

Голові спеціалізованої вченої ради
Д 64.600.06 Харківського національного
медичного університету,
д. мед. н., професору Огнєву В.А.

В І Д Г У К

**офіційного опонента доктора медичних наук, професора
Завгороднього Ігоря Володимировича
на дисертаційну роботу Яськів Ганни Ігорівни на тему:
«Оцінка дисбіотичної та імуносенсибілізуючої дії лікарських засобів групи
хінолонів при їх гігієнічній регламентації у повітрі робочої зони на прикладі
нітроксоліну», що представлена на здобуття наукового ступеня кандидата
медичних наук до спеціалізованої вченої ради Д 64.600.06
Харківського національного медичного університету
за спеціальністю 14.02.01 – «Гігієна та професійна патологія»**

Актуальність теми.

Життя сучасного суспільства тісно та нерозривно пов'язане з виробами хіміко-фармацевтичної промисловості, що є водночас великим благом для людини та загрозою розвитку цілої низки захворювань. Стрімке зростання попиту на фармацевтичну продукцію мотивує розширення та впровадження нових потужностей і є невіддільним від проблеми забруднення виробничого середовища та його впливу на стан здоров'я працюючих. Основними профілактичними заходами протидії професійним захворюванням є розроблення гігієнічних регламентів допустимого вмісту лікарського засобу (ЛЗ) у повітрі робочої зони, підвищення вимог до якості виробничого середовища на фармацевтичних підприємствах, впровадження гігієнічних нормативів, які обумовлюють безпеку праці робітників в умовах виробництва потенційно шкідливих для здоров'я хімічних речовин та сполук. Гігієнічна регламентація антимікробних препаратів (АМП) у виробничому середовищі хіміко-фармацевтичних підприємств має свої особливості. Вони пов'язані зі специфічними властивостями цих сполук. Тому, для проведення досліджень по обґрунтуванню гігієнічних регламентів допустимого вмісту АМП у повітрі робочої зони, крім загальноприйнятої інформації (умови виробництва, застосування ЛЗ, хімічна будова, фізико-хімічні, біологічні властивості та ін.) потрібні відомості щодо їх специфічної дії, які базуються, здебільшого, на узагальненні побічних реакцій, що виникають у клінічних умовах при контактному, пероральному, аерозольному використанні ЛЗ з лікувальною метою. У більшості випадків це - антимікробні, алергічні і токсичні реакції, які покладені в основу обов'язкових досліджень з гігієнічного нормування і включають вивчення антимікробної, сенсибілізуючої, загальнотоксичної дії.

Нітроксолін – один із АМП, синтетичний уроантисептик, який протягом тривалого часу використовується для лікування та профілактики гострих, хронічних і рецидивуючих інфекцій сечовивідних шляхів (ІСВШ). Попри довгий клінічний вік нітроксоліну, він до цього часу зберігає високу активність щодо бактерій групи кишкових паличок, зокрема E. Coli, та рекомендується

експертами європейської асоціації урологів як препарат першої лінії для лікування гострих та рецидивуючих неускладнених інфекцій ІСВШ.

Проте, незважаючи на тривалий промисловий випуск нітроксоліну, широке використання препарату у медичній практиці, великі обсяги виробництва, високу біологічну активність сполуки гігієнічні нормативи допустимого вмісту ЛЗ у повітрі робочої зони фармацевтичних підприємств досі не розроблено. Останнє актуалізує проблему хімічної безпеки виробничої сфери і висуває на перший план розроблення попереджувальних та профілактичних заходів, спрямованих на усунення небажаних ефектів впливу препарату в умовах виробництва й обумовлює доцільність виконання даної дисертаційної роботи, визначає її мету і завдання.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами.

Дисертаційна робота є фрагментом наукової теми, яка виконувалась в "Центральній науково-дослідній лабораторії та лабораторії промислової токсикології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького": «Наукове обґрунтування гігієнічних регламентів допустимого вмісту лікарських препаратів в об'єктах довкілля та розробка кількісних методів їх визначення у повітрі» – номер державної реєстрації 0109U000023. Здобувач є співвиконавцем цієї наукової теми.

Ступінь обґрунтованості та достовірності положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Дисертаційна робота виконана на сучасному науково-методичному рівні і базується на експериментальних дослідженнях з використанням лабораторних тварин. Дослідження проведено з використанням відповідних до мети та завдань методів. Достовірність наукових результатів і висновків, сформульованих у дисертаційній роботі, підтверджена наявністю фактичного матеріалу одержаного під час проведення досліджень. Репрезентативність одержаних результатів обґрунтована достатньою кількістю виконаних досліджень та адекватністю статистичної обробки первинних матеріалів. Встановлення параметрів токсичності й характеру біологічної дії нітроксоліну при пероральному, інгаляційному та перкутанному шляхах надходження в умовах гострого та підгострого досліду, вивчення кумулятивної активності лікарського засобу (ЛЗ) проведено на 149 тваринах, з них: 124 безпородні щури, 24 безпородні миші, 1 кролик. Вивчення специфічних ефектів впливу нітроксоліну (імуносенсibiliзуючого, дисбіотичного) автором здійснено на 16 мурчаках та 30 щурах. Усі положення та висновки, сформульовані у дисертації, ґрунтуються на результатах проведених досліджень та відповідають поставленим завданням.

Практичні рекомендації, що випливають з дисертаційної роботи об'єднують комплекс санітарно-гігієнічних і медико-профілактичних заходів, спрямованих на покращення умов праці та збереження здоров'я працівників, що працюють в умовах виробництва протимікробних засобів, зокрема нітроксоліну.

Новизна дослідження та одержаних результатів

Новизна дисертаційних досліджень Г. І. Яськів полягає в тому, що автором вперше в Україні на основі комплексних експериментальних досліджень на лабораторних тваринах вивчено механізми порушень в органах і системах організму: у системі кров'яного гемостазу, імунітету, екомікроценозу уrogenітального тракту та товстого кишківника при інгаляційному шляху надходження нітроксоліну, що дає можливість науково обґрунтувати рівні державних гігієнічних регламентів України.

Дисертантом визначено параметри токсичності нітроксоліну при різних шляхах надходження (пероральному, інгаляційному, при попаданні на шкіру та слизові) в організм лабораторних тварин в умовах гострого і субхронічного експериментів.

Яськів Г.І. визначено кумулятивні та алергенні властивості нітроксоліну, вплив на показники гемостазу (гематологічні, біохімічні), на клітинні реакції неспецифічного та системного імунітету.

Автором доведено імуносенсibiliзуючу активність нітроксоліну з формуванням в організмі тварин патофізіологічних реакцій алергійного спрямування.

Дисертантом вперше вивчено дисбіотичну дію нітроксоліну на структуру й кількісні показники видового складу мікрофлори уrogenітального тракту та фекального біотопу щурів при багаторазовій інгаляційній дії нітроксоліну, встановлено порогову (5 мг/м^3) та діючу концентрацію лікарського засобу (15 мг/м^3), що викликає ці зміни.

Набуло подальшого розвитку знання щодо застосування комплексних досліджень по розробці гігієнічних регламентів допустимого вмісту лікарських засобів у повітрі робочої зони для підвищення вимог до якості виробничого середовища на фармацевтичних підприємствах та безпеки праці робітників в умовах виробництва потенційно шкідливих для здоров'я хімічних речовин.

Відповідність дисертації профілю спеціалізованої вченої ради

Дисертаційна робота Яськів Ганни Ігорівни на тему: «Оцінка дисбіотичної та імуносенсibiliзуючої дії лікарських засобів групи хінолонів при їх гігієнічній регламентації у повітрі робочої зони на прикладі нітроксоліну», за змістом відповідає профілю спеціалізованої вченої ради Д 64.600.06 Харківського національного медичного університету.

Важливість одержаних результатів для науки та народного господарства, рекомендації щодо їх використання

Практичне значення отриманих результатів полягає в тому, що автором отримані важливі дані щодо обґрунтування гігієнічного регламенту допустимого вмісту нітроксоліну у повітрі робочої зони.

За результатами дисертаційного дослідження Постановою санітарно-епідеміологічної служби України від 21.01.2014 р. затверджено орієнтовно безпечний рівень впливу лікарського засобу у повітрі робочої зони на рівні 5 мг/м^3 . Комітетом з питань гігієнічного регламентування МОЗ України (21.03.2019 р.) схвалено гранично допустиму концентрацію нітроксоліну– $0,5 \text{ мг/м}^3 \text{ А}$ (1 клас небезпеки).

Здобувачем розроблено комплекс санітарно-гігієнічних і медико-профілактичних заходів, спрямованих на покращення умов праці та збереження здоров'я працівників, що контактують з речовиною.

Результати роботи впроваджено у навчальний процес на кафедрах мікробіології, гігієни та профілактичної токсикології, клінічної лабораторної діагностики, фармакології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Рекомендації, щодо використання результатів дисертації в практиці

У подальшому, результати досліджень можуть бути впроваджені:

- на хіміко-фармацевтичних підприємствах з виробництва антимікробних засобів (нітроксоліну) для попередження негативного впливу ЛЗ на організм робітників;
- у структуру медико-профілактичних заходів, спрямованих на виявлення, профілактику та усунення наслідків шкідливої дії АМП на виробництві;
- у навчальний процес на профільних кафедрах закладів вищої освіти.

Характеристика розділів та оцінка змісту дисертації.

Дисертаційна робота Яськів Г.І. побудована за традиційної схемою і складається зі вступу, огляду літератури, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних літературних джерел, яких налічується 174 найменувань, з них 59 латиницею та 5 додатків.

Матеріали дисертаційної роботи викладено на 170 сторінках друкованого тексту, ілюстровано 25 таблицями, 22 рисунками.

У вступі автор обґрунтовує актуальність обраної теми, доводить необхідність проведення дослідження, що дає змогу чітко сформулювати мету та завдання дисертаційної роботи, відображає наукову новизну, теоретичне та практичне значення одержаних результатів, висвітлює заходи з апробації результатів.

У першому розділі роботи «Регламентація лікарських засобів у повітрі робочої зони виробничих приміщень та особливості біологічної дії уроантисептиків на організм (огляд літератури)» автором подається аналітичний огляд вітчизняної та зарубіжної наукової літератури за темою дослідження, що висвітлюють методологічні підходи до гігієнічного регламентування ЛЗ у повітрі робочої зони виробничих приміщень, особливості біологічної дії уроантисептиків, у тому числі нітроксоліну. Проте відсутні публікації щодо комплексної токсиколого-гігієнічної оцінки нітроксоліну з урахуванням можливих специфічних імуносенсибілізуючих, дисбіотичних ефектів, що обумовлює необхідність розроблення профілактичних заходів з обґрунтуванням допустимого вмісту нітроксоліну у повітрі робочої зони. При тривалому промисловому випуску нітроксоліну вітчизняні наукові розробки щодо встановлення гігієнічного нормативу допустимого вмісту ЛЗ у повітрі робочої зони до цього часу не проводилися, що обґрунтовує актуальність обраного автором напрямку дослідження.

У другому розділі «Матеріали та методи досліджень» здобувачем наведено основні етапи, матеріали та методи використані при виконанні дисертаційної роботи. Другий розділ роботи складається з 4 підрозділів, де автором детально, за конкретними науковими напрямками подано методологію проведення досліджень, зокрема: токсиколого-гігієнічні дослідження, імунологічні дослідження, мікробіологічні дослідження, математичні методи.

Токсиколого-гігієнічні дослідження з встановлення параметрів токсичності й характеру біологічної дії нітроксоліну проведені дисертантом на моделі експериментальних тварин: нелінійних щурах, мишах, мурчаках, кролях, відповідно до чинних нормативних документів.

Слід відзначити, що автор методично правильно вибрав сучасні, інформативні методи досліджень: токсикологічні, біохімічні, імунологічні, мікробіологічні. Обсяг експериментального матеріалу та застосовані методи дослідження є достатніми для вирішення поставленої мети та завдань.

Для обробки результатів дослідження дисертантом застосовані стандартні статистичні методи, що обґрунтовують необхідний для експериментальних досліджень рівень достовірних відмінностей між показниками у різних групах лабораторних тварин.

Усі експериментальні дослідження проведені відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах».

Третій розділ дисертаційної роботи «Оцінка токсичності і характеру біологічної дії нітроксоліну в гострих та підгострих дослідах» складається з двох підрозділів: «Встановлення параметрів токсичності і характеру біологічної дії нітроксоліну на організм лабораторних тварин в умовах гострих дослідів» та «Оцінка кумулятивних властивостей і характеру біологічної дії нітроксоліну в умовах підгострого дослідів. Дослідження місцево-подразнювальної дії на шкіру та слизові оболонки», у яких автором висвітлено результати токсикологічних досліджень з встановленням параметрів токсичності й характеру біологічної дії нітроксоліну при пероральному, інгаляційному та перкутанному шляхах надходження в організм тварин в умовах гострого та підгострого дослідів, вивчення кумулятивної активності ЛЗ, обґрунтовано його орієнтовно безпечний рівень впливу (ОБРВ).

Дисертант визначив, що за показниками гострої пероральної токсичності нітроксолін належить до помірно небезпечних речовин 3 класу небезпеки (ГОСТ 12.1.007-76). Значення DL_{50} для білих щурів і мишей становлять 835-980 мг/кг і 660 мг/кг, відповідно. Одноразове пероральне введення нітроксоліну щурам у дозах від 600,0 мг/кг до 1200,0 мг/кг, мишам – від 300 мг/кг до 600 мг/кг викликає розвиток гострого отруєння з симптоми ураження центральної нервової системи. Середньоефективний час загибелі тварин (ET_{50}) - 28 годин. Поріг гострої інгаляційної дії Lim_{ac} за показником тіопенталового сну та сумарно порогового показника - 706,8 мг/м³. Сполука проявляє помірну кумулятивну активність (коефіцієнт кумуляції - 5,0) та слабку подразнювальну дію на слизові оболонки. ОБРВ нітроксоліну у повітрі робочої зони (затверджений Постановою санітарно-епідеміологічної служби України від 21.01.2014р.) 5,0 мг/м³ з позначкою «а».

Результати досліджень розділу 3 висвітлені в 5 публікаціях та оприлюднені на 2 наукових форумах.

Четвертий розділ «Дослідження імуносенсибілізуючої дії нітроксоліну» складається з двох підрозділів «Дослідження впливу нітроксоліну на лейкоцитарний спектр та інтегральні лейкоцитарні показники крові у мурчаків» та «Дослідження впливу нітроксоліну на показники клітинного та гуморального імунітету у експериментальних тварин», де представлені результати вивчення імуносенсибілізуючої дії нітроксоліну з участю клітинних реакцій неспецифічного та системного імунітету.

Автор показав, що внутрішньошкірна сенсибілізація мурчаків нітроксоліном викликає локальну шкірну реакцію, ініціює патофізіологічні процеси алергійного спрямування, пов'язані з перерозподілом пулів лейкоцитарних клітин у бік зростання у 2 рази еозинофільних ($p < 0,05$) гранулоцитів, зменшення популяції лімфоцитів ($p < 0,05$) та порушення стану динамічної рівноваги між ними: зниження в середньому у 2 рази індексу співвідношення нейтрофілів до еозинофілів (ІСНЕ, $p < 0,05$), лімфоцитів до еозинофілів (ІСЛЕ, $p < 0,05$).

У структурі системного імунітету нітроксолін викликає появу тенденції до зростання загальної популяції Т-лімфоцитів CD3+ внаслідок збільшення пулу супресорно/цитотоксичних Т-лімфоцитів CD8+ ($p < 0,05$). Тенденцію до зниження, відносно фонових величин, показника імунорегуляторного індексу CD4+/CD8+, що свідчить про перевагу супресивних механізмів імунної відповіді, очевидно адаптивного характеру, спрямований на гальмування алергійних реакцій.

Дисертантом констатовано, що зростання в крові сенсибілізованих тварин пулу CD8+ ($p < 0,05$), НК- клітин CD16+ та ЦІК ($p < 0,01$) свідчить про присутність в організмі нітроксолінозв'язаних хімічнозмінених біомолекулярних структур, які мають властивості повноцінного алергену.

Результати досліджень розділу 4 викладені у 2 статтях та апробовані на 2 науково-практичних конференціях.

П'ятий розділ «Дослідження дії нітроксоліну на розвиток дисбіотичних порушень мікробіоценозу урогенітального тракту в експериментальних тварин» присвячений вивченню дисбіотичних ефектів нітроксоліну при інгаляційному шляху надходження на мікробіоту урогенітального тракту щурів в умовах субхронічної дії. Розділ об'єднує два підрозділи, у яких автором наведені результати досліджень субхронічної інгаляційної дії нітроксоліну на структуру мікроценозу, видового та кількісного складу урогенітальної мікрофлори, цитологічної картини мазка піхви самиць щурів.

Дисертантом показано, що субхронічний інгаляційний вплив ЛЗ у діапазоні концентрацій 5 - 45 мг/м³, починаючи з 15 дня експерименту, викликає зміни мікроценозу урогенітального тракту у щурів: знижує в 1,7 - 8,0 ($p < 0,01$) разів, відносно фонових значень, частоту виявлення у конгломераті молочнокислих бактерій біфідобактерій. Обумовлює зміни морфологічних особливостей популяції *Lactobacillus* spp. - зростання в 1,5 - 2,2 ($p < 0,05$) рази у спільноті лактобактерій кокобацил з аналогічним зменшенням паличковидних

форм; зростання колонізаційної активності коків – в 1,6 - 2,9 ($p < 0,02$) разів, відповідно; витіснення з екотопу піхви грам від'ємних паличок. Препарат у діапазоні концентрацій $15 \text{ мг/м}^3 - 45 \text{ мг/м}^3$, проявляє виражену дисбіотичну дію - зменшення індексу домінування молочнокислих бактерій в 1,13 і 1,14 раза ($p < 0,02-0,001$), зростання колонізаційної активності умовно-патогенних видів: гемолітичних коків у 5,5 та 7,0 разів ($p < 0,02$), грибів роду кандіда - в 1,3 та 1,2 рази ($p < 0,05$), плісневих грибів - у 3,6 та 7,2 рази ($p < 0,01-0,001$), відповідно.

Показовим та інформативним моментом досліджень субхронічного інгаляційного впливу ЛЗ є дослідження цитологічної структури урогенітальних мазків у самок щурів, де яскраво візуалізується наростаючий характер змін, пропорційних тривалості дії нітроксоліну.

Результати досліджень розділу 5 викладені в 1 публікації та апробовані на 1 науково-практичній конференції.

Шостий розділ «Дослідження дисбіотичної дії нітроксоліну на мікробіотоп товстого кишківника в експериментальних тварин» поділений на два підрозділи, у яких дисертантом оприлюднено результати вивчення субхронічної інгаляційної дії нітроксоліну на структуру, видовий та кількісний склад фекальної мікрофлори товстого кишківника у щурів.

Здобувачем доведено, що нітроксолін у діапазоні концентрацій $15 \text{ мг/м}^3 - 45 \text{ мг/м}^3$ при інгаляційному шляху надходження, після двох тижнів експонування, викликає у тварин дисбіотичні порушення структури та популяційного рівня фекального біотопу прямого відділу товстого кишківника. Порушення є максимальними у місячний термін експерименту й характеризуються зниженням чисельності молочно-кислих бактерій на 10,4 % ($p > 0,05$) і 24,6 % ($p < 0,001$), непатогенної *E. coli* на 13,0 % ($p < 0,02$) і 27,0 % ($p < 0,001$), ентерококів на 3,9 % ($p > 0,05$) і 11,0 % ($p < 0,05$), спільноти коків з негемолітичними властивостями на 39,4 % ($p < 0,01$) та 58,0 % ($p < 0,001$), відповідно та достовірним зростанням популяції умовно-патогенних мікроорганізмів: гемолітичних ешерихій, стафілококів, протею, грибів роду кандіда, плісневих грибів.

На основі оцінки дисбіотичної дії нітроксоліну на мікроценози урогенітального тракту та товстого кишківника при субхронічному інгаляційному шляху надходження дисертантом встановлено поріг специфічної дії сполуки ($\text{Lim}_{\text{ch am}}$) – 5 мг/м^3 , що нижче розрахункового (45 мг/м^3) та експериментально отриманого порогу хронічної дії за загальнотоксичним ефектом – 15 мг/м^3 .

Сьомий розділ «Узагальнення результатів дослідження і обґрунтування гігієнічних нормативів нітроксоліну у повітрі робочої зони» логічно завершує дисертаційну роботу. У ньому підсумовано й виокремлено основні моменти та найбільш суттєві результати, що відображають отримані автором дані. Дисертант всебічно підійшов до обговорення отриманих результатів з використанням відомих з літератури фактів, узагальнив результати проведених досліджень з гігієнічного нормування нітроксоліну у повітрі робочої зони, та звів параметри токсичності уросептика нітроксоліну у єдину форму. Експериментальні дослідження та узагальнення даних, які характеризують

потенційну небезпеку впливу нітроксоліну в умовах виробництва дозволили аргументувати автору дисертаційної роботи комплекс профілактичних заходів для працівників, задіяних у виробництві нітроксоліну.

Висновки дисертаційної роботи відповідають поставленим завданням роботи, впливають із її матеріалів і результатів, чітко сформульовані та містять нові важливі науково-практичні положення.

Повнота викладу матеріалів дисертації в опублікованих працях і в авторефераті

Основні положення дисертації опубліковані в 14 наукових роботах, серед яких 5 статей у наукових фахових виданнях, що входять до переліку, затвердженого МОН України, 1 – у журналі, що індексується в наукометричних базах, 2 – в іноземних періодичних наукових виданнях, 6 тез доповідей у матеріалах науково-практичних конференцій. Друковані праці повністю відображають результати досліджень і висновки дисертаційної роботи.

Автореферат оформлений відповідно до існуючих вимог, містить усі основні положення дисертаційної роботи, що підтверджує повноту викладення в ньому матеріалів дослідження. Автореферат повністю відповідає змісту дисертації.

Зауваження.

Принципових зауважень щодо рецензованої дисертаційної роботи та автореферату Яськів Г. І немає.

При загальній позитивній оцінці проведеної автором роботи, залишаються деякі дискусійні запитання, що потребують додаткового пояснення та коментарів у ході офіційного захисту.

1. Виходячи з того, що відповідно до обґрунтованого гігієнічного нормативу нітроксолін належить до першого класу небезпеки, які профілактичні заходи (технологічні, технічні, гігієнічні) щодо дотримання належних умов праці робітників на виробництві мають бути забезпечені?
2. До якого типу алергійних реакцій можна віднести реакцію на нітроксолін?
3. Чи спостерігалися явища резистентності до дії нітроксоліну у популяції мікроорганізмів уrogenітального тракту та товстого кишківника?

Поставлені запитання та зроблені до дисертаційної роботи зауваження не мають принципового характеру і не знижують загального значення одержаних дисертантом результатів.

ЗАГАЛЬНИЙ ВИСНОВОК

Дисертаційна робота Яськів Ганни Ігорівни «Оцінка дисбіотичної та імуносенсibiliзуючої дії лікарських засобів групи хінолонів при їх гігієнічній регламентації у повітрі робочої зони на прикладі нітроксоліну» є завершеною комплексною, самостійно виконаною науковою працею, в якій отримано нові

науково-обґрунтовані результати, що в сукупності вирішують конкретну наукову задачу - обґрунтування гігієнічного регламенту допустимого вмісту нітроксоліну у повітрі робочої зони з урахуванням можливих специфічних ефектів (імуносенсибілізуючого, дисбіотичного) на організм в умовах експерименту.

За актуальністю, науковою новизною та практичним значенням отриманих результатів дисертаційна робота відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук зі спеціальності 14.02.01 – «Гігієна та професійна патологія»

Офіційний опонент,
директор навчально-наукового інституту
якості освіти, професор кафедри гігієни та екології № 2
Харківського національного
медичного університету МОЗ України,
доктор медичних наук, професор

І. В. Завгородній

« _____ » _____ 2019 р.



*Відкрити оригінального
автора кандидатів
до спеціалізованої
вченої ради 06.06.2019 р.*

Вн. секретар