працях.

Наукова новизна дисертаційної роботи полягає в експериментальному обґрунтуванні протизапальної ефективності комбінованого застосування пропоксазепаму з квертуліном за умов гострого та хронічного запального процесу.

Автором показано, що гостре карагінан-індуковане запалення супроводжується не лише локальною ексудативною реакцією, але й системними біохімічними змінами, які свідчать про активацію запально-деструктивних процесів і пероксидного окиснення ліпідів. На цій моделі встановлено, що комбіноване застосування квертуліну та пропоксазепаму забезпечує більш виражене пригнічення набрякової реакції порівняно з окремим введенням кожної з досліджуваних речовин.

Важливим елементом наукової новизни є використання *in silico*-підходів для попереднього обґрунтування експериментальної моделі та фармакологічного потенціалу досліджуваних сполук. За результатами прогнозування встановлено високий токсикологічний потенціал перхлорату калію, зокрема ймовірну імунно-, гепато-, кардіо- та нейротоксичність, а також можливий вплив на мішені, пов'язані з тиреоїдною регуляцією. Це дозволило автору обґрунтувати застосування перхлоратної інтоксикації як моделі системного токсично-запального ушкодження.

У роботі комплексно оцінено вплив комбінації квертуліну з пропексазепамом на системні та локальні прояви перхлорат-індукованого патологічного процесу. Встановлено, що досліджувана комбінація сприяє нормалізації гематологічних показників, зменшенню проявів системного запалення, зниженню рівня малонового діальдегіду, активності еластази, кислій фосфатази та уреазу у слизових оболонках травного тракту.

Особливої уваги заслуговують результати, які свідчать про антиульцерову ефективність комбінації квертуліну з пропексазепамом. Зменшення кількості виразкових дефектів, площі ураження слизової оболонки шлунка та індексу Паулса дає підстави розглядати досліджувану комбінацію не лише як протизапальну, але і як потенційно гастропротекторну та цитопротекторну.

Основні результати дисертаційної роботи достатньо повно висвітлені у наукових публікаціях здобувачки. За темою дисертації опубліковано 19 наукових праць, серед яких 7 статей у наукових фахових виданнях України, 1 стаття у виданні, що індексується у міжнародних наукометричних базах Scopus та Web of Science, а також 11 тез доповідей у матеріалах наукових конференцій. Тематика публікацій відповідає змісту дисертації та охоплює основні напрями проведеного дослідження.

Наукова обґрунтованість отриманих результатів, наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Обґрунтованість наукових положень дисертації забезпечена логічною побудовою дослідження, послідовним вирішенням поставлених завдань, застосуванням адекватних експериментальних моделей і достатнім обсягом кількісних показників. Робота має завершеної структуру, що відповідає вимогам до кваліфікаційних наукових праць: анотації, вступ, огляд літератури, розділ

матеріалів і методів, три розділи власних результатів, аналіз та узагальнення, висновки, список використаних джерел, практичні рекомендації та додатки.

Дисертація викладена на 174 сторінках, ілюстрована 10 рисунками та 22 таблицями. Список використаних джерел містить 160 найменувань, що свідчить про достатнє опрацювання літератури з проблеми дослідження.

Вірогідність результатів підкріплюється використанням контрольних і дослідних груп, порівнянням ефектів окремого та комбінованого застосування досліджуваних речовин, залученням референтних підходів до корекції патологічних станів, а також статистичною обробкою експериментального матеріалу.

Експериментальні дослідження виконано на базі Одеського національного університету імені І. І. Мечникова та Фізико-хімічного інституту ім. О. В. Богатського НАН України. Робота з лабораторними тваринами проводилася з дотриманням чинних етичних норм щодо використання хребетних тварин у наукових дослідженнях.

Висновки дисертації випливають із результатів власних досліджень, відповідають поставленим завданням і відображають основні наукові положення роботи. Практичні рекомендації є логічним продовженням експериментальної частини та можуть бути використані при плануванні подальших досліджень.

Характеристика основних положень роботи.

У вступі автором обґрунтовано актуальність обраної теми, визначено мету, завдання, об'єкт, предмет і методи дослідження, наведено наукову новизну та практичне значення отриманих результатів.

У розділі 1 «Теоретичні основи фармакологічної корекції запалення. Можливості застосування похідних 1,4-бензодіазепінового ряду і кверцетину (огляд літератури)» проаналізовано сучасні уявлення про запалення як типовий патологічний процес, роль оксидативного стресу та пероксидного ушкодження у його розвитку, а також сучасні підходи до фармакологічної корекції запалення. У розділі розглянуто потенційні протизапальні властивості похідних 1,4-бензодіазепінового ряду, зокрема пропоксазепаму та біофлавоноїду кверцетину. Огляд літератури засвідчує достатнє опрацювання авторкою сучасних джерел і формує належне теоретичне підґрунтя для подальших експериментальних досліджень.

У розділі 2 «Матеріали та методи досліджень» наведено дизайн експерименту, умови утримання тварин, досліджувані речовини, методи моделювання гострого карагінан-індукованого запалення та хронічної перхлоратної інтоксикації, а також морфометричні, гематологічні, біохімічні й статистичні методи. Методичний апарат роботи є достатнім і відповідає поставленим завданням.

У розділі 3 «Прогнозування токсичності перхлоратів, фармакокінетичних властивостей (ADME) пропоксазепаму та кверцетину (дослідження *in silico*)» представлено результати прогнозування токсичності перхлорату калію, оцінки фармакокінетичних властивостей пропоксазепаму та докінг-аналізу кверцетину. Отримані результати *in silico* дозволили автору обґрунтувати вибір експериментальної моделі та підтвердити доцільність подальшого вивчення протизапальної й антиоксидантної ефективності досліджуваних сполук *in vivo*.

У розділі 4 «Протизапальна дія комбінації пропоксазепаму та кверцетину на моделі гострого карагінанового запалення» наведено результати дослідження протизапальної дії кверцетину, пропоксазепаму та їх комбінованого застосування на моделі гострого карагінанового запалення». Автором показано, що комбіноване введення квертуліну та пропоксазепаму забезпечує більш виражене пригнічення розвитку набряку порівняно з кожною з монокорекцій, що свідчить про перспективність такого поєднання для подальших досліджень.

У розділі 5 «Протизапальна, антиульцерогенна та антиоксидантна ефективність квертуліну та пропоксазепаму у слизових оболонках травного тракту щурів при інтоксикації перхлоратом калію» представлено результати оцінки системних і локальних змін за умов перхлорат-індукованої інтоксикації та їх фармакологічної корекції. Розділ є одним із найбільш вагомих у дисертаційній роботі, оскільки в ньому показано, що перхлоратна інтоксикація супроводжується запальними змінами, оксидативним стресом, підвищенням активності ферментів запально-деструктивного процесу та розвитком ерозивних ушкоджень слизової оболонки шлунка. Комбіноване застосування квертуліну з пропоксазепамом сприяло зменшенню вираженості зазначених порушень і виявило більш комплексний коригувальний ефект порівняно з L-тироксином за більшістю досліджуваних показників.

У розділі 6 «Аналіз та узагальнення отриманих результатів» авторка зіставляє власні експериментальні дані з наявними літературними відомостями, формулює узагальнене бачення механізмів протизапальної, антиоксидантної та антиульцерогенної дії досліджуваної комбінації. Слід позитивно відзначити наявність узагальнювальної схеми, яка систематизує основні патогенетичні ланки досліджуваного процесу та можливі напрями фармакологічної корекції.

У дисертаційній роботі сформульовано 9 висновків, які відповідають меті й завданням дослідження, відображають основні результати роботи та ґрунтуються на фактичному експериментальному матеріалі.

Рівень виконання поставленого наукового завдання, оволодіння здобувачкою методологією наукової діяльності.

Результати дисертаційної роботи доцільно використовувати у подальших експериментальних дослідженнях, спрямованих на вивчення механізмів комбінованої протизапальної дії пропоксазепаму та флавоноїдних сполук.

Перспективним є подальше дослідження дозозалежності ефектів, тривалості дії, безпечності комбінованого застосування, а також впливу досліджуваної комбінації на цитокіновий профіль, стан кишкового бар'єра, мікробіоту та інші маркери системного запалення.

Матеріали дисертації можуть бути рекомендовані для використання в освітньому процесі при підготовці здобувачів вищої освіти біологічного, медико-біологічного та фармакологічного профілю, а також у науково-дослідній роботі установ, що займаються проблемами експериментальної фармакології, фізіології, токсикології та патологічної фізіології.

Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, а також запитання до здобувача.

Загальна оцінка дисертації пошукувача є позитивною, проте слід звернути увагу на окремі зауваження.

1. Для оцінки протизапальної активності досліджуваних сполук автор обрав класичну карагінанову модель гострого запального процесу. При цьому протизапальна дія оцінювалась за змінами висоти і ширини задньої кінцівки щура. Ці показники є дуже близькими і фактично повторюють один одного, та не мають патогенетичних відмінностей. Інтегральним показником для оцінки набряку кінцівки у тварини міг би бути об'єм лапки, який вимірюють звичайним онкометром.

2. Якщо автор в своїй роботі поставила завдання дослідити механізми протизапальної дії кверцетину, пропоксазепаму та їхньої комбінації, то логічно було б вивчити їхній вплив не тільки в умовах відтворення карагінанової моделі, яка передусім відображає циклооксигеназний шлях, але й за умов зимозанового і формалінового запалення, які відображають відповідно ліпоксигеназний і протеолітичний механізми розвитку запалення з залученням больового синдрому. Це б автору дозволило додатково показати переваги та обґрунтувати доцільність комбінованого застосування кверцетину з пропоксазепамом.

3. В дисертаційній роботі відсутнє чітке обґрунтування вибору співвідношення доз пропоксазепаму та квертуліну.

4. Бажано було б надати перспективи подальшої оптимізації комбінованого застосування препаратів, зокрема з урахуванням можливого дозозалежного характеру ефектів.

5. У дисертаційній роботі проведено порівняння ефективності досліджуваної композиції з L-тироксином на моделі перхлоратної інтоксикації. Разом із тим, бажано було б чіткіше розмежувати ефекти, пов'язані з корекцією тиреоїдного компоненту патології з ефектами, які відображають власне протизапальну, антиоксидантну й гастропротекторну дію досліджуваної комбінації.

6. В роботі зустрічаються окремі стилістично невдалі вислови та русизми на кшталт «...зменшенню ширини та висоти набряку щурів», «...спосібність нормалізувати активність...» тощо.

Проте, не зважаючи на вказані зауваження, дисертаційна робота, подана до захисту, вирізняється високим науковим рівнем. Виявлені зауваження не впливають на загальну якість дослідження, не зменшують його теоретичної і практичного значення, наукової новизни і обґрунтованості сформульованих висновків.

В плані наукової дискусії хотів би отримати відповідь дисертанта на наступне запитання. Який вид взаємодії лікарських засобів реалізований в запропонованій дисертантом комбінації пропоксазепаму з квертуліном?

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам

Дисертаційна робота Молодан Юлії Олегівни на тему: «Експериментальна оцінка протизапальної дії інноваційного алкоксипохідного 1,4-бензодіазепіну в комбінації з флавоноїдом» є новим вирішенням важливого

завдання сучасної фармакології і фармації, яка полягає у підвищенні ефективності фармакотерапії хронічної інтоксикації перхлоратом калію шляхом обґрунтування комплексного застосування інноваційного похідного 1,4-бензодіазепіну з протизапальною активністю пропоксазепаму з флавоноїдом кверцетином, яка усуває провідні патогенетичні механізми інтоксикації і супутнього запального процесу. За актуальністю, глибиною проведених досліджень, теоретичному і практичному значенню, науковою новизною, достатністю оприлюднених наукових матеріалів а також рівнем апробації робота повністю відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 19.05.2023 №502 щодо здобуття ступеня доктора філософії та вимогам до оформлення дисертації, затвердженими наказом МОН України від 12 січня 2017 року №40 з відповідними змінами, а її автор Молодан Юлія Олегівна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 09 - Біологія за спеціальністю 091 – Біологія.

Офіційний опонент:

завідувач кафедри загальної і клінічної
фармакології та фармакогнозії
Одеського національного
медичного університету
доктор медичних наук, професор



Ярослав РОЖКОВСЬКИЙ

ЗАСВІДЧУЮ

Вчений секретар Одеського
національного медичного університету