

## ВІДГУК

офіційного опонента

на дисертаційну роботу Полуденко Ганни Олексіївни

на тему «Клініко-фармакологічні особливості цитохрому-P4503A4 при

лікуванні хворих на вперше діагностований туберкульоз легень»

на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань

22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 – «Медицина»

### **Актуальність обраної теми.**

Незважаючи на постійну розробку нових і вдосконалення наявних лікарських засобів, ефективність медикаментозного лікування багатьох захворювань все ще далека від оптимальної. Серед причин недостатньої ефективності препаратів є виникнення побічних ефектів на тлі їх застосування, недостатнє розуміння значення генетичних особливостей пацієнта для ефективності лікування. Індивідуальні відмінності у швидкості метаболізму найбільш часто є причиною розбіжностей у тривалості дії лікарських препаратів. Очевидно, що адекватна оцінка генетичних особливостей пацієнта може привести до поліпшення відповіді на лікування, а також істотно знизити частоту розвитку побічних явищ, пов'язаних з прийомом препаратів. Також відомо про значні відмінності щодо розповсюдженості тих або інших генотипів цитохрому P-450 (CYP-450), що визначає розбіжності в активності одного і того ж препарату в різних країнах і серед різних етнічних груп. Водночас в Україні наявні лише поодинокі дослідження щодо поліморфізму генотипів CYP-450. Тому актуальним є розробка підходів, які б дали змогу підвищити якість та знизити собівартість лікування.

Серед інфекційних захворювань, що несуть загрозу сучасному людству, значне місце займає туберкульоз. На жаль, протягом 2020-2021 рр. в Україні спостерігалось зростання захворюваності на туберкульоз – з 41 випадків до 44 на 100 000 населення, при цьому не завжди вдається досягнути цільових показників успішності протитуберкульозної терапії. Недостатня ефективність

його лікування зумовлено низкою факторів, серед яких є генетичний поліморфізм ферментів процесів біотрансформації CYP-450, зокрема CYP3A4, який приймає участь в метаболізмі майже 40% ксенобіотиків в організмі людини.

В літературних джерелах є багато інформації щодо значення генотипу *N*-ацетилтрансферази 2, *Г*-глутатіон-*S*-трансферази, *CYP2E1* хворих на туберкульоз, що визначає варіативність концентрації і терапевтичного ефекту, ризик розвитку гепатотоксичності під час застосування стандартних доз протитуберкульозних препаратів. Усе викладене і визначає актуальність теми дисертаційної роботи Г.О. Полуденко, присвяченої виявленню впливу генетичних особливостей хворих, що пов'язані з біотрансформацією протитуберкульозних препаратів першого ряду, які можуть впливати на ефективність лікування і ризик ураження гепатобіліарної системи під час протитуберкульозної терапії.

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

Дисертаційна робота виконана у якості фрагменту науково-дослідної роботи МОЗ України «Персоніфікація лікування і розробка нових біологічно активних речовин у оптимізації фармакотерапії низки соціально значущих захворювань» кафедр фармакології та фармакогнозії і кафедри загальної фармації з курсом клінічної фармакології Одеського національного медичного університету, співвиконавцем яких була Г.О. Полуденко.

#### **Новизна дослідження отриманих результатів.**

Результатами комплексних досліджень автором зроблено суттєве доповнення про визначальну роль ферментних систем та особливо поліморфізму їх генів, зокрема *CYP3A4* в процесі метаболізму протитуберкульозних засобів, в перебігу протитуберкульозної терапії та виникнення небажаних ефектів протитуберкульозних препаратів.

Вперше за допомогою ПЛР і ендонуклеазного аналізу досліджено поліморфізм гену *CYP3A4* серед хворих на вперше діагностований туберкульоз легень і здорових осіб контрольної групи у Південному регіоні країни. Встановлено, що поліморфізм гена *CYP3A4* є важливим фактором, що впливає на рівень концентрації рифампіцину і ізоніазиду в крові хворих. Доведено, що відповідно до генотипу *CYP3A4\*1B* на момент завершенні інтенсивної фази лікування у носіїв генотипу *\*AG* частіше залишалось бактеріовиділення і обсіменіння легеневої тканини, ніж у хворих з генотипом *\*AA*. Вперше доведено, що згідно генотипу *CYP3A4\*1G* наявність мутантного алелю *\*1G* у хворих на туберкульоз під час інтенсивної фази протитуберкульозної терапії асоціювалась із більшою активністю ферментів АлТ і АсТ, а також рівня загального білірубіну в крові у порівнянні з носіями генотипу *\*1/\*1*.

#### **Теоретичне значення результатів дослідження.**

Проведення дисертаційного дослідження Полуденко Г.О. дозволило довести вплив поліморфізму локусів гену *CYP3A4* на вміст рифампіцину і ізоніазиду в крові хворих на туберкульоз легень, що в свою чергу обумовлює вплив на ефективність лікування і гепатотоксичність протитуберкульозної терапії під час інтенсивної фази лікування.

#### **Практичне значення результатів дослідження**

Робота Г.О.Полуденко носить виражену практичну спрямованість. По-перше, було проведено дослідження частоти поліморфізму *CYP3A4* мешканців Одеського регіону, що має істотне практичне значення. На підставі проведених досліджень, можливим стає розроблення індивідуальних лікувальних режимів комбінованої хіміотерапії туберкульозу легень залежно від генотипу *CYP3A4*. При розробці лікувальних режимів необхідно враховувати найбільш ефективні комбінації протитуберкульозних препаратів, добові дози, способи, час і кратність їх введення, тривалість етапів лікування та організаційні форми хіміотерапії.

Результати дисертаційної роботи впроваджені у науковий та навчальний процеси низки медичних університетів України, а також в лікувально-діагностичну роботу КНП «Одеський обласний центр соціально значущих хвороб ООР».

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

Ступінь надійності одержаного фактичного матеріалу, обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у роботі, є надійним. Складовими, що забезпечують високий ступінь обґрунтованості отриманих результатів є коректне використання дисертантом сучасних експериментальних методів (розділ 2), які відповідали меті та задачам дослідження. У методичному розділі також описані відповідні реактиви та умови реакцій, які були використані під час виконання дисертаційної роботи. Дослідження проведені із залученням понад 100 здорових осіб і 105 хворих на туберкульоз легень, що є достатнім для обґрунтування основних тверджень дисертаційної роботи.

Фактичний матеріал подано у суто експериментальній частині роботи (розділи 3-5) та узагальнені (розділ 6). Викладання власних експериментальних результатів дисертанта органічно пов'язано з метою та завданнями дисертації, а також із ґрунтовним аналізом літературних даних. Логічно випливають із змісту роботи викладені у дисертації висновки та узагальнення. Для аналізу отриманих експериментальних даних залучена адекватна статистична обробка числових даних, що підтверджує обґрунтованість висновків і методичних рекомендацій дисертації. Усі наукові положення і висновки є цілком обґрунтованими і повністю узгоджуються із результатами власних досліджень.

**Апробація результатів дисертаційної роботи, повнота викладу основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій.**

Матеріали дисертаційного дослідження представлено у 19 наукових роботах, серед яких 4 статті у фахових виданнях категорії «Б», 1 стаття у виданні наукометричної бази Scopus, 1 стаття в закордонному виданні і 13 тез доповідей на конференціях, симпозіумах та конгресах.

Результати дисертаційного дослідження пройшли апробацію на міжнародних наукових конференціях студентів та молодих вчених (Одеса, 2016; 2017; 2018); XXXIII Всеукраїнській науково-практичній конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 2016); V національному з'їзді фармакологів України (Запоріжжя, 2017); 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (Kyoto, Japan, 2018); I науково-практичній конференції «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 2018); V<sup>й</sup> науково-практичній конференції «Безпека та нормативно-правовий супровід лікарських засобів: від розробки до медичного застосування» (Київ, 2019); International scientific conference «Medicine under the modern conditions of integration development of European countries» (Lublin, Poland, 2019); IV міжнародній науково-практичній конференції «Ліки – людині» (Харків, 2020); міжнародній науково-практичній конференції «Modern approach of experimental and preclinical pharmacology» (Харків, 2021); 52nd World Conference on Lung Health of the International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (The Union) (virtual event, 2021).

високий рівень методичних підходів при виконанні дисертаційної роботи.

**Загальна характеристика змісту дисертації, її завершеності в цілому.**

Дисертаційна робота Полуденко Г.О. має загальноприйнятну структуру і складається зі змісту, переліку умовних позначень, вступу, аналітичного огляду літератури (глава 1), матеріали та методи дослідження (глава 2), три розділи результатів власних досліджень (глави 3-5), аналізу та узагальнення результатів (глава 6), висновків, практичних рекомендацій, списку 121

використаних джерел (42 – кирилицею). Її викладено українською мовою на 167 сторінках друкованого тексту. Дисертація ілюстрована 34 таблицями та 38 рисунками.

Вступ до роботи написано лаконічно із залученням основних посилань на узагальнюючі літературні джерела. Він є достатнім, як з позиції актуальності обраної теми, так і сформульованої мети та завдань досліджень. У вступі охарактеризовано наукову новизну дослідження та її науково-практичну цінність. Наведено дані щодо публікацій та апробації окремих результатів досліджень.

Перший розділ роботи – огляд літератури вміщує основні положення щодо фармакогенетичних досліджень та інших шляхів поліпшення лікування туберкульозу. Відповідно розглянуто такі важливі питання як сучасний стан туберкульозного процесу, а також фармакогенетичні особливості процесів біотрансформації ксенобіотиків у людини. Взагалі, огляд літератури всебічно обґрунтовує напрямок роботи дисертанта, основною метою якої є отримання нових знань про механізми дії протитуберкульозних препаратів, залежних від генетичних чинників організму людини та збудника хвороби, а також перспективи їх практичного застосування. Дисертант обґрунтовує доцільність скринінгу поширення поліморфізму генів біотрансформації ліків в Україні, а також впливу поліморфізму *CYP3A4* хворих на туберкульоз на перебіг протитуберкульозної терапії. Загалом розділ огляд літератури написано стисло, водночас інформативно з посиланням на важливі

Другий розділ «Матеріали та методи дослідження» в цілому характеризує високий рівень методичних підходів при виконанні дисертаційної роботи. Загалом дослідження виконано на достатній кількості пацієнтів і всі маніпуляції було проведено згідно з біоетичними положеннями.

Для досягнення поставленої мети і вирішення завдань дисертаційної роботи було використано низку молекулярно-біологічних (генетичних), біохімічних та аналітичних методів аналізу. Автор також наводить дані щодо використання в дослідженнях статистичних методів обробки отриманих

результатів. Слід зазначити, що в подальшому при обговоренні результатів, формулювання висновків дисертантка використовує тільки дані, що мають статистично достовірні відмінності у відповідних вибірках.

Викладення власних результатів зроблено згідно поставлених завдань та загальної мети дослідження. Так, в розділі 3 автор наводить результати визначення поширеності носіїв різних генотипів *CYP3A4* серед здорових людей і хворих на туберкульоз в Одеському регіоні. Доведено, що поширеність «дикого» алелю *\*A* локусу *CYP3A4\*1B* і «дикого» алелю *\*1* локусу *CYP3A4\*1G* на південному заході України становили 97,6% і 88,8% відповідно. Отримані результати засвідчили генетичну спорідненість дослідженого регіону України за поліморфізмом генів, що вивчались, з європейськими країнами. Згідно до поліморфізму локусу *CYP3A4\*1G* 91,4% хворих на туберкульоз мали генотип *\*1/\*1*, проти 81,6% серед здорових осіб, водночас згідно поліморфізму локусу *CYP3A4\*1B* серед хворих на туберкульоз легень дещо частіше спостерігались носії генотипу *\*AG*, ніж в контрольній групі.

На підставі отриманих даних дисертантом здійснена спроба оцінити клінічні наслідки генетичних відмінностей хворих на туберкульоз та надати рекомендації щодо лікування (розділи 4-6). При цьому було враховано клінічні наслідки наявних відмінностей у експозиції препарату в генетичних субпопуляціях, які залежать від таких факторів, як зв'язок між фармакокінетикою та фармакодинамікою хіміотерапевтичного засобу і між експозицією препарату та клінічною дією/побічними ефектами.

В наступному, четвертому розділі визначено залежність характеру змін лабораторних показників під час протитуберкульозної терапії в залежності від генетичного поліморфізму *CYP3A4*. Зокрема, показано, що наявність генотипів *\*AA* (локус *CYP3A4\*1B*) і *\*1G/1G* (локус *CYP3A4\*1G*) характеризувалась більш виразним збільшенням активності маркерів цитолізу і холестазу, ніж у носії генотипів *\*AG* і *\*1/\*1* відповідно.

В п'ятому розділі вивчено відмінності ефективності лікування хворих на туберкульоз легень під час інтенсивної фази лікування в залежності від

поліморфізму генів *CYP3A4*. Було доведено, що при завершенні інтенсивної фази лікування у носіїв генотипу \*AG (локус *CYP3A4\*1B*) процес туберкульозного обсіменіння легеневої тканини спостерігався в 3 рази частіше, ніж серед хворих з генотипом \*AA. При цьому хворі з генотипом \*AG в 2,1 рази частіше зберігали бактеріовиділення згідно даних культурального методу на момент завершення інтенсивної фази, серед носіїв генотипу \*AA.

Останній розділ, присвячений аналізу та узагальненню результатів, викладено у відповідності з послідовністю завдань роботи та окремих розділів дослідження. Ознайомлення з цим розділом підтверджує цілісність виконаної роботи та її високий науковий рівень. Дисертант демонструє глибокі знання відповідної сучасної наукової літератури, а також вміння до аналізу отриманих результатів. Висновки узагальнюють результати досліджень, є обґрунтованими та відображають основні напрями в цій галузі. Вони викладені лаконічно, що свідчить про відповідні досягнення при розв'язанні поставлених завдань та мети роботи. Практичні рекомендації викладені логічно і доступно, базуються на отриманих результатах дисертаційного дослідження.

Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації в практиці. Встановлення генотипу *CYP3A4* серед хворих на туберкульоз легень перед початком інтенсивної фази лікування пропонується дисертантом як предиктор розвитку гепатотоксичності, ризик якої можна зменшити шляхом своєчасної корекції фармакотерапії туберкульозу. Отримані результати дисертаційної роботи Г.О. Полуденко впроваджено в навчальний процес низки вищих медичних закладів освіти і Одеського обласного центру боротьби з соціально значущими інфекціями. Впровадження отриманих результатів дозволить підвищити ефективність і зменшити ризик токсичності протитуберкульозної терапії.

**Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, запитання до здобувача.**

Дисертаційна робота Полуденко Г.О. на тему «Клініко-фармакологічні особливості цитохрому-Р4503А4 при лікуванні хворих на вперше діагностований туберкульоз легень» виконана на високому рівні, із залученням



сучасних методів дослідження і адекватної статистичної обробки, що дозволило здобувачу сформулювати відповідні висновки і практичні рекомендації. Суттєвих недоліків у дисертаційній роботі не виявлено. Вона написана логічно з дотриманням існуючих вимог щодо структури, змісту і технічного оформлення, хоч і не позбавлена деяких недоліків неprincipового характеру. До таких зауважень слід віднести поодинокі технічні недоліки, а також відсутність в розділі «Огляд літератури» або власних дослідженнях даних щодо метаболізму (схеми) рифампіцину. Водночас вказані зауваження не мають принципового характеру і не зменшують загальну позитивну оцінку представленої дисертаційної роботи.

Разом з тим, до дисертанта є наступні дискусійні питання, відповідь на які варто отримати під час захисту роботи.

1. Що Вам відомо про шлях (шляхи) біотрансформації рифампіцину в організмі людини?

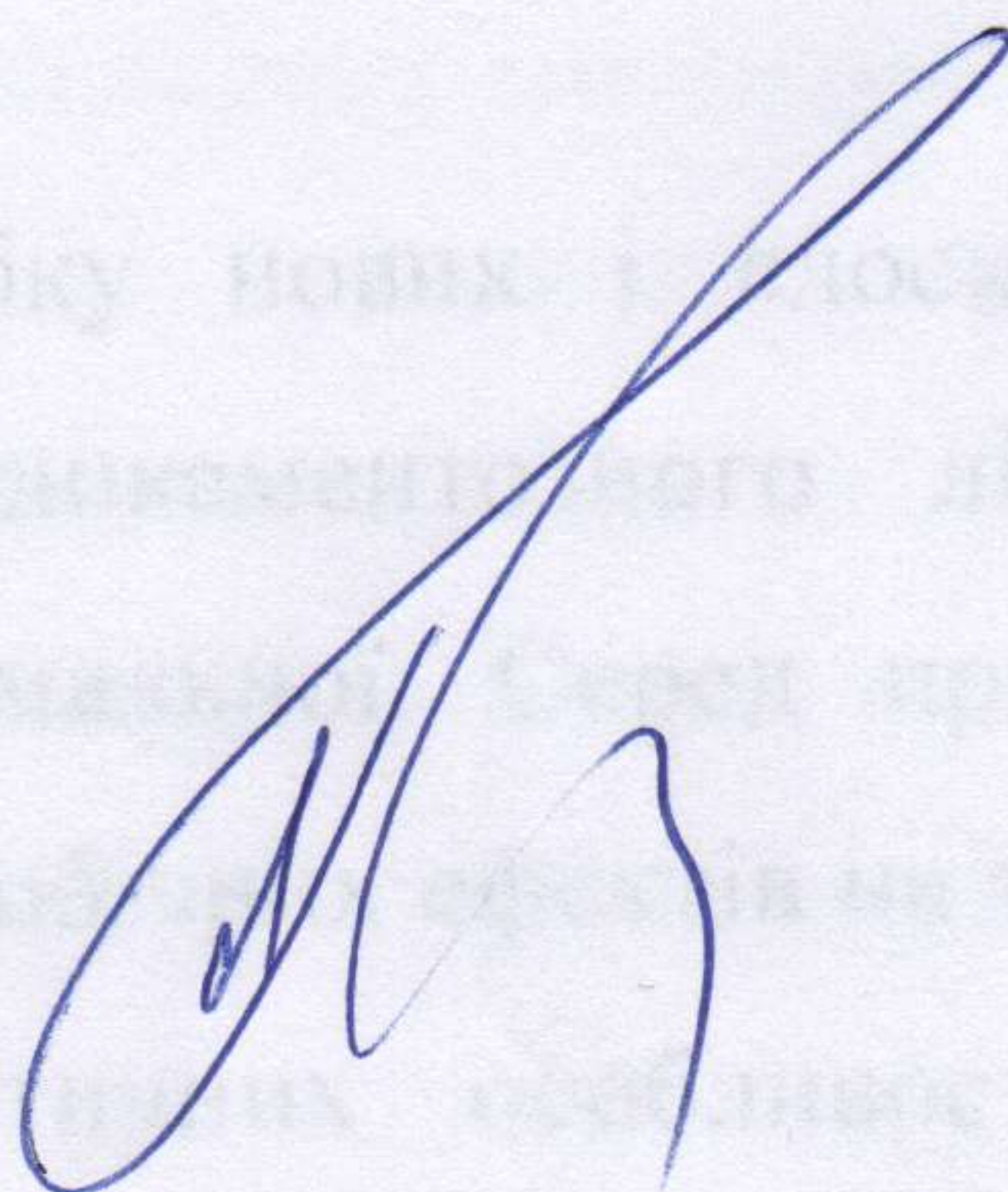
2. Чому в роботі для вивчення ймовірного зв'язку між генотипом, що визначає швидкість біотрансформації лікарських препаратів, і особливостями перебігу протитуберкульозної терапії обрано саме генотип *CYP3A4*?

#### **Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.**

Дисертаційна робота Полуденко Ганни Олексіївни «Клініко-фармакологічні особливості цитохрому-Р4503А4 при лікуванні хворих на вперше діагностований туберкульоз легень» є самостійною завершеною науковою роботою, що розв'язує важливу науково-практичну проблему підвищення ефективності і зменшення токсичності фармакотерапії хворих на туберкульоз легень шляхом дослідження клініко-фармакологічного значення цитохрому-Р4503А4 у хворих. Дисертаційна робота Полуденко Ганни Олексіївни за своєю актуальністю, обсягом дослідження, одержаними результатами, практичній значимості та новизні цілком відповідає вимогам щодо дисертаційних робіт згідно «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії»,

затвердженого Постановою КМУ №44 від 12.01.2022р. та наказу МОН України №40 від 12.08.2017р. «Про затвердження вимог до оформлення дисертацій», а її автор Полуденко Ганна Олексіївна заслуговує на присвоєння ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина».

Офіційний опонент,  
професор кафедри пропедевтики  
внутрішньої медицини та фтизіатрії  
Тернопільського національного  
медичного університету  
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України  
д.мед.н., професор



Леонід ГРИЩУК



підпис \_\_\_\_\_  
завіряю \_\_\_\_\_  
заступник ректора з кадрових питань  
Тернопільського національного  
медичного університету

