



## РЕЦЕНЗІЯ

завідувача кафедри клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії ННПО ЗДМФУ МОЗ України, доктора медичних наук, професора Білая Івана Михайловича на дисертаційну роботу Бурлаки Кристини Анатоліївни «Епігенетичні механізми побічної дії нестероїдних протизапальних засобів (експериментальне дослідження)», подану до захисту у разову спеціалізовану вчену раду ДФ 17.600.067 Запорізького державного медико-фармацевтичного університету МОЗ України, що створена відповідно до наказу ректора Запорізького державного медико-фармацевтичного університету від 20.12.2023 року № 439 на здобуття ступеня доктора філософії в галузі знань «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина»

**Актуальність теми дисертації.** Нестероїдні протизапальні лікарські засоби (НПЛЗ) є одними з найбільш поширених ліків, які призначаються у всьому світі. Вони складаються з групи препаратів, які використовуються при лихоманці, болю та запаленні, оскільки ці препарати володіють жарознижувачими, безпечними та протизапальними властивостями. Ці препарати є добре відомими протизапальними засобами і проявляють свою дію через пригнічення синтезу простагландинів шляхом блокування ферменту циклооксигенази (ЦОГ). За останні кілька десятиліть, зростає кількість досліджень, щодо використання НПЛЗ у лікуванні та профілактиці раку, в той час, як зв'язок між хронічним запаленням і раком виявлено тривалий час тому. В опублікованій літературі є численні звіти про захисні ефекти НПЛЗ при ракових патологічних процесах. Багато з цих досліджень мають епідеміологічний характер, у яких ці препарати асоціювалися зі зниженим ризиком раку при різних типах раку, наприклад молочної залози, передміхурової залози, яєчників, а також рак голови та ший. Однак роль НПЛЗ у профілактиці раку залишається незрозумілою через суперечливі та непослідовні висновки. У той час як деякі дослідження показали зниження ризику раку, інші продемонстрували відсутність зв'язку між раком і використанням НПЛЗ, і навпаки підвищення захворюваності. Наприклад, у проспективному дослідженні за участю приблизно 20 000 жінок (віком 58–76 років) було показано, що неаспіринові НПЛЗ не пов'язані з ризиком раку яєчників і матки.

Однак взаємозв'язок між раком і використанням НПЛЗ є складним, і висновок про те, що препарати, які мають протизапальну дію, також захищають від раку, безсумнівно, є надмірним спрощенням. Попередні дослідження показали, що використання НПЛЗ пов'язане з підвищеним ризиком або смертністю від певних типів раку. Крім того, тривале застосування НПЗП часто пов'язане з багатьма серйозними серцево-судинними, шлунково-кишковими, нирковими та іншими побічними ефектами.

Порівняно з дослідженнями НПЛЗ щодо захисту від раку, існує відносно менше досліджень щодо ефекту НПЛЗ, що підвищує ризик раку. Дослідження, які повідомляли про роль НПЛЗ у збільшенні ризику раку, здебільшого є епігенетичними, а механізми, що лежать в основі підвищення ризику, менш чітко окреслені. Проте питання їхньої інформаційної цінності залишається відкритим. На нашу думку цікавим є встановлення нових молекулярних та можливих епігенетичних механізмів, токсичних та побічних ефектів НПЛЗ при їх тривалому застосуванні.

Існує припущення, що в теперішній час дослідження НПЛЗ необмежуються класичними уявленнями щодо механізму побічної дії пов'язаних лише з блокадою ЦОГ-1 та ЦОГ-2. Дослідженнями останнього п'ятиріччя показана здатність НПЛЗ негативно впливати на тонкі молекулярні ланцюги антиоксидантної - прооксидантної, імунної систем, виступати у ролі потужних епігенетичних факторів, порушувати експресійну активність окремих генів. Епідеміологічними дослідженнями встановлена можливість НПЛЗ ініціювати неопластичні процеси ШКТ на тлі їх тривалого застосування.

Таким чином, враховуючи вищевикладене, вважаю актуальними та обґрунтованими дослідження молекулярних та епігенетичних механізмів НПЛЗ у площини їх впливу на показники оксидативного/нітрозуючого стресів, тіол-дисульфідної системи, обміну пуринів, концентрації HSP70-білків, греліну, маркерів пошкодження кишківника, а також вивчення процесів метилювання, фрагментації ДНК, експресії TL4-рецепторів та синтезу білків Wnt- Hedgehog сигналіngu.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота була частиною двох науково-дослідних тем кафедри клінічної лабораторної діагностики: «Дослідження факторів ендогенної цитопротекції та розробка нових ефективних шляхів діагностики та лікування захворювань серця та патології центральної нервової системи» (№ державної реєстрації 0118U004369), термін виконання 2017-2019 рр та «Коморбідні стани, серцево-судинні та онкологічні захворювання в загальноклінічній

практиці: розробка сучасних діагностичних та лікувальних заходів» (№ державної реєстрації 0120U101587), термін виконання 2019-2023 роки.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність і новизна.** Представлена дисертаційна робота є експериментальною роботою у галузі фундаментальної фармакології, та присвячена дослідженням нових механізмів побічної дії НПЛЗ.

Дисертантом самостійно проведено інформаційний пошук, проаналізовано сучасну наукову літературу з теми роботи, сформульовано мета та завдання дослідження та розроблено дизайн його виконання. Автором самостійно проведено біохімічні, фармакологічні, токсикологічні, математико-статистичні дослідження крові експериментальних тварин. Здобувачем особисто систематизовано отримані результати, написано всі розділи дисертаційної роботи, підготовлено до друку наукові праці, впроваджено наукові розробки в роботу начальних закладів України. Автором не запозичено ідеї та розробки співавторів публікацій.

Достовірність отриманих в дисертації результатів забезпечені вірними методологічними підходами та статистичним аналізом.

Організація дослідження та методологія відповідає меті та завданням. Для вирішення завдань використано сучасні методи дослідження, відповідне лабораторне обладнання, що є дуже важливим для презентації отриманих даних на сучасному науковому рівні.

Автором був встановлений профіль токсичності НПЛЗ (диклофенаку, індометацину, ацетилсаліцилової кислоти, мелоксикаму). Визначено їх вплив на показники оксидативного/нітрозуючого стресів, тіол-дисульфідної системи, обміну пуринів у тканинах кишківника щурів. Також було проведено дослідження впливу НПЛЗ на характер концентрації у тканинах кишківника HSP70, інтермедіатів APUD системи та маркерів пошкодження тканини. Крім того, автором була проведена оцінка характеру впливу НПЛЗ (на ступінь метилювання та фрагментації ДНК, впливу на концентрацію білків Wnt-Hedgehog сигналіngu, гену c-kit та експресію TL-4 рецепторів

На підставі отриманих результатів, автор провів математичний аналіз кореляційних зав'язків параметрів, що вивчаються, а також з'ясував їх ступінь впливу на метилювання та фрагментацію ДНК, а також реалізацію побічної дії НПЛЗ.

Таким чином, сучасний методичний рівень роботи, висока інформативність використаних методів дослідження та адекватність статистичного аналізу дозволяють вважати результати дослідження, наукові положення, висновки і рекомендації достовірними та науково

обґрунтованими.

**Новизна дослідження та одержаних результатів.** Вперше, в умовах тривалого призначення досліджуваних НПЛЗ (диклофенак, індометацин, аспірин, мелоксикам) лабораторним щурам, вивчено молекулярні механізми токсичних та побічних ефектів, які пов'язані з їх здатністю негативно впливати на антиоксидантно-прооксидантну, тіол-дисульфідну системи, обмін пуринів, концентрацію HSP70-білків, греліну. Встановлено, що досліджувані НПЛЗ здатні підсилювати процеси метилювання та фрагментації ДНК, порушувати експресію TL4-рецепторів та дизрегулювати синтез білків Wnt- Hedgehog сигналіngu та гену c-kit. У проведеному дослідженні показана кореляція патобіохімічних та генетичних змін із накопиченням у тканинах кишківника маркерів їх пошкодження MMP8 та фекального кальпротектину та загального профілю ульцерогенної дії НПЛЗ.

Вперше встановлена кореляційна взаємодія фрагментації ДНК з окисненим глутатіоном та MMP8. Показано, що фрагментація ДНК відіграє ключову роль у виникненні пошкоджень слизової оболонки кишківника, а вплив окисненого глутатіону та MMP8, на цей процес, підкреслює складний характер регуляції. З погляду можливих побічних ефектів, це дослідження розкриває можливу роль MeDNA, нітротирозину та фрагментації ДНК у патогенезі пошкоджень слизової оболонки кишківника. Також показано, що потенційний вплив окисненого глутатіону та MMP8, на маркери цих процесів, може характеризувати ступінь тяжкості ульцерогенних ушкоджень ШКТ.

Математично доведено вплив маркерів оксидативного та нітрозуючого стресу на процеси метилювання та фрагментації ДНК, а також їх сильний кореляційний зв'язок з дизрегуляцією синтезу білків Wnt- Hedgehog сигналіngu та гену c-kit.

Вперше, проведено порівняльний аналіз між досліджуваними НПЛЗ, за силою їх впливу, на маркери оксидативного/нітрозуючого стресу, обміну пуринів, концентрацію HSP70-білків, греліну, пошкодження кишківника, ступінь метилювання та фрагментації ДНК, експресії TL4-рецепторів, концентрації білків Wnt- Hedgehog сигналіngu та c-kit гену.

Показано різноспрямований характер побічних ефектів диклофенаку, індометацину, ацетилсаліцилової кислоти та мелоксикаму на маркери оксидативного/нітрозуючого стресу, обміну пуринів, концентрацію HSP70-білків, греліну, пошкодження кишківника, ступінь метилювання та фрагментації ДНК, експресії TL4-рецепторів, концентрації білків Wnt- Hedgehog сигналіngu та c-kit гену.

Незважаючи на обмежену дію мелоксикаму на показники оксидативного, нітрозуючого стресів та його мінімальну ульцерогенну дію, встановлено його

статистично достовірний епігенетичний вплив, а саме підвищення кількості метильованої та фрагментованої ДНК та дизрегуляції білоксинтетуючої функції генів Wnt- Hedgehog сигналіngu та гену c-kit.

**Теоретичне і практичне значення результатів дослідження.**

Дисертаційна робота присвячена дослідженню фундаментальної проблеми фармакології, а саме встановленню нових механізмів побічних ефектів НПЛЗ (диклофенаку, індометацину, аспірину, мелоксикаму). Досліджені можливі молекулярно-епігенетичні шляхи реалізації їх побічної дії (маркери оксидативного/нітрозуючого стресу, обміну пуринів, концентрацію HSP70-білків, греліну, пошкодження кишківника, ступінь метилювання та фрагментації ДНК, експресії TL4-рецепторів, концентрації білків Wnt-Hedgehog сигналіngu та c-kit гену). Математично доведено вплив цих показників на реалізацію ульцерогенної дії досліджуваних НПЛЗ.

Сукупність отриманих даних має важливе значення, як для розвитку сучасних уявлень щодо механізмів побічної дії НПЛЗ так і для використання нових інформативних біохімічно-генетичних маркерів для скринінгу небажаних побічних ефектів НПЛЗ. Крім того, отримано нові уявлення щодо молекулярних механізмів побічних ефектів НПЛЗ, що вподальшому дозволить розробити ефективні фармакологічні та технологічні підходи для їх нівелювання.

Теоретичні положення дисертації використовуються у трьох напрямках: в навчальному процесі на кафедрі клінічної медицини Київського національного університету ім. Тараса Шевченка МОН України, кафедрі фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України, кафедрі фармакології Запорізького державного медико-фармацевтичного університету МОЗ України, кафедрі клінічної лабораторної діагностики НФаУ МОЗ України; в науковому процесі у роботі навчального медико-лабораторного центру Запорізького державного медико-фармацевтичного університету МОЗ України, лабораторії фармакології ефекторних органів і систем ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»; в лікувально-діагностичному процесі у відділенні клініко-діагностичної лабораторії КНП «Міська лікарня №9» ЗМР та клініко-діагностичній лабораторії ННМЦ «Університетська клініка ЗДМФУ». Апробація дисертаційної роботи відбулася на спільному засіданні кафедр Запорізького державного медико-фармацевтичного університету 01 грудня 2023 року.

**Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності.** У дисертаційній роботі Бурлаки Кристини Анатоліївни «Епігенетичні механізми побічної дії нестероїдних протизапальних засобів (експериментальне

дослідження)» не встановлено ознак академічної недоброчесності. Робота перевірена ліцензійною антиплагіатною системою StricePlagiarism, за результатами якої встановлено, що в дисертації відсутні порушення академічної доброчесності, текстових запозичень не виявлено, наявні посилання на відповідні джерела.

**Зміст дисертації, її завершеність в цілому.** Дисертаційна робота викладена на 188 сторінках друкованого тексту, складається з анотації, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаної літератури, який містить 228 джерела (з них 10 – кирилицею, 218 – латиною) та 5 додатків. Дисертація ілюстрована 12 таблицями та 12 рисунками.

Вступна частина написана повноцінно і включає усі складові, передбачені вимогам до дисертацій на здобуття наукового ступеня доктора філософії. У вступі розкрито актуальність обраної проблеми, чітко сформульована мету, завдання дослідження, представлено особистий внесок здобувача, наукова новизна та практичні рекомендації.

Розділ 1. Детальний аналіз дисертаційної роботи встановив, що огляд літератури написаний змістовно, використано достатній об'єм вітчизняних та закордонних джерел. Автором представлені сучасні дані щодо питань, що недостатньо вивчені та які необхідно вирішувати. автор приділив більше уваги огляду джерел літератури присвячених суперечливим питанням профілю небажаних побічних ефектів НПЛЗ та їх механізмів дії.

Розділ 2. Матеріали та методи дослідження. Висвітлений дизайн роботи, описані методи дослідження.

Розділ 3. В третьому розділі автор наводить дані щодо впливу тривалого введення НПЛЗ на токсичність, стан слизової оболонки кишківника, показники оксидативного нітрозуючого стресів, метаболізм пуринів та сечової кислоти

Розділ 4. В четвертому розділі представлені дані про вплив НПЛЗ на дослідження факторів ендогенної цитопротекції (HSP70), маркерів пошкодження тканини (MMP8) та маркерів APUD системи (грелін, фекальний кальпротектин).

Розділ 5. У п'ятому розділі представлено дослідження впливу НПЛЗ на процеси метилювання ДНК, TL-4-рецептор білки Wnt та Hedgehog сигналіngu та гену c-kit.

Розділ 6. Аналіз і узагальнення результатів дослідження, містить узагальнення отриманих даних та порівняння основних результатів дослідження з даними літератури.

Висновки дисертації сформульовані повноцінно і конкретно, повністю відповідають положенням, зазначеним у меті і завданнях. Дисертаційне дослідження містить дані, що складають новизну в теоретичному і практичному відношеннях.

**Повнота викладу основних результатів дисертації в опублікованих працях.** Основні результати і нові наукові положення дисертації повністю опубліковані в наукових журналах та в матеріалах науково-практичних конференцій.

За матеріалами дисертації опубліковано 8 наукових праць: 3 статей в науковому фаховому виданні України, 5 тез у матеріалах міжнародних і Всеукраїнських з'їздів і науково-практичних конференцій. Матеріали дисертації були оприлюднені на 5 конференціях і конгресах у формі виступів.

Дисертація оформлена згідно існуючих вимог і містить повноту інформації щодо основних положень, наукових трактувань, заключень, висновків та практичних рекомендацій. Фактичний матеріал добре систематизовано. Робота написана чіткою науково-літературною мовою.

**Завершеність дисертаційної роботи та зауваження щодо її змісту та оформлення.** Дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням, у якому чітко зазначені мета і завдання, вірно обрані методологічні і методичні інструменти, витримана послідовність наукового пошуку з наступним порівнянням аналізу даних. Вищесказане дозволяє вважати, сформульовані в дисертації положення, висновки і практичні рекомендації є науково обґрунтованими.

**Загальна оцінка дисертаційної роботи позитивна, проте в процесі рецензування виникли наступні зауваження:**

1. Багато аббревіатур, що ускладнює сприйняття інформації;
2. у тексті дисертації зустрічаються граматичні, стилістичні та друкарські помилки.

Зазначені зауваження не мають принципового характеру, не зменшують цінності наукового дослідження, мають рекомендаційний характер і не впливають на загальну позитивну оцінку роботи.

Оцінюючи в цілому роботу позитивно, в якості дискусії виникли запитання:

*1. Чому з великого переліка сучасних НПЛЗ, Вами для дослідження були обрані саме диклофенак, індометацин, ацетилсаліцилова кислота та мелоксикам.*

*2. Відомо, що ацетилсаліцилова кислота приймається виключно внутрішньо, per os, в вашому дослідженні Ви її вводите внутрішньобрюшинно. Пояснить чому?*

3. Як Ви вважаєте, встановлені Вами нові молекулярні механізми побічних ефектів НПЛЗ пов'язані з основним, класичним, механізмом ульцерогенної дії НПЛЗ – блокадою ЦОГ1, або ці механізми реалізуються окремо та чинять окремі небажані побічні ефекти?

**Висновок.** Дисертаційна робота Бурлаки Кристини Анатоліївни «Епігенетичні механізми побічної дії нестероїдних протизапальних засобів (експериментальне дослідження)», є закінченим науковим дослідженням, у якому вирішена важлива наукова задача – дослідження нових молекулярно-генетичних механізмів небажаних побічних реакцій НПЛЗ.

Дисертаційна робота повністю відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. № 44 та вимогам оформлення дисертацій, затвердженим наказом № 40 Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р., а її автор заслуговує на присудження ступеня доктора філософії у галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

**Рецензент:**

Завідувач кафедри клінічної  
фармації, фармакотерапії, фармакогнозії  
та фармацевтичної хімії ЗДМФУ  
МОЗ України, доктор медичних  
наук, професор

Іван БІЛАЙ





На електронний документ накладено: 1 (Один) підписи чи печатки:  
На момент друку копії, підписи чи печатки перевірено:  
Програмний комплекс: eSign v. 2.3.0;  
Засіб кваліфікованого електронного підпису чи печатки: ПТ Користувач ЦСК-1  
Експертний висновок: №04/05/02-1277 від 09.04.2021;  
Цілісність даних: не порушена;

Підпис № 1 (реквізити підписувача та дані сертифіката)  
Підписувач: Білай Іван Михайлович 2020307750;  
Належність до Юридічної особи: ;  
Код юридичної особи в ЄДР: 2020307750;  
Серійний номер кваліфікованого сертифіката: 382367105294AF9704000000427DEB0064F1EC01;  
Видавець кваліфікованого сертифіката: "Дія". Кваліфікований надавач електронних довірчих послуг;  
Тип носія особистого ключа: Захищений;  
Тип підпису: Кваліфікований;  
Сертифікат: Кваліфікований;  
Час та дата підпису (позначка часу для підпису): 14:56 31.01.2024;  
Чинний на момент підпису. Підтверджено позначкою часу для підпису від АЦСК (кваліфікованого надавача електронних довірчих послуг)  
Час та дата підпису (позначка часу для даних): 14:56 31.01.2024;  
Чинний на момент підпису. Підтверджено позначкою часу для даних від АЦСК (кваліфікованого надавача електронних довірчих послуг)