

Голові спеціалізованої вченої ради
Д 64.600.06 при Харківському
національному медичному
університеті,
д. мед. н., професору Огнєву В.А.

ВІДГУК

**офіційного опонента на дисертаційну роботу
Лалименко Ольги Сергіївни за темою: «Наукове обґрунтування критеріїв
біологічного моніторингу антидіабетичного засобу – похідного янтарної
кислоти (експериментальне дослідження)», яка представлена у
спеціалізовану вчену раду Д 64.600.06 Харківського національного
медичного університету МОЗ України на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук за спеціальністю 14.02.01 - гігієна та
професійна патологія, 22 – охорона здоров'я**

Актуальність обраної теми дисертації. В рамках реалізації Угоди про асоціацію Україна-ЄС одним із першочергових завдань нашої держави є гармонізація вітчизняного законодавства в галузі безпеки та гігієни праці з європейськими вимогами. Один із шляхів – це практичне застосування міжнародних стандартів.

Фармацевтична промисловість України на даний момент є одним із лідерів за темпами приросту обсягів виробництва та кількістю робочих місць. Серед шкідливих факторів фармацевтичного виробництва особливої уваги заслуговує вплив на робітників хімічних речовин, а саме активних фармацевтичних інгредієнтів лікарських засобів, допоміжних речовин, побічних продуктів синтезу тощо. Оцінити ризик дії небезпечних хімічних факторів на здоров'я працюючих, значно знизити прояви несприятливих ефектів впливу в результаті застосування відповідних запобіжних заходів, можливо за допомогою біологічного моніторингу, який набув широкого розвитку у країнах Європейського союзу та США, але відсутній і не впроваджений в Україні.

Зв'язок теми дисертації з державними та галузевими програмами

Дисертаційна робота є фрагментом НДР: «Визначити адекватні біохімічні критерії дії деяких антидіабетичних засобів для гігієнічного регламентування при їх виробництві» (державний реєстраційний номер 0104U002204), «Визначити біологічну активність та безпечність продуктів біотрансформації антидіабетичного засобу Фенсукциналу» (державний реєстраційний номер 0111U000176) виконаних відповідно до плану науково-дослідних робіт ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» (м. Харків).

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих в дисертаційній роботі

Належна оцінка вірогідності наукових результатів дослідження підтверджується використанням комплексного підходу до вирішення поставлених завдань, репрезентативністю і статистичною вірогідністю отриманих результатів, використанням сучасних методів дослідження.

Метою дисертаційного дослідження автором обрано встановлення тестів експозиції та біомаркерів ефекту як критеріїв біологічного моніторингу нового антидіабетичного засобу β -фенілетиламіду 2-оксисукцинанілової кислоти – похідного янтарної кислоти.

Для досягнення мети було визначено та вирішено низку завдань, які включали аналіз наукових джерел за тематикою дослідження; вивчення особливостей токсикокінетики та токсикодинаміки антидіабетичного засобу при різних шляхах (внутрішньошлунковий, інгаляційний) та тривалості (гостре, субхронічне) надходження до організму; виявлення значущих кореляційних зв'язків між рівнем екзогенного впливу та вмістом антидіабетичного засобу/його метаболітів в плазмі крові та ступенем відхилення функціонально-метаболических показників; визначення тестів експозиції та біомаркерів ефекту антидіабетичного засобу на підставі оцінювання критеріально значущих причинно-наслідкових зв'язків зі застосуванням методів математичного моделювання; обґрунтування біологічного

безпечного рівня впливу антидіабетичного засобу з урахуванням визначених критеріїв біомоніторингу; розроблення біоаналітичної методики кількісного визначення антидіабетичного засобу та його метаболітів у плазмі крові щурів зі застосуванням методів високоефективної рідинної хроматографії.

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій є достатнім. Основні наукові положення і висновки дисертаційної роботи забезпечено адекватним методологічним підходом до вирішення поставлених завдань, підтверджено репрезентативною кількістю вимірів та доліджень та сучасними статистичними методами обробки.

Новизна основних положень та висновків дисертації, її наукове та практичне значення.

Наукова новизна дисертаційної роботи полягає в тому, що вперше в Україні: за результатами комплексних експериментальних токсиколого-гігієнічних досліджень одержані нові дані щодо особливостей токсикокінетики оригінального антидіабетичного засобу при внутрішньошлунковому та інгаляційному введенні за умов одноразового та субхронічного надходження до організму.

Доведено, що тестами експозиції антидіабетичного засобу – похідного янтарної кислоти є концентрація сполуки та її метаболітів у плазмі крові, а біомаркерами ефекту – є зміни рівнів гідроперекисів ліпідів, нітрит-аніонів, активності каталази, глутатіонпероксидази, сумарної синтази оксиду азоту.

Вперше встановлено наявність причинно-наслідкових взаємозв'язків між рівнем екзогенної дози антидіабетичного засобу, тестами експозиції досліджуваної сполуки, її метаболітів в плазмі крові та змінами деяких біохімічних показників, які є патогномонічними критеріями несприятливого впливу антидіабетичного засобу.

Обґрунтовано величину біологічного безпечного рівня впливу антидіабетичного засобу в плазмі крові для проведення моніторингу за впливом даного лікарського засобу в умовах його промислового виробництва.

Розроблено та апробовано біоаналітичну методику кількісного визначення антидіабетичного засобу та його метаболітів в плазмі крові методом високоефективної рідинної хроматографії з урахуванням їх одночасної присутності в біологічному субстраті.

За результатами дисертаційного дослідження підготовлено та видано інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я «Спосіб встановлення біологічної гранично допустимої концентрації сукцинатвмісного антидіабетичного засобу», одержано патенти на корисну модель «Спосіб кількісного визначення вмісту антидіабетичного засобу фенсукцинала та його метаболітів в плазмі крові» та «Спосіб оцінки біологічної активності метаболітів антидіабетичного засобу фенсукцинала».

Результати роботи впроваджено в практику системи охорони здоров'я на ПАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод», в науково-педагогічний процес кафедри гігієни та екології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, а також в практичну діяльність відділів ДУ «Харківського обласного лабораторного центру МОЗ України».

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях.

Основні положення дисертаційної роботи Лалименко О.С. у повній мірі відображені у 20 публікаціях з них 7 статей у наукових фахових виданнях, що входять до переліку затвердженого ДАК України, 6 з них індексуються у наукометричних базах: 1 – Web of science, 2 – Index Copernicus, 1 – Cite Factor, 2 – Google scholar, 1 стаття одноосібна, 10 тезів в матеріалах вітчизняних конгресів, форумів та конференціях, отримано 2 деклараційних патенти України на корисну модель, 1 інформаційний лист про нововведення у сфері охорони здоров'я.

Загальна характеристика роботи.

Дисертаційна робота Лалименко О. С. «Наукове обґрунтування критеріїв біологічного моніторингу антидіабетичного засобу – похідного янтарної кислоти (експериментальне дослідження)» побудована за традиційною схемою

і складається зі вступу, розділу аналітичного огляду літератури, розділу щодо програми, матеріалів та методів досліджень, 4 розділів власних досліджень, результатів та їх обговорення, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел (містить 276 посилань, з них 136 – іноземних) і чотирьох додатків. Обсяг роботи становить 197 сторінок тексту комп'ютерного набору. Ілюстрації представлені 25 рисунками, 19 таблицями.

У вступі автор наводить наукове обґрунтування актуальності дослідження, зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, визначає його мету та завдання, дає характеристику об'єкту дослідження, предмета дослідження, методам дослідження; наводить узагальнену інформацію щодо наукової новизни, практичного значення отриманих результатів, рівнях впровадження результатів наукових досліджень, дає оцінку особистому внеску здобувача, висвітлює результати апробації та оприлюднення результатів у наукових фахових виданнях.

У першому розділі «Сучасні аспекти біологічного контролю впливу хімічних факторів виробничого середовища на здоров'я працюючого контингенту (аналітичний огляд наукової літератури)» проаналізовано дані наукової літератури щодо проблеми промислового впливу ксенобіотиків на здоров'я працюючих та їх гігієнічного регламентування у різних середовищах, зокрема, методології біологічного моніторингу, як складової в системі оцінки ризику впливу чинників на організм працюючого контингенту. Розглянуто особливості біологічної дії лікарських засобів групи похідних янтарної кислоти. Представлено сучасні дані щодо стану професійної захворюваності працівників вітчизняних підприємств, зокрема персоналу хіміко-фармацевтичної галузі.

Автор звертає увагу на те, що висока технологічність виробництв, збільшення масштабів випуску і використання нових хімічних речовин, у тому числі лікарських засобів, сприяє зростанню ймовірності хімічного забруднення промислових об'єктів та довкілля, що в свою чергу підвищує ризик виникнення професійної патології персоналу підприємств і

захворюваності населення. Відзначено наявність високого відсотку виробничо зумовленої патології хімічної етіології серед інших захворювань, пов'язаних з працею та значної частки виникнення професійних інтоксикацій у робітників цієї галузі, які посідають четверте місце у переліку загальної та професійної захворюваності. При цьому обґрунтовано актуальність випереджаючого встановлення як безпечних рівнів впливу сполук на організм працюючих зі залученням методів їх біологічного контролю.

Автором проведено аналіз та узагальнення існуючої нормативно-правової бази щодо питань проведення біологічного моніторингу ксенобіотиків у різних країнах світу. Наводяться переконливі дані, щодо необхідності гармонізації вітчизняних санітарно-гігієнічних нормативів контролю якості виробничого середовища та довкілля з міжнародними стандартами Європейського союзу.

Автор підкреслює, що найважливішою умовою ефективності оцінювання ризиків впливу хімічних речовин, зокрема лікарських засобів при їх промисловому виробництві, є одночасне використання методів контролю якості повітря робочої зони, тобто проведення хімічного моніторингу та біологічного моніторингу у людини як інструментів доказової медицини професійних інтоксикацій для підвищення надійності захисту здоров'я працюючих. В Україні лише третина від загальної кількості вітчизняних фармакологічних препаратів має обґрунтований гігієнічний регламент, а відомостей щодо застосування методології біологічного моніторингу, тобто індивідуалізованого контролю промислового впливу ксенобіотиків на організм працюючих взагалі немає.

У другому розділі «Програма, матеріали та методи дослідження» представлено дані стосовно програми, обсягу та методів досліджень.

Для вирішення завдань автором було розроблено програму досліджень, якою передбачалося: експериментальне визначення особливостей токсикокінетики антидіабетичного засобу за умов гострого внутрішньошлункового та інгаляційного впливу сполуки, встановлення

тестів експозиції антидіабетичного засобу за умов субхронічного впливу на організм піддослідних тварин за різних шляхів (внутрішньошлунковий та інгаляційний) та рівнях доз впливу, визначення особливостей токсикодинаміки із встановленням біомаркерів ефекту досліджуваної сполуки.

Для визначення тестів експозиції та біомаркерів ефекту антидіабетичного засобу автором проведено хроматографічне визначення концентрацій антидіабетичного засобу та його метаболітів у плазмі крові (загалом 141 вимірювання) та дослідження стану пероксидного окиснення ліпідів, системи антиоксидантного захисту та метаболізму оксиду азоту у різних біологічних субстратах у різні терміни експерименту (загалом 1740 вимірювань).

Медико-статистичне опрацювання фактичного матеріалу здійснено методами варіаційної статистики. Обґрунтування тестів експозиції та біомаркерів ефекту проведено методами математичного моделювання залежностей «екзогенна доза антидіабетичного засобу – концентрація антидіабетичного засобу/метаболітів в плазмі крові» та залежності «ймовірності відхилення біохімічних показників у піддослідній групі тварин в порівнянні з контролем від концентрації антидіабетичного засобу/його метаболітів в плазмі крові». Параметри моделей було розраховано зі застосуванням процедури лінійного регресійного аналізу, адекватність моделей перевірено однофакторним дисперсійним аналізом з урахуванням критерію Фішера та визначенням 95 % -вих довірчих інтервалів.

Слід зазначити, що дисертантом використаний широкий арсенал сучасних методів досліджень (токсиколого-гігієнічних, хіміко-аналітичних, біохімічних, математичних, статистичних) адекватних як меті, так і сформульованим завданням дисертаційної роботи.

Результати власних досліджень представлені в розділах 3-6 дисертаційної роботи.

У третьому розділі «Визначення особливостей токсикокінетики антидіабетичного засобу» наведено дані щодо аналізу особливостей токсикокінетики антидіабетичного засобу за умов гострого експерименту при внутрішньошлунковому та інгаляційному надходженні сполуки до організму піддослідних щурів.

При проведенні відповідних досліджень автор переконливо довів, що при одноразовому впливі незалежно від шляхів надходження досліджуваної сполуки в організм піддослідних щурів антидіабетичний засіб та обидва його метаболіти ідентифікувались в плазмі крові вже через 30 хвилин. Аналіз основних токсикокінетичних параметрів показав, що середня максимальна концентрація антидіабетичного засобу в плазмі крові досягала пікового рівня через 2 години за обох шляхів введення досліджуваної сполуки. Автором встановлено, що у той самий час, максимальні концентрації метаболітів в плазмі крові реєстрували через 4 години після внутрішньошлункового введення та через 1 годину після інгаляційного впливу, а після цього концентрації досліджуваних сполук в плазмі крові поступово знижувалися і після 48 годин практично не визначалися у плазмі крові при внутрішньошлунковому впливі проте ще ідентифікувались при інгаляційному надходженні.

Автором визначено, що антидіабетичний засіб після одноразового введення має пролонгований час перебування у системному кровотоці, що підтверджувалось достатньо високим періодом напіввиведення сполуки $5,1 \pm 0,90$ год., найбільш вираженим при інгаляційній дії – $9,9 \pm 1,1$ год.

Експериментально встановлено, що кінетика розподілу досліджуваних сполук за умов субхронічного внутрішньошлункового впливу характеризувалася відносно високими концентраціями в плазмі крові антидіабетичного засобу та метаболіту β -фенілетилсунцинамиду (β -ФЕСА) на початку і наприкінці експерименту. Також визначено, що при субхронічному інгаляційному впливі антидіабетичного засобу на рівні Lim_{ch} концентрація вихідної сполуки в плазмі значно перевищувала концентрації метаболітів. В

той час при впливі на рівні Lim_{ac} в плазмі крові переважав вміст β -ФЕСА значення якого становило $41,6 \pm 2,1$ нг/мкл.

Узагальнюючи результати автором визначено, що за умов гострого експерименту провідну роль в елімінації антидіабетичного засобу при одноразових впливах відіграють процеси біотрансформації, які дещо переважають над екскрецією незміненої сполуки, на що вказує збільшення константи швидкості елімінації вихідної сполуки на тлі відносно низьких значень системного кліренсу та зміщення часу досягнення середніх максимальних концентрацій метаболітів відносно основної сполуки.

Результати досліджень, які наведені в розділі 3, висвітлені в 1 публікації.

У четвертому розділі «Визначення тестів експозиції та біомаркерів ефекту антидіабетичного засобу» наведені результати досліджень щодо визначення тестів експозиції та біомаркерів ефекту антидіабетичного засобу, яке здійснено в умовах субхронічного експерименту.

Автором представлено дані щодо особливостей токсикокінетики антидіабетичного засобу при субхронічному надходженні, а саме, після 5 днів внутрішньошлункового надходження середня концентрація метаболіту β -ФЕСА перевищувала вміст вихідної сполуки та метаболіту 2-гідроксифенілсукцинамиду (2-ГФСА). Проте, при подовженні терміну спостереження до 15 днів відбувалось зниження концентрацій досліджуваних сполук в плазмі крові. Поряд з цим середні значення тестів експозиції антидіабетичного засобу та його метаболіту β -ФЕСА після 5 та 30 днів знаходились практично на одному рівні. При інгаляційній дії субстанції на рівні Lim_{ch} визначено, що рівні вихідної сполуки у плазмі крові перевищували концентрації метаболіту 2-ГФСА на 80%, β -ФЕСА на 70%. На відміну від цього, при інгаляційній дії на рівні Lim_{ac} середня концентрація β -ФЕСА практично на 30% перевищувала вміст вихідної сполуки та на 80% рівень 2-ГФСА.

Таким чином, в умовах субхронічного внутрішньошлункового та інгаляційного надходження субстанції АДЗ-ПЯК досліджувані сполуки ідентифікувалися у плазмі крові щурів упродовж всього експерименту.

Для встановлення біомаркерів ефекту паралельно з визначенням тестів експозиції автором проведено дослідження особливостей токсикодинаміки антидіабетичного засобу за умов субхронічного експерименту. При аналізі даних встановлено, що після 5 днів субхронічного внутрішньошлункового введення зафіксовано підвищення рівня продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБКАС) крові на 25 % ($p < 0,05$) в порівнянні з контролем. Водночас після 15 та 30 днів внутрішньошлункової дії досліджуваної сполуки у піддослідній групі тварин, в порівнянні з контролем, спостерігали інтенсифікацію проміжних та кінцевих реакцій ПОЛ у вигляді підвищення рівнів гідроперекисів (ГПЛ) сироватки крові після 15 днів впливу та збільшення вмісту ТБКАС тканини печінки наприкінці експерименту. Автором визначено, що зареєстровані зміни спостерігали на тлі послаблення антиоксидантного захисту і, як наслідок, було виявлено прискорення окремих реакцій пероксидного окиснення ліпідів у сироватці крові та тканині печінки в середині та наприкінці періоду спостереження.

При проведенні дослідження автором встановлено, що за умов інгаляційного надходження на рівні Lim_{ac} статистично значуще прискорювались лише початкові етапи ПОЛ у вигляді підвищення рівня дієнових кон'югатів (ДК) сироватки крові. Водночас в гомогенаті печінки на рівні Lim_{ac} та Lim_{ch} зареєстровано прискорення швидкості накопичення вмісту ГПЛ на 47% та 25% відповідно ($p < 0,05$) порівняно з контролем на тлі падіння активності каталази в гомогенаті печінки в середньому на 20% та глутатіонпероксидази (ГП) на 50% ($p < 0,05$).

Таким чином, за умов інгаляційного введення досліджуваної сполуки в дозах на рівні Lim_{ac} та Lim_{ch} в тканині печінки прискорюються проміжні реакції каскадного процесу внаслідок пригнічення активності ензимів, що знешкоджують перекиси.

В той час з боку системи обміну оксиду азоту зареєстровано зниження активності сумарної с-NOS гомогенату печінки після 5-ти днів внутрішньошлункового надходження на 45% ($p < 0,05$), після 30 днів внутрішньошлункової та інгаляційної дії сполуки на рівні Lim_{ac} на 30% ($p < 0,05$). Проте при інгаляційній дії антидіабетичного засобу на рівні Lim_{ac} та Lim_{ch} у піддослідній групі тварин активність с-NOS гемолізату еритроцитів також була знижена на 58% та 37% відповідно ($p < 0,05$). Зазначені зміни активності синтази оксиду азоту значною мірою позначились на метаболізмі NO, віддзеркаленням чого було статистично значуще падіння продукції нітрит/нітрат аніонів у плазмі крові, сечі та гомогенаті печінки різного ступеню виразності, як за умов внутрішньошлункового так і інгаляційного введення.

Отже, субхронічне внутрішньошлункове введення субстанції антидіабетичного засобу на початкових етапах експерименту викликає різноспрямовані зсуви в системі ПОЛ та підвищення активності ферментів першої ланки системи антиоксидантного захисту (СОД гомогенату печінки та каталази сироватки крові), у середині та наприкінці строку спостереження відзначається прискорення окремих реакцій ліпопероксидації у сироватці крові та тканині печінки, а також зниження активності сNO-синтази та продукції стабільних кінцевих метаболітів NO в плазмі крові, сечі і тканині печінки.

Таким чином, за умов інгаляційного надходження сукцинамиду у системі крові відбувалася активація ензимів антиперекисного захисту, що сприяло блокуванню каскадних реакцій ПОЛ, про що свідчить відсутність змін рівня проміжних і кінцевих продуктів окисної деградації жирних кислот в крові. Разом з тим за умов інгаляційного надходження сполуки у тканині печінки тварин знижувався антиперекисний захист (падіння активностей каталази і ГП) та компенсаторно підвищувалась активність глутатіонтрансферази (ГТ), що, в свою чергу, призводило до уповільнення і стабілізації накопичення кінцевих продуктів ПОЛ.

Автором встановлені лімітуючі критерії внутрішньошлункового впливу антидіабетичного засобу якими є рівень ТБКАС крові, активність сумарної с-NOS гомогенату печінки, активність ГП гемолізату еритроцитів та концентрації нітритів/нітратів плазми крові. Критеріями інгаляційного впливу на рівні Lim_{ac} і Lim_{ch} – активність каталази сироватки крові, концентрація ТБКАС і ГПЛ гомогенату печінки, активність ГП, глутатіонредуктази гемолізату еритроцитів, ГТ гомогенату печінки, активність с-NOS гемолізату еритроцитів та концентрація NO_2^- в сечі.

Результати досліджень розділу 4 висвітлені у 13 публікаціях.

П'ятий розділ «Розробка методики кількісного визначення антидіабетичного засобу та його метаболітів в плазмі крові» присвячений розробці методики кількісного визначення антидіабетичного засобу та його метаболітів в плазмі крові методом вискоєфективної рідинної хроматографії, яка є селективною та забезпечує високий рівень повноти вилучення досліджуваних сполук з плазми крові. Автором встановлені основні етапи пробопідготовки (термоденатурація аліквот плазми крові, ферментативна декон'югація метаболітів антидіабетичного засобу, осадження протеїнів/ліпропротеїнів) та умови проведення хроматографічного аналізу.

Результати досліджень розділу 5 оприлюднені у 2 публікаціях.

У шостому розділі «Обґрунтування біологічного безпечного рівня впливу антидіабетичного засобу – похідного янтарної кислоти з урахуванням тестів експозиції та біомаркерів ефекту» наводяться результати щодо обґрунтування біологічного безпечного рівня впливу антидіабетичного засобу – похідного янтарної кислоти.

Автором досліджено причинно-наслідкові зв'язки між екзогенним рівнем впливу сполуки, концентраціями антидіабетичного засобу його метаболітів в плазмі крові та ступенем відхилень біохімічних показників.

На першому етапі проведено кількісну оцінку сили взаємозв'язків між рівнем внутрішньошлункового впливу досліджуваної сполуки та значеннями концентрацій АДЗ-ПЯК, 2-ГФСА та β -ФЕСА в плазмі крові з оцінюванням

параметрів математичної моделі. Доведено наявність високого ступеню кореляційних зв'язків між внутрішньошлунковою дозою антидіабетичного засобу та концентраціями АДЗ-ПЯК, метаболіту 2-ГФСА і β -ФЕСА в плазмі крові (коефіцієнти кореляції $r=0,81, 0,74$ та $0,85$ відповідно).

Автором виявлено статистично значущі прямі кореляційні зв'язки (коефіцієнти кореляції $r=0,89, 0,7$ та $0,80$) між рівнем інгаляційного впливу антидіабетичного засобу та концентраціями: АДЗ-ПЯК, 2-ГФСА та β -ФЕСА в плазмі крові.

Результати проведених досліджень дозволили автору обґрунтувати концентрації АДЗ-ПЯК та його метаболітів в плазмі крові в якості тестів експозиції внутрішньошлункової та інгаляційної дії сполуки.

Визначення біомаркерів ефекту автором проведено із встановленням причинно-наслідкових зв'язків та аналізу залежності ймовірності відхилень значень біохімічних показників у піддослідній групі тварин в порівнянні з контролем (лімітуючі критерії) від концентрації АДЗ-ПЯК/метаболітів у плазмі крові (тест експозиції – біомаркер ефекту) шляхом побудови логістичної регресійної моделі

Виявлено статистично значущий прямий кореляційний зв'язок між вмістом в плазмі крові АДЗ-ПЯК (тест експозиції) та підвищенням рівня ГПЛ сироватки крові, активності ГР гемолізату еритроцитів та зворотній кореляційний зв'язок із зниженням рівнів нітритів плазми крові, гомогенату печінки, активності ГП гемолізату еритроцитів та c-NOS гомогенату печінки. Доведено наявність статистично значущого зворотнього кореляційного зв'язку між вмістом 2-ГФСА в плазмі крові та зниженням активності СОД гомогенату печінки; вмісту β -ФЕСА з підвищенням рівня ГПЛ та активності каталази сироватки крові і зниженням рівня NO_3^- плазми крові.

За умов інгаляційного надходження визначено зворотній кореляційний зв'язок між концентрацією АДЗ-ПЯК в плазмі крові та зниженням рівнів NO_2^- сечі, NO_2^- плазми крові, активності каталази і ГП гомогенату печінки, активністю c-NOS і ГР гемолізату еритроцитів та прямий кореляційний

зв'язок з підвищенням рівня ГПЛ гомогенату печінки. Визначено наявність статистично значущого зворотнього кореляційного зв'язку асоціації концентрації 2-ГФСА в плазмі крові із зниженням активності ГП гомогенату печінки, концентрації β -ФЕСА в плазмі крові та зниженням рівня NO_2^- плазми крові, активністю с-NOS гемолізату еритроцитів, каталази, ГП гомогенату печінки.

На підставі вищезазначених фактів, враховуючи високий ступінь кореляційних зв'язків між екзогенною дозою сполуки, концентраціями в плазмі крові АДЗ-ПЯК, 2-ГФСА, β -ФЕСА та змінами біохімічних параметрів, автором переконливо доведено, що зазначені показники можна вважати біомаркерами ефекту внутрішньошлункового та інгаляційного впливу антидіабетичного засобу.

Важливим з гігієнічних позицій є обґрунтування біологічного безпечного рівня впливу антидіабетичного засобу в плазмі крові. Автором дотримуючись принципу «лімітуючого показника» з отриманого ряду значень концентрацій антидіабетичного засобу у плазмі крові за умов внутрішньошлункового введення для кожного біомаркеру ефекту визначено найменшу (по нижній 95%-вій довірчій межі) на рівні 14,9 нг/мкл, за умов інгаляційного надходження – 11,6 нг/мкл. Після відповідних розрахунків величину біологічного безпечного рівня впливу антидіабетичного засобу похідного янтарної кислоти в плазмі крові визначено на рівні 11 нг/мкл.

Результати досліджень розділу 6 оприлюднені у 3 публікаціях.

Наприкінці дисертаційної роботи автор узагальнює результати роботи та проводить їх наукове обговорення. Робота завершується висновками, які повністю відповідають результатам проведених досліджень.

Відповідність змісту автореферату основним положенням дисертації. Автореферат дисертаційного дослідження Лалименко О.С. повністю відображає зміст дисертації, відповідає головним її положенням, оформлений згідно з вимогами ДАК України. Зміст автореферату та основних положень дисертаційної роботи є ідентичними. Під час

ознайомлення з текстом дисертації плагіату не виявлено. Дисертаційна робота відповідає паспорту спеціальності 14.02.01- гігієна та професійна патологія

Зауваження та запитання щодо дисертації.

Зауваження:

1. Згідно інформації, яку наведено у розділі 1 для β -фенілетиламіду 2-оксисукцинанілової кислоти встановлено пороги гострої (Lim_{ac}) та хронічної (Lim_{ch}) інгаляційної дії відповідно на рівні $27,9 \pm 11,2$ мг/м³ та 2,63 мг/м³ за критеріями змін показників пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного гомеостазу. Доцільно було би у розділі .Аналіз та узагальнення результатів надати величини цих показників та провести порівняльну оцінку з отриманими даними, а не обмежуватися посиланнями на літературні джерела №200 та №201.

2. Доцільно було би в експерименті з моделювання інгаляційного шляху надходження сполуки використовувати не тільки рівні препарату, що відповідали порогу гострої (Lim_{ac}) та хронічної (Lim_{ch}) інгаляційної дії, а також рівень, який відповідав ГДК_{р,з} β -фенілетиламіду 2-оксисукцинанілової кислоти у повітрі робочої зони (0,2 мг/м³).

Запитання:

1. β -фенілетиламід 2-оксисукцинанілової кислоти за критерієм гострої токсичності відноситься до практично нетоксичних сполук, не кумулює, не чинить шкірно-резорбтивну, місцево-подразнюючу, сенсibiliзуючу, імунотоксичну, ембріотоксичну та тератогенну дії, не виявляє бластомогеної активності (с. 67 дисертації). В той же час при переході від порогу хронічної інгаляційної дії (Lim_{ch}) 2,63 мг/м³ к обґрунтуванню ГДК_{р,з} (0,2 мг/м³) був обраний коефіцієнт запасу 10. Чим на думку автора це обумовлено?

2. Чим обумовлений термін проведення субхронічного інгаляційного дослідження (20 днів), в той час як субхронічне внутрішньошлункове введення здійснювалось у 30-денному експерименті?

ЗАГАЛЬНИЙ ВИСНОВОК

Дисертаційна робота Лалименко О. С. «Наукове обґрунтування критеріїв біологічного моніторингу антидіабетичного засобу – похідного янтарної кислоти (експериментальне дослідження)» представлена на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.02.01 - гігієна та професійна патологія є завершеною самостійною науково-дослідною роботою у якій на основі узагальнення результатів проведених токсиколого-гігієнічних, хіміко-аналітичних і біохімічних досліджень розроблено та науково обґрунтовано критерії біологічного моніторингу – тести експозиції та біомаркери ефекту з наступним обґрунтуванням біологічного безпечного рівня впливу похідного янтарної кислоти з антидіабетичною активністю в плазмі крові.

Дисертація оформлена згідно вимог, затверджених Постановою Кабінету Міністрів України № 423 від 07.03.2007 р. Робота викладена державною мовою і включає основні розділи, передбачені вимогами МОН України. Наукові положення і висновки логічно пов'язані з наведеними експериментальними даними.

За своєю актуальністю, науковою новизною, практичним значенням робота відповідає вимогам пунктів 9, 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановами Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567 та від 19.08.2015 р. № 656, а її автор заслуговує присвоєння наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.02.01 – гігієна та професійна патологія.

Завідувач кафедри гігієни
та профілактичної токсикології
Львівського національного медичного
університету ім. Данила Галицького
МОЗ України
доктор медичних наук, професор

*Відгук оприлюднено в спеціалізованій
газеті до спеціалізованого
вченого журналу 15.11.2019р.*

