

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Полуденко Ганни Олексіївни на тему «Клініко-фармакологічні особливості цитохрому-Р4503А4 при лікуванні хворих на вперше діагностований туберкульоз легень», поданої до Разової спеціалізованої вченої ради при Одеському національному медичному університеті на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 – «Медицина»

Актуальність обраної теми дисертації

Проблема відмінностей щодо ефективності і побічних ефектів при призначенні тих самих препаратів різним особам є однією з найбільш складних проблем в сучасній фтизіатрії та клінічній фармакології. Генетичний фактор розглядається як фактор, що може пояснити цю варіативність, зокрема шляхом визначення швидкості процесів біотрансформації ліків. Генетичний поліморфізм впливає на активність низки цитохромів (СYP), зокрема СYP 2D6, 2C19, 2C9, які по різному можуть впливати на ефективність застосування багатьох препаратів (пароксетин, клопідогрель, варфарин, тощо). В науковій джерелах наводяться численні дані про значні міжетнічні відмінності щодо розповсюдженості тих або інших генотипів СYP, що визначає розбіжності в активності препарату в різних країнах і серед різних етнічних груп. Водночас в Україні наявні лише поодинокі дослідження щодо поліморфізму генотипів СYP. Вважається, що у майбутньому фармакогенетики зможуть допомогти на шляху персоналізації лікування, надаючи лікарю допомогу у виборі препарату, що є необхідним для певного пацієнта і має поліпшити ефективність і безпечність лікування багатьох захворювань, зокрема туберкульозу.

На жаль, туберкульоз залишається соціально значущим захворюванням в Україні. Згідно даних ВООЗ за 2021 р. Україна належить до країн зі значним поширенням мультирезистентних штамів *M.tuberculosis*. Так, згідно національних даних кількість уперше зареєстрованих захворювань на туберкульоз, включно з його рецидивами, в 2021 році становила в Україні 44,0 випадки на 100 тис. населення. Також незадовільним є рівень ефективності лікування хворих на ТБ, оскільки не в повному об'ємі досягається рівень одужання серед хворих на вперше діагностований туберкульоз легень та інші форми туберкульозу легень. Серед причин недостатньої ефективності лікування є високий рівень резистентності *M.tuberculosis* до протитуберкульозних препаратів; несвоєчасна діагностика

або/та лікування, що проводилось неадекватно до стандартних схем хіміотерапії; ігнорування індивідуальних особливостей хворих, що можуть впливати на концентрацію протитуберкульозних препаратів в крові під час лікування. Так, добре відомо, що генотип N-ацетилтрансферази 2 у хворих на туберкульоз обумовлює варіативність концентрації ізоніазиду в крові, що в свою чергу буде впливати на ефективність і токсичність протитуберкульозної терапії. Зокрема, наприкінці інтенсивної фази лікування у хворих з високою концентрацією ізоніазиду конверсія процесів туберкульозної деструкції і процеси розсмоктування спостерігається частіше, ніж у хворих з низькою концентрацією ізоніазиду. Наявність делеції функціональної зони поліморфної ділянки гена *GSTM1* збільшує ризик низької ефективності лікування хворих на туберкульоз легень та знижує шанси на розсмоктування вогнищево-інфільтративних змін в легенях чи загоєння порожнини розпаду після проведеної терапії. Отже, потрібні подальші дослідження для вивчення фармакогенетичних факторів людини, які можуть мати значення для перебігу протитуберкульозної терапії. Резюмуючи, впевнений, що дисертаційна робота Полуденко Г.О. є актуальною та важливою для фтизіатрії та клінічної фармакології, що дозволяє стверджувати про вірогідні перспективи клінічного впровадження окремих її результатів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану комплексної науково-дослідної роботи «Персоніфікація лікування і розробка нових біологічно активних речовин у оптимізації фармакотерапії низки соціально значущих захворювань» кафедри фармакології та фармакогнозії і кафедри загальної фармації з циклом клінічної фармакології ОНМедУ, затвердженої МОЗ України (№ держреєстрації 0121U107508), при виконанні якої дисертант був співвиконавцем.

Новизна дослідження одержаних результатів

Вперше за допомогою полімеразної ланцюгової реакції і ендонуклеазного аналізу встановлено поліморфізм локусів гену *CYP3A4* серед хворих на вперше діагностований туберкульоз легень і здорових осіб контрольної групи в Одеському регіоні. Встановлено, що хворі з генотипом *AG локусу *CYP3A4*1B* частіше мали субтерапевтичну концентрацію рифампіцину в крові, ніж носії генотипу *AA; відповідно при завершенні інтенсивної фази лікування у носіїв генотипу *AG частіше залишалось бактеріовиділення і обсіменіння легеневої тканини, ніж у хворих з генотипом *AA. Вперше показано, що наявність мутантного алелю *1G локусу *CYP3A4*1G* супроводжувалась значним зростанням активності маркерів

цитолізу АлТ і АсТ, а також вмісту білірубіну в крові у порівнянні з носіями генотипу *1/*1.

Теоретичне значення результатів дослідження

Проведення низки досліджень з використанням фармакогенетичних, молекулярно-біологічних, біохімічних, математичних та статистичних методів дослідження дозволило визначити фармакогенетичні фактори хворих, що впливають на ефективність і токсичність терапії туберкульозу.

З теоретичної точки зору важливим є доведеним вплив поліморфізму гену біотрансформації *CYP3A4* на рівень протитуберкульозного препарату в крові хворих на туберкульоз, а також на ефективність і токсичність протитуберкульозної терапії під час інтенсивної фази лікування.

Практичне значення результатів дослідження

Наведені дані щодо поліморфізму гену біотрансформації *CYP3A4* обґрунтовують доцільність дослідження генотипу *CYP3A4* у хворих на туберкульоз легень, як важливого прогностичного маркера ефективності лікування, а також ризику ураження гепатобіліарної системи. Це дозволить забезпечити індивідуальний підхід до хіміотерапії туберкульозу легень у кожного окремого хворого, що має поліпшити результати його лікування.

Результати роботи впроваджено в лікувально-діагностичну роботу КНП «Одеський обласний центр соціально значущих хвороб ООР», також в навчальний процес кафедри фармакології і кафедри клінічної фармації та клінічної фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, кафедри фармакології Дніпровського державного медичного університету.

Ступінь обґрунтованості і достовірності наукових положень, висновків і практичних рекомендацій, сформульованих в дисертації

Обсяг наукового матеріалу, комплекс використаних методів дослідження, оцінка отриманих результатів і характер їх тлумачень цілком достатні для обґрунтування наукових положень, сформульованих в дисертації. Представлені в дисертації положення ґрунтуються на зрозумілій і адекватній методології дослідження, достатньому клінічному матеріалі.

Наукові положення та висновки дисертаційної роботи Полуденко Г.О. базуються на тривалих комплексних дослідженнях, які проведені з використанням зразків крові, отриманих від 98 здорових осіб (*CYP3A4*1G*), 111 здорових осіб (*CYP2C19* і *CYP2C9*) і 127 здорових осіб (*CYP3A4*1B*). Також проведено

визначення генотипу *CYP2C19* і *CYP2C9* у 42 хворих на ТБ легень, а також генотипу *CYP3A4*1B* і *CYP3A4*1G* у 105 хворих на ТБ легень. Концентрація ізоніазиду і рифампіцину визначалась у 43 хворих на вперше діагностований туберкульоз легень. Загальне число досліджень, експериментальних груп та груп контролю є достатнім для обґрунтування основних положень та висновків дисертації.

Адекватна статистична обробка числових даних, яка включала оцінку вірогідності відмінностей середніх величин та їх математичної похибки, підтверджує обґрунтованість висновків дисертації. Все це унеможлиблює методологічні, технічні та системні помилки при виконанні цієї роботи та не викликає сумнівів в достовірності і вірогідності основних наукових положень, розробок і висновків, сформульованих в дисертації.

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

За темою дисертації оприлюднено 19 наукових робіт, з яких 5 статей у фахових виданнях, рекомендованих МОН України (в тому числі, 1 стаття у виданні наукометричної бази Scopus), 1 стаття в закордонному виданні, 13 тез доповідей на конференціях, з'їздах та конгресах.

Основні положення дисертації оприлюднено на XXXIII Всеукраїнській наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 2016); міжнар. наук. конф. студентів та молодих вчених (м. Одеса, 2016; 2017; 2018); V національний з'їзд фармакологів України «Фармакологія та раціональна фармакотерапія» (м. Запоріжжя, 2017); 18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology «Pharmacology for the future. Science, drug development and therapeutics» (Kyoto, Japan, 2018); I наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (м. Харків, 2018); International scientific conference «Medicine under the modern conditions of integration development of European countries» (Lublin, Poland, 2019); п'ятій наук.-практ. конф. з міжн. участю, присвячена пам'яті проф. Вікторова О.П. «Безпека та нормативно-правовий супровід лікарських засобів: від розробки до медичного застосування» (м. Київ, 2019); IV міжнародній наук.-практ. конф. «Ліки – людині» «Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 2020); міжнар. дистанційній наук.-практ. конф. «Modern approach of experimental and preclinical pharmacology» (м. Харків, 2021); 52nd World Conference on Lung Health of the

Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому

Дисертаційна робота Полуденко Г.О. оформлена відповідно до офіційних вимог МОН України. Її викладено на 167 сторінках комп'ютерного тексту. Дисертаційна робота складається із анотації, вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, розділу узагальнення отриманих результатів і висновків. Робота ілюстрована 34 таблицями і 38 рисунками. Список використаної літератури займає 16 сторінок, бібліографічний покажчик включає 121 джерел, з них 42 – кирилицею.

У «Вступі» дисертантом визначена загальнотеоретична важливість наукового дослідження фармакогенетичних факторів хворих, що впливають на ефективність і токсичність терапії туберкульозу. Автор об'єктивно висвітлює існуючі важливі питання у фтизіатрії і клінічній фармакології, особливо ті, які торкаються генетичних особливостей людини, що визначають відмінності у швидкості біотрансформації ліків. Дисертант логічно обґрунтовує ті позиції, які послужили поштовхом для проведення низки наукових досліджень, які становлять підґрунтя теперішньої дисертаційної роботи. Чітко сформульовано мету роботи, яка полягає у вивчення особливостей впливу варіативності гену *CYP3A4* людини на ефективність та безпечність протитуберкульозної терапії, вирішення яких забезпечить, на думку автора, досягнення цієї мети. Також охарактеризовані наукова новизна і практичне значення отриманих результатів та особистий внесок дисертанта у виконання та узагальнення результатів досліджень.

В першому розділі роботи – огляді літератури, який включає два підрозділи, – наведені дані численних наукових джерел стосовно поточних проблем лікування туберкульозу. Автор показує, що значна поширеність туберкульозу і недоліки існуючих схем лікування потребують подальших пошуків шляхів поліпшення лікування, включаючи і фармакогенетичні дослідження у хворих на туберкульоз, і аналіз фармакокінетичних показників протитуберкульозних препаратів у хворих під час хіміотерапії. Здобувач обґрунтовує необхідність національних скринінгових досліджень поліморфізму генів біотрансформації ліків. Наведено дані про застосування фармакогенетичних досліджень в практичній медицині на теперішній час. З урахуванням наведених фактів та критичного аналізу даних наукової

літератури, дисертант висловлює думку, що дослідження фармакогенетичних особливостей *CYP3A4* у хворих на ТБ буде сприяти поліпшенню ефективності лікування хворих на туберкульоз легень. У цілому, огляд свідчить про компетентність автора у розглянутих питаннях. Він написаний достатньо стисло, проте в той же час в ньому наведені численні дані різноманітних досліджень вітчизняних та закордонних авторів, які дисертант критично аналізує та висвітлює власне ставлення до проблеми, яка розглядається.

В *другому розділі* дисертаційної роботи "Матеріал і методи дослідження" наведені основні фармакогенетичні методики дослідження, особливості полімеразно ланцюгової реакції (ПЛР) з наведенням послідовностей праймерів, умов проведення реакцій і ендонуклеазного аналізу. Наведено умови визначення вмісту ізоніазиду і рифампіцину в крові хворих на туберкульоз легень. Прискіпливо описані особливості статистичного аналізу отриманих результатів.

Третій розділ дисертаційної роботи присвячений дослідженню поліморфізму гену біотрансформації – *CYP3A4*1B* і *CYP3A4*1G* серед здорових добровольців і хворих на туберкульоз легень. Встановлено, що відповідно до поліморфізму локусу *CYP3A4*1G* серед хворих на туберкульоз частіше зустрічались носії генотипу *1/*1, ніж серед здорових добровольців (91,4% проти 81,6%), водночас згідно поліморфізму локусу *CYP3A4*1B* серед хворих на туберкульоз легень дещо частіше спостерігались носії генотипу *AG, ніж в контрольній групі (8,6% проти 6,3%).

В *четвертому розділі* наведено дані відмінностей лабораторних показників, які виникають під час протитуберкульозної терапії, в залежності від генетичного поліморфізму *CYP3A4*. Показано, що після проведення інтенсивної фази лікування згідно поліморфізму локусу *CYP3A4*1B* активність маркерів цитолізу і холестазу у хворих на туберкульоз з генотипом *AA мала тенденцію до зростання, водночас у хворих з генотипом *AG спостерігалась протилежно спрямована тенденція. Під час закінчення інтенсивної фази лікування у хворих згідно з генотипом *CYP3A4*1G* лікування активність маркерів цитолізу у хворих на туберкульоз з генотипом *1/*1 недостовірно зросла, водночас у носіїв генотипу *1G/1G активність АлТ і АсТ вірогідно зросла на 72,7% і на 115,8% відповідно.

В наступному *п'ятому розділі* проаналізовано ефективність стаціонарного лікування у хворих на туберкульоз легень з урахуванням поліморфізму генів *CYP3A4*. Встановлено, при завершенні інтенсивної фази лікування процес туберкульозного обсіменіння легеневої тканини спостерігався майже втричі

частіше у носіїв генотипу *AG локусу CYP3A4*1B, ніж при генотипі *AA; згідно даних культурального методу наприкінці інтенсивної фази лікування хворі з генотипом *AG в 2,1 рази частіше були бактеріовиділювачами на момент завершення інтенсивної фази лікування, ніж носії генотипу *AA.

Наступний, *шостий розділ* містить аналіз та узагальнення отриманих у дисертації даних. У цьому розділі автор зі знанням предмету аналізує результати дослідження фармакогенетичних особливостей хворих на ТБ і фармакокінетичних показників ізоніазиду і рифампіцину для перебігу стаціонарної фази лікування і ризику розвитку гепатотоксичності. *Висновки* дисертації чітко сформульовані. Їх зміст повністю підтверджується фактичним матеріалом, одержаним автором. Висновки повною мірою відображають результати проведених досліджень, розкривають мету дисертаційної роботи та відповідають поставленим завданням наукового дослідження.

Практичні рекомендації ґрунтуються на матеріалах дисертаційної роботи та встановлених автором фактах, викладені доступно для використання в практичній діяльності.

Рекомендації щодо подальшого використання результатів дисертації в практиці. Визначення генотипу CYP3A4 у хворих на туберкульоз на початку інтенсивної фази лікування можуть виступати основою для можливої корекції фармакотерапії з метою зменшення ураження гепатобіліарної системи у хворих на туберкульоз. Матеріали дисертаційної роботи Полуденко Г.О. можуть бути рекомендовані для подальшого поглибленого вивчення у навчальній діяльності вищих медичних закладів при викладенні певних розділів фармакології і клінічної фармакології («Загальна фармакологія», «Протитуберкульозні засоби»), фтизіатрії («Загальні принципи і методи лікування хворих на туберкульоз», «Епідеміологія туберкульозу. Етіологія, патогенез туберкульозу»). Отримані результати мають перспективу клінічного впровадження, оскільки дозволять підвищити ефективність і зменшити ризик гепатотоксичності лікування у хворих на туберкульоз.

Зауваження щодо оформлення та змісту дисертації, запитання до здобувача

Дисертаційна робота Полуденко Ганни Олексіївни «Клініко-фармакологічні особливості цитохрому-P4503A4 при лікуванні хворих на вперше діагностований туберкульоз легень» виконана на достатньому методологічному рівні, з використанням сучасних лабораторних методів і відповідної статистичної обробки, що дозволило дисертанту зробити обґрунтовані висновки та сформулювати

відповідні практичні рекомендації. Достовірність матеріалів, викладених у дисертаційній роботі не викликає сумнівів. Зауважень або заперечень щодо трактування автором основних положень та оформлення дисертації немає.

Під час ознайомлення з дисертаційною роботою виникли окремі запитання і зауваження, на які варто звернути увагу переважно в дискусійному аспекті. Мені цікава думка дисертанта на наступні запитання.

1. З чим пов'язана відмінність у змінах активності маркерів стану гепатобіліарної системи під час інтенсивної фази протитуберкульозної терапії у носіїв генотипу *AG і *AA?

2. На Вашу думку, як поліморфізм *CYP3A4* у хворих на туберкульоз може впливати на ризик виникнення лікарської резистентності збудника туберкульозу?

Окрім цього, в тексті зустрічаються стилістичні помилки, проте, ці зауваження не є принциповими та не впливають на позитивну оцінку дисертаційної роботи в цілому.

Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності

Рукопис дисертаційної роботи Полуденко Ганни Олексіївни «Клініко-фармакологічні особливості цитохрому-Р4503А4 при лікуванні хворих на вперше діагностований туберкульоз легень» перевірено на наявність академічного плагіату. Рівень оригінальності для даної дисертаційної роботи є достатнім. За результатами перевірки наявні деякі збіги із власними публікаціями, що наведені в переліку публікацій здобувача за темою дисертації, а також із загально вживаними термінами. Всі текстові цитування та список літератури оформлені згідно рекомендацій МОН України. Дисертантом дотримано вимог норм законодавства про авторське право. Аналіз матеріалів дисертаційної роботи та наукових публікацій здобувача не виявив фактів порушення академічної доброчесності.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам

Дисертаційне дослідження Полуденко Ганни Олексіївни «Клініко-фармакологічні особливості цитохрому-Р4503А4 при лікуванні хворих на вперше діагностований туберкульоз легень», що виконане в Одеському національному медичному університеті МОЗ України під керівництвом доктора медичних наук, професора Антоненка Петра Борисовича, є завершеною самостійною науковою роботою, яка містить нові науково обгрунтовані результати, що мають істотне теоретичне та практичне значення для медицини і пропонує нове вирішення актуального наукового завдання клінічної фармакології та фтизіатрії – підвищення ефективності і безпечності фармакотерапії хворих на вперше діагностований

туберкульоз легень шляхом дослідження клініко-фармакологічного значення цитохрому-Р4503А4 у хворих, що дозволяє персоніфікувати та оптимізувати фармакотерапію хворих на туберкульоз легень.

За методичним рівнем, актуальністю, обсягом дослідження, науковою новизною, практичною значимістю представлена дисертаційна робота 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 №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

в.о. завідувача відділенням діагностики
хіміорезистентних форм захворювань
на туберкульоз легень
ДУ «Національний інститут фтизіатрії
і пульмонології НАМН України»,
д.мед.н., професор



Михайло КУЖКО

