

ВІДГУК
НА ДИСЕРТАЦІЙНУ РОБОТУ
СЕМЕНЕНКО СВЯТОСЛАВА ІГОРЕВИЧА:
«ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ВИКОРИСТАННЯ
МОДУЛЯТОРА NMDA-РЕЦЕПТОРІВ В ЯКОСТІ
ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРА ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВІЙ ТРАВМІ
(ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)»,
ПОДАНУ НА ЗДОБУТТЯ НАУКОВОГО СТУПЕНЯ ДОКТОРА
МЕДИЧНИХ НАУК ЗА СПЕЦІАЛЬНІСТЮ 14.03.05 - ФАРМАКОЛОГІЯ

Актуальність теми дисертації

В країнах Євросоюзу щорічно реєструється від 150 до 300 випадків ЧМТ на 100 000 населення. У США частота звернень з приводу ЧМТ до медичних установ протягом року, за оцінками різних авторів, коливається від 175 до 400 осіб на 100 000 населення, з них близько 85 осіб госпіталізують.

У зв'язку з бойовими діями на території України та збільшенням кількості військовослужбовців, які отримали закриту ЧМТ, що призводить до втрати боєздатності особового складу ЗСУ, актуальною є оптимізація підходів до медикаментозної нейропротекції. У патогенезі ЧМТ важливу роль відіграють вторинні пошкодження тканини головного мозку, передусім церебральна ішемія, внаслідок чого формуються порушення енергетичного метаболізму, вуглеводного обміну, гіперактивація вільнорадикальних процесів, що ініціюють процеси переокиснення. Так, встановлено що патологічні зміни, що відбуваються після ЧМТ, називають ішемічним каскадом, сутність якого зводиться до наступного: зниження доставки O_2 і глюкози викликає негайне розщеплення аденозинтрифосфату (АТФ) для покриття потреб клітин в енергії (триває 2–4 хвилини після повної ішемії). Далі використовується фосфокреатинін, рівень якого в мозку в 3 рази вищий за АТФ, для процесів ресинтезу АТФ з аденозиндифосфатів (АДФ). Розвивається зниження внутрішньоклітинного рН і перехід на анаеробний

гліколіз, що веде до підвищення вмісту молочної кислоти, перетворення за допомогою лактату тривалентного заліза на двовалентне. Саме це сприяє утворенню вільних радикалів та окисненню ліпідів клітинних мембран.

Важливим моментом каскаду є підвищення рівня нейротрансмітерів - збуджуючих амінокислот глутамату й аспартату. Аспартат впливає тільки на N-метил-D-аспартат (NMDA) рецептори, які локалізовані в корі й гіпокампі. Глутамат активує три типи рецепторів: NMDA-рецептори, локалізовані в корі й таламусі, AMPA-рецептори, або рецептори до квізквалату, рецептори каїнату, що локалізовані в стріатумі гіпокампа. Активація NMDA-рецепторів сприяє входженню в клітину Na^+ , Cl^- , Ca^{2+} і H_2O . Активація AMPA-рецепторів і рецепторів каїнату сприяє входженню в клітину Na^+ . Отже, зростання позаклітинної концентрації глутамату веде до загибелі клітин двома шляхами. Перший шлях – при активації глутаматом NMDA-рецепторів розвивається негайна нейротоксичність: при входженні в клітину Na^+ , Cl^- і H_2O виникає клітинний набряк, лізис мембран і клітинна смерть. Другий шлях – у період від 24 до 72 годин після ішемії формується відстрочена нейротоксичність - активація NMDA-рецепторів сприяє входу в клітину іонів Ca^{2+} , у результаті активуються фосфоліпази, протеази, вільні жирні кислоти, утворюються арахідонова кислота й вільні радикали, що веде до окиснення ліпідів і клітинної смерті. Вивчення особливостей перебігу патофізіологічних процесів цереброваскулярних розладів (і гострих, і хронічних) та травматичного пошкодження мозку показало: в основі поширення порушень цілісності клітин і руйнування тканин при різних формах внутрішньочерепних гематом – механізми апоптозу або некрозу. Сучасна медицина має великий асортимент лікарських засобів для лікування та запобігання наслідкам ЧМТ, але не всі препарати відповідають сучасним вимогам. Тому пошук і розроблення нових вискоєфективних, безпечних засобів фармакологічного захисту мозку, що відрізняються політропністю фармакодинамічних ефектів, спрямованих на одночасну корекцію різних

ланок патогенезу ЧМТ – один із пріоритетних напрямів розвитку фундаментальної та клінічної медицини.

Нині в Україні та світі є чимало препаратів із нейропротекторними властивостями, але немає можливості здійснити мультицентрові рандомізовані плацебо-контрольовані дослідження цих нейропротекторів. При гострій мозковій ішемії, що спричинена ЧМТ, кожен хворий є унікальним випадком зі своїми особливостями та проблемами. З огляду на роль ініціальних механізмів формування нейродеструкції при ЧМТ, а саме, трансмітерний аутокоїдоз, глутаматна екситотоксичність та активація глутамат-кальцієвого каскадного механізму, пріоритетним є застосування препаратів первинної нейропротекції. Нині до цієї групи належать модулятори AMPA, NMDA і блокатори нейрональних Ca^{++} каналів. Однак, наразі використовуються блокатори нейрональних Ca^{++} каналів з невеликим за часом терапевтичним вікном, а відомі модулятори AMPA і NMDA були забраковані в клінічних випробуваннях і не застосовуються. Тому розробка і створення нейропротекторів з AMPA- і NMDA-модулюючим механізмом дії є вельми перспективним напрямком у нейрофармакології. У роботах професора ВНМУ ім. Пирогова Олексія Ходаковського вперше теоретично обґрунтовано та експериментально доведено високу нейропротекторну ефективність похідного адамантану – 1-адамантилтілоксі-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (Адемол) в умовах ішемії головного мозку, що дає змогу підвищити ефективність лікування серцево-судинних патологій ішемічного генезу. Уперше показано, що адемол, на відміну від класичних первинних нейропротекторів – блокаторів NMDA-рецепторів, не лише перериває реакції глутамат-кальцієвого каскаду, а й індукує базисні механізми адаптації, нейропластичності та ендогенної нейропротекції, що спрямовані на модуляцію внутрішньоклітинного сигналітету та регуляторних механізмів, які визначають долю клітини в умовах ішемії.

своєчасність та актуальність тематики дисертації Семененко С.І. не викликає сумнівів, а сама робота має вагому наукову новизну та практичну

значущість, з огляду на подальше впровадження її результатів в медичну практику.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами

Дисертацію виконано відповідно до плану науково-дослідних робіт Вінницького національного медичного університету (ВНМУ) ім. М.І. Пирогова МОЗ України у рамках тем: «Пошук та розробка нових шляхів фармакологічної корекції порушень при ішемічному ушкодженні мозку та серця в експерименті», номер держреєстрації 0112U001939, та «Пошук та вивчення біологічно активних речовин серед природних сполук та продуктів хімічного синтезу» (номер держреєстрації 0118U001903, терміни виконання 2018-2022). Автор є відповідальним виконавцем даної теми.

Ступінь обґрунтованості положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність

Дисертант провів розробку та стандартизацію нової моделі черепно-мозкової травми різного ступеня важкості для скринінгу лікувальних властивостей різних фармакологічних засобів на щурах. Ним було запропоновано модель ЧМТ, що викликана пострілом з пневматичного пістолета в трепанаційний отвір, яка залежно від відстані пострілу, за динамікою показника летальності, рівнем маркера ушкодження головного мозку нейронспецифічної енолази та наявним неврологічним дефіцитом за шкалою stroke-index С.Р. McGraw достовірно відповідає класифікації ступеня важкості ЧМТ від важкого до легкого в залежності від відстані пострілу. Експериментальний скринінг ефективності різних доз введення 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) на моделі важкої черепно-мозкової травми (ЧМТ) і розрахував його ефективну дозу. Дисертант вивчав вплив Адемолу на формування неврологічних порушень і когнітивного дефіциту після моделювання ЧМТ. Наступним етапом дисертаційного дослідження було виявлення тонких молекулярно-біохімічних механізмів нейропротективної дії Адемолу в умовах

модельовання ЧМТ. Дисертант провів вивчення впливу Адемола на показники стероїдного стресу, окислювального і нітрозативного стресу, систему оксиду азоту, вуглеводно-енергетичний обмін, а також на концентрацію нейроспецифічних маркерів. Для більш глибокого розуміння механізму нейропротективної дії Адемола дисертант вивчав його вплив на морфо-функціональні показники нейронів кори головного мозку і нейроапоптоз.

Найбільш важливим етапом дослідження стала розробка та створення абсолютно нової лікарської форми – назального гелю Адемола, який дозволяє покращити нейродоступність препарату, його ефективність у гострий період ЧМТ та знизити ризики побічних реакцій. В результаті проведених досліджень дисертант отримав нові уявлення про молекулярно-біохімічні механізми дії Адемола, експериментально обґрунтував підходи до оптимізації первинної нейропротекції при ЧМТ, які полягають у назальному введенні модулятора NMDA з додатковими властивостями (антиоксидантними, енерготронними, протишемічними та антиапоптичними), а також розробив і апробував нову лікарську форму Адемола – назальний гель.

Наведені методики є загальноприйнятими в рамках поставлених завдань, в достатній мірі відображають високий рівень досліджень. Проаналізовано і зреферовано велику кількість наукової літератури та медичних джерел - 98 – кирилицею та 348 – латиницею.

У роботі використано достатню кількість лабораторних тварин для достовірного аналізу (260 щурів лінії Вістар). Переконливі результати з адекватним використанням методів статистичної обробки (кореляційний, дисперсійний, регресійний аналізи, бінарна логістична регресія) зумовили високу статистичну значущість, на основі яких дисертант обґрунтував положення, висновки та практичні рекомендації.

Цифрові дані оброблені за допомогою Microsoft Excel 2016 з пакетом статистичної обробки AtteStat 12. Для оцінки достовірності відмінностей у

досліджуваних групах використовувався критерій Краскела-Уолліса з posthoc поправкою Данна. Звертає увагу використання сучасних методів, таких як хемо- та біоінформатика, термогравірометрія. Наукова робота виконана на достатньому науково-методичному рівні у відповідності до положень з біоетики, що підтверджено комітетом з питань етики Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (протокол № 3 від 3 квітня 2023 р.). Отримані дисертантом результати повною мірою оприлюднені в матеріалах вітчизняних та закордонних наукових форумів та наукових фахових виданнях.

Все це однозначно свідчить про те, що висунуті автором наукові положення і висновки є добре обґрунтованими, достовірними, впливають з проаналізованого фактичного матеріалу, правильно оформлені та чітко сформульовані. Практичні рекомендації прості та конкретні.

Наукова новизна отриманих результатів

Дисертаційна робота Семененко С.І. являє собою дослідження, в якому вперше теоретично обґрунтовано та експериментально доведено застосування Адемола як первинного нейропротектора, а також розроблену дисертантом лікарську форму Адемола (назальний гель) при тяжкій черепно-мозковій травмі. Вперше змодельовано експериментальну модель черепно-мозкової травми різних ступенів важкості у щурів. Вперше досліджено молекулярно-біохімічні механізми нейропротекторної дії модулятора NMDA Адемола при черепно-мозковій травмі, спрямовані на переривання нейроапоптозу, покращення морфо-функціональних параметрів нейронів кори головного мозку, поліпшення вуглеводно-енергетичного обміну, нормалізацію нитроксидергичної системи та гальмування нітрозативного і оксидативного стресу. Вперше проведений порівняльний аналіз 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемола) в гострий період тяжкої ЧМТ та вивчені переваги й недоліки даного фармакологічного засобу з існуючими блокаторами N-метил-D-аспартатних

рецепторів, які використовуються для фармакологічної корекції у хворих з ЧМТ. Доповнено наукові дані патогенетичних механізмів впливу адемолу, як первинного церебропротектора в гострий період тяжкої модельної ЧМТ. Експериментальний аналіз патогенетичних механізмів впливу 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) в гострий період тяжкої ЧМТ дозволив уточнити закономірності змін центральної та церебральної гемодинаміки, зміни показників антиоксидантної рівноваги та енергетичного обміну в ГМ на фоні впливу блокатора N-метил-D-аспартатних рецепторів адемолу та визначити найбільш ефективну дозовану стратегію церебропротекторної підтримки, що здатна якнайкраще коригувати порушення при травматично пошкодженню головному мозку. Вперше експериментально доведено, що рання церебропротекторна підтримка 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) при модельній тяжкій ЧМТ, сприяє зменшенню некрозу та апоптозу в ГМ, що в подальшому зменшує летальність та неврологічний дефіцит. Доповнені наукові дані, що захисні патогенетичні механізми поліфункціональної дії 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) в складі терапії раннього періоду тяжкої ЧМТ базуються на усуненні: енергодефіциту, метаболічного ацидозу, зменшенні набряку та нейродеструкції мозку, корекції антиоксидантно-оксидантної системи, збереженні цитоархітектоніки ГМ, зменшенні апоптозу.

На основі отриманих даних запропоновано та виготовлено назальну форму лікарського засобу, що містить адемолу, вивчено сумісність діючих та допоміжних інгредієнтів форми, досліджено її консистентні та реологічні властивості та опрацьовано екстемпоральну технологію виробництва. При цьому автором проведено доклінічні дослідження інтраназальної лікарської форми, яка містить адемолу для перевірки її ефективності в лікуванні цереброваскулярної патології.

Наукова новизна підтверджена 2 патентами України на корисну модель.

Практичне значення отриманих результатів

Змодельована нова експериментальна модель ЧМТ різних ступенів важкості у щурів дає можливість для скринінгу лікувальних властивостей різних фармакологічних засобів. В експериментальних умовах на різних за ступенем важкості моделях ЧМТ будуть вивчатися основні механізми захисного впливу лікарських засобів на травматично пошкоджений головний мозок. Проведене наукове дослідження дозволило розробити нові експериментальні підходи до фармакотерапії тяжкої ЧМТ, що в подальшому може дозволити знизити летальність та зменшити неврологічний дефіцит у пацієнтів з тяжкою ЧМТ. Отримані результати роботи експериментально обґрунтовують доцільність клінічного випробування фармакологічного засобу 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу) в ін'єкційній формі для лікування черепно-мозкової травми. Наявні церебропротекторні властивості адемолу в умовах травматичного пошкодження ГМ є дуже важливими, так як враховуючи можливість парентерального введення та наявність впливу на первинні патогенетичні ланки травматичного пошкодження мозку, є всі підстави для його можливого призначення хворим у ранній період травми мозку. Отримані в дисертації дані значно розширюють уявлення механізмів церебропротекторної дії нових сполук модуляторів NMDA-рецепторів та підтверджують можливість проводити цілеспрямовані кроки, для подальшого клінічного вивчення впливу 1-адамантилтилокси-3-морфоліно-2-пропанолу гідрохлориду (адемолу). Результати дослідження доповнили існуючі теоретичні знання про перебіг ЧМТ на фоні фармакокорекції новими блокаторами NMDA-рецепторів, вони чітко підтверджують та обґрунтовують подальшу можливість застосування досліджуваних фармакологічних схем в клінічній практиці.

Результати дослідження впроваджено у навчальний та науковий процес кафедр фармакології, внутрішньої медицини №2 і біологічної та загальної хімії ВНМУ ім. М.І. Пирогова, кафедри фармакології Буковинського

державного медичного університету, кафедри клінічної фармації та клінічної фармакології національного медичного університету імені О.О. Богомольця, кафедри загальної та клінічної фармації Дніпровського державного медичного університету, кафедри фармакології та клінічної фармакології Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського, лабораторії фізико-хімічної фармакології Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України.

Промислова технологія виробництва назального гелю з нейропротектором «Адемол» пройшла успішну апробацію ТОВ «МОБІЛЬ МЕДІКАЛ», перевірено відтворення методик технологічного регламенту та апробовано методики контролю якості. Включено до перспективного плану впровадження нових лікарських засобів на 2024-2026 роки.

Повнота викладу основних положень, висновків і рекомендацій, апробація результатів дисертації

Говорячи про повноту викладення матеріалів дисертаційної роботи в опублікованих наукових працях, необхідно відзначити, що автором за темою дисертаційної роботи опубліковано 38 праць, з них 24 статті у фахових наукових виданнях, 2 деклараційних патенти України на корисну модель, 11 тез доповідей у матеріалах з'їздів і конференцій. Всі наукові положення, висновки та практичні рекомендації знайшли своє відображення у друкованих роботах. Аналіз основного змісту опублікованих робіт дозволяє зробити висновок, що всі наукові положення, висновки та практичні рекомендації, представлені в дисертації, відображені в опублікованих працях.

Академічна доброчесність

Під час вивчення матеріалів дисертації, аналізу наукових публікацій дисертанта не було виявлено ознак порушення академічної доброчесності.

Обсяг і структура дисертації

Дисертаційна робота Семененко Святослава Ігоровича структурована відповідно до вимог МОН України і складатиметься з анотацій українською та

англійською мовами, вступу, огляду літератури, розділу „Матеріали та методи дослідження”, 8 розділів власних досліджень, розділу узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел літератури та додатків.

Оцінюючи зміст дисертації, слід зазначити, що робота легко читається і сприймається, виклад основних результатів дослідження компактний та конкретний. Дисертація викладена на 357 сторінках комп'ютерного тексту і складається зі вступу, огляду літератури, розділу „Матеріали та методи дослідження”, 8 розділів власних досліджень, узагальнення результатів дослідження, висновків та списку літературних джерел, з них 98 – кирилицею та 348 - латиницею (займає 54 сторінки). Робота ілюстрована 65 рисунками та 32 таблицями.

Анотація оформлена на 15 сторінках згідно з чинними вимогами і закінчується переліком власних публікацій.

У *вступі* надано обґрунтування вибору теми дослідження, вказаний зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, мета і завдання, наукова новизна і практична значущість отриманих результатів та описано особистий вклад дисертанта у виконання дисертаційної роботи, перелічено наукові заходи, де проведена апробація результатів роботи, наведені кількість публікацій за матеріалами дисертації, її обсяг і структура.

Огляд літератури на 54 сторінках і складається з п'яти підрозділів. Розділ написаний на високому науково-методичному рівні з аналізом сучасних джерел наукової літератури та висновками. Докладний і структурований, автором чітко охарактеризовані не вивчені на сьогоднішній день або сумнівні аспекти, що стосуються патогенезу нейродеструкції при вторинній ішемії головного мозку внаслідок черепно-мозкової травми. Особливу увагу дисертант приділив опису вторинних ушкоджень головного мозку при ЧМТ. Показано етапи формування механізмів нейродеструкції після ЧМТ – порушення кисневого режиму, енергодефіцит, трансмітерний аутокідоз, глутаматна ексайтотоксичність, порушення в системі монооксиду

азоту, гіперпродукція активних форм кисню (АФК), формування оксидативного

Сучасні дані про патофізіологію мозкового інсульту й пошкодження мозку внаслідок ЧМТ свідчать про патогенетичну єдність механізмів клітинного пошкодження при будь-якій гострій церебральній недостатності, що обумовлено тканинною ішемією, яка обов'язково виникає. Гіперактивність системи NMDA-рецепторів, оксидативний стрес, як і продукція прозапальних цитокінів гліальними клітинами, є основними патогенетичними чинниками формування набряку мозку й індукування процесів апоптозу нейронів. Дисертантом дуже докладно описано механізми формування глутамат-кальцієвого каскадного механізму ушкодження нейронів, спричинені вторинною ішемією після ЧМТ. Важливим моментом каскаду є підвищення рівня нейротрансмітерів -збуджуючих амінокислот глутамату й аспартату.

Сучасна медицина має великий асортимент лікарських засобів для лікування та запобігання наслідкам ЧМТ, але не всі препарати відповідають сучасним вимогам. Тому пошук і розроблення нових вискоелективних, безпечних засобів фармакологічного захисту мозку, що відрізняються політропністю фармакодинамічних ефектів, спрямованих на одночасну корекцію різних ланок патогенезу ЧМТ – один із пріоритетних напрямів розвитку фундаментальної та клінічної медицини. В огляді дисертант навів основні напрямки лікування черепно-мозкової травми в контексті доказової медицини. Показано, що ведення пацієнтів з черепно-мозковою травмою (ЧМТ) на сьогоднішній день є вкрай актуальною проблемою, як нейрохірургічної, так і реанімаційно-неврологічної практики. Протягом перших годин після тяжкої ЧМТ допомога надається бригадами швидкої медичної допомоги, а в приймальних відділеннях стаціонарів – хірургами, травматологами та анестезіологами. В спеціалізованих центрах травми та лікувальних закладах III рівня (обласні лікарні) пацієнтам із тяжкою ЧМТ надається спеціалізована медична допомога за участю нейрохірургів. Вимоги

сьогодення вимагають при наданні допомоги постраждалим, незалежно від рівня медичного закладу, де вона надається, дотримання сучасних діючих рекомендацій, котрі ґрунтуються виключно на доказовій медицині, що є відображенням результатів багатоцентрових проспективних рандомізованих досліджень. Пріоритетним завданням для дослідників у цьому напрямі є пошук методів, які збільшують толерантність мозкової речовини до гіпоксичного ушкодження. Дисертант навів класифікацію первинних нейропротекторів, звертаючи увагу на модулятори NMDA і АМРА. Було показано фармакологічні властивості та нейропротекторну активність кетаміну, фелбамату, рилутека, магнію сульфату та амантадину. Також продемонстрована нейропротекторна активність нових молекул з властивостями модулюючих фенциклідинові та поліамінові сайти NMDA.

У розділі *«матеріали і методи дослідження»* який викладений на 23 сторінках у вигляді 6 підрозділів автором приведений дизайн дослідження, вказані вид лабораторних тварин (щери лінії Вістар), джерело їх отримання, умови утримання. Проведено розробку та стандартизацію нової моделі черепно-мозкової травми різного ступеня важкості для скринінгу лікувальних властивостей різних фармакологічних засобів у щурів. Ця модель є найбільш адекватною клінічним проявам ЧМТ і дозволяє відтворити не тільки реалізацію клітинно-молекулярно-патобіохімічного каскаду нейродеструкції, характерного для вторинної ішемії головного мозку внаслідок травми, але і прояви когнітивного дефіциту у лабораторних тварин. Використання лабораторних тварин відповідало національним і європейським біоетичним нормам.

У дисертації використовувалися сучасні біохімічні, молекулярні, електрофізіологічні, інструментальні, морфологічні та гістологічні методи дослідження для оцінки нейропротекторної дії потенційного лікарського засобу та його нової лікарської форми. Такий методичний підхід відповідає методичним рекомендаціям Державного експертного центру МОЗ України для оцінки нейропротекторної дії потенційних лікарських засобів.

Усі дослідження проводилися на сертифікованому обладнанні, а набори і окремі реактиви закуповувалися у офіційних виробників. Статистична обробка проводилася за допомогою ліцензованих комп'ютерних програм.

У *третьому* розділі дисертації, на 7 сторінках друкованого тексту у вигляді трьох підрозділів, наведено результати розробки та апробація власно створеної моделі закритої черепно-мозкової травми у щурів. Першим етапом дослідження була розробка та апробація власної моделі черепно-мозкової травми у щурів. Цю модель ЧМТ дисертант відтворював за допомогою потоку вуглекислого газу під тиском. Модель ЧМТ у роботі викликала пострілом пневматичного пістолету. У наступному розділі дисертант провів оцінку нейропротекторних властивостей Адемола в умовах ЧМТ. Було проведено пошук умовно-ефективної церебропротективної дози адемолу та референс-препаратів за динамікою показника летальності щурів в умовах модельної ЧМТ. Отримані дані дали змогу зробити висновок про наявність у адемолу виразних церебропротекторних властивостей саме дозою 2 мг/кг в/в без розвитку побічних реакцій з боку ЦНС, які характерні для блокаторів фенциклідинового ряду NMDA-рецепторів (судоми, пригнічення когнітивно-мнестичних функцій).

Четвертий розділ викладений на 20 сторінках і складається з 3 підрозділів. Цей розділ автор присвятив оцінці нейропротективних властивостей адемолу в умовах модельної черепно-мозкової травми. Було показано, що стосовно змін показників виживання щурів із важкою ЧМТ як упродовж перших 72 год, так і на 8 добу після травми, найбільшу захисну дію на ГМ проявив адемола в дозі 2 мг/кг в/в, який статистично значимо переважав аналогічний ефект амантадину сульфату 5 мг/кг та магнію сульфату 250 мг/кг. Отримані автором дані стосовно найбільшої нейропротективної активності адемолу у дозі 2 мг/кг в/в, дали підстави для її визначення, як умовно-ефективної. Заразом дисертантом було встановлено, що у щурів із важкою ЧМТ спостерігались тяжкий неврологічний дефіцит,

погіршення процесів навчання і пам'яті у відновному періоді. Адемол випереджав референтні препарати за впливом на дослідні показники та сприяв зменшенню виразності неврологічних порушень, що супроводжувалося покращенням мнестичних функцій у тварин із ЧМТ на 8-му добу.

У *п'ятому* розділі дисертант вивчав вплив курсового введення Адемола на формування стероїдної нейротоксичності за рівнем кортизолу в умовах модельної ЧМТ. Також було досліджено вплив Адемола на показники вуглеводно-енергетичного обміну, оксидативного стресу, нитроксидергічної системи та нейровоспалення в головному мозку при ЧМТ. Аналіз отриманих даних по енергетичному обміну у щурів із тяжкою ЧМТ, які отримували розчин адемолу в дозі (2 мг/кг в/в) більш ефективно, ніж застосування амантадину сульфату (5 мг/кг в/в), стримувало гіперактивацію анаеробного гліколізу, стимулювало процеси тканинного дихання, зменшувало ознаки лактат-ацидозу, розвиток вторинної альтерації клітин головного мозку недоокисненими продуктами, коригувало краще падіння активності ферментативної антиоксидантної ланки, попереджувало накопичення активних кисневих інтермедіатів та сповільнювало перебіг реакцій вільнорадикального окиснення ліпідів та протеїнів в структурах головного мозку щурів ($p < 0,05$).

Аналіз впливу курсового введення адемолу на формування стероїдної нейротоксичності за рівнем кортизолу в умовах модельної ЧМТ показав, що застосована фармакотерапія попереджувала наростання рівня кортизолу, так у щурів, які отримували адемол рівень кортизолу в крові був меншим в 2,58 рази ($p < 0,05$), порівняно з групою контролю. При цьому, вплив амантадину сульфату на рівень кортизолу в крові був вірогідно меншим, ніж у адемолу і на 49,2% ($p < 0,05$) перевищував відповідний показник у щурів з ЧМТ+адемол. Фармакотерапія досліджуваними розчинами в різній мірі зменшувала активність запальної реакції в тканинах травматично пошкодженому мозку. Так, у тварин, яким застосовували адемол та амантадин сульфат, вміст TNF- α

в тканинах мозку виявився меншим відповідно на 57,3 % та 43,5 % ($p < 0,05$). При цьому, адемомол вірогідно краще, ніж амантадину сульфат та група контролю, попереджував розвиток нітрозативного стресу та збільшував запаси амінокислоти L-аргініну в клітинах головного мозку за умов ЧМТ. У наступному розділі дисертант вивчав вплив Адемола на вміст нейронспецифічної енолази, білка S100, мозкового нейротрофічного фактора та на процеси нейроапоптозу у щурів із ЧМТ. Також у цьому розділі дисертант провів оцінку морфологічних змін в структурах головного мозку щурів на тлі курсової терапії модельної ЧМТ адемомолом. Аналіз отриманих даних у групі контролю (ЧМТ + 0,9% розчин NaCl) стосовно рівнів NSE та білка S100, як маркерів пошкодження нервової тканини свідчить про те, що на 8-му добу ЧМТ у щурів групи контролю відбувається інтенсивне формування та організація ядра альтераційного осередку. При цьому, адемомол та амантадину сульфат стримують розвиток інтенсивної нейрогліопрولیферації за умов модельної ЧМТ. Тяжка ЧМТ у щурів має депримуєчий вплив на продукцію мозкового нейротрофічного фактору. Досліджувані розчини стримують формування дефіциту нейротрофічного фактору, причому адемомол значно випереджає амантадин сульфат за цим ефектом, так рівень BDNF в сироватці крові за умов лікування ЧМТ адемомолом вірогідно більший на 24,1 % ($p < 0,05$), порівняно з такими показниками при лікуванні амантадином сульфатом. Аналіз спроможності знижувати рівень фрагментованої ДНК в ядрах нейронів часток кори головного мозку щурів на 8-му добу ЧМТ показує, що адемомол вірогідно перевершував референс-препарат в середньому на 27,2% ($8,35 \pm 0,133\%$ проти $11,47 \pm 0,02\%$) ($p < 0,05$). Результати летальності та неврологічного дефіциту у щурів з тяжкою ЧМТ на фоні застосування референт-препаратів вказують на відсутність достовірної ефективності застосування магнію сульфату при експериментальній ЧМТ у щурів, тому для подальших експериментальних досліджень було залишено лише один препарат порівняння – амантадину сульфат. Встановлено, що адемомол препарат із високою біодоступністю, яка

забезпечує можливість внутрішньовенного введення. Адемол в достатній мірі проникає крізь гематоенцефалічний бар'єр, що є запорукою його нейропротекторної активності, а структурна подібність до β -адреноблокаторів та його афінність обумовлює лікворогіпотензивну дію похідного адамантану, що спричиняє зниження підвищеного внутрішньочерепного тиску ($p < 0,05$).

У шостому розділі на 41 сторінці у 3 підрозділах дисертант наводить результати дослідження впливу курсової терапії адемолом на процеси нейродеструкції за експериментальної ЧМТ. Встановлено, що застосування адемолу на тлі ЧМТ зменшує виразність нейродеструктивних процесів, знижує активність нейрогліопрولیферації, а також стимулює репаративні процеси у головному мозку, що підтверджено гістологічними дослідженнями сенсомоторної ділянки кори головного мозку та гіпокампа зони CA1 щурів з модельованою ЧМТ.

У сьомому розділі на 16 сторінках дисертант наводить результати дослідження показників визначення молекулярної мішені адемолу методами хемоінформатики за критеріями лікоподібності біодоступності та молекулярного докінгу. Встановлено, що компоненти дослідної форми сумісні між собою та можуть бути поєднані в одній рецептурі. Досліджено консистентні властивості назальної форми з адемолом. Встановлено, що реологічні властивості характеризують рідку консистенцію, тому в якості упаковки доцільно використати флакон з піпеткою (назальною насадкою), одноразову крапельницю, пропелентну або безпропелентну упаковку. Застосований метод статистичного аналізу дав змогу правильно інтерпретувати експериментальні дані і зробити обґрунтовані висновки.

Розділ *«Аналіз та узагальнення результатів досліджень»* викладений автором на 31 сторінці. У цьому розділі дисертант ґрунтовно систематизує отримані результати, проводить кореляції результатів власних досліджень з даними вітчизняних і закордонних наукових джерел та обґрунтовує загальні висновки. Автор детально та чітко окреслює зв'язки між положеннями та

висновками різних розділів дисертаційної роботи, висвітлює переваги адемолу перед наявними лікарськими засобами та зазначає потенційну користь дослідного препарату в якості церебропротективного засобу.

Список літератури оформлений згідно з чинними вимогами, містить 446 джерел (98 — кирилицею та 348 — латиницею), що свідчить про широту проведеного літературного пошуку та аналізу сучасного стану досліджуваної тематики.

Висновки дисертації логічно випливають з результатів дослідження і повністю відповідають положенням, які були сформульовані в меті та завданні дослідження. Фактичний матеріал добре систематизовано. Робота написана чіткою науково-літературною мовою.

Дискусійні положення та зауваження до дисертації та її змісту та оформлення

В цілому дисертаційна робота Семененко Святослава Ігоровича, написана за традиційною структурою на високому науково-методичному рівні. побудована та оформлена згідно чинних рекомендацій, відповідає вимогам Порядку, затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України №44 від 12 січня 2022 р. Суттєвих зауважень щодо змісту і оформлення дисертації немає. Мають місце окремі стилістичні та орфографічні неточності, невдалі фразеологічні вирази та повторення. Нижчезазначені зауваження не зменшують загальної позитивної оцінки і не стосуються її суті та наукових положень, які виносяться на захист і мають лише рекомендаційний характер:

1. Огляд літератури дуже об'ємний, перевантажений вже відомими фактами, містить дублюючі фрагменти інформації.

2. В розділі матеріали і методи бажано було більш детально вказати етапи моделювання експериментальної патології.

3. У розділі, присвяченому створенню власної моделі дослідження бажано було б надати більше фото самого експерименту для кращого сприйняття.

4. Висновки є занадто об'ємними і можливо їх слід було викласти більш лаконічно

5. У роботі, особливо в розділі докінг-аналізу, є дані про взаємодію Адемолу з адренорецепторами. Незрозумілий сенс цих даних у загальній спрямованості роботи

У рамках дискусії хотілося б отримати відповіді на такі питання:

1. В чому, на Вашу думку, перевага Адемолу стосовно впливу на NMDA рецептори на відміну від інших препаратів цієї групи?

2. Вами описана переважно первинна нейропротекція, в чому вона полягає і яка суттєва відмінність від вторинної нейропротекції?

3. Вами показаний позитивний вплив Адемолу на явища стероїдної ексайтотоксичності. Який механізм цього впливу?

Висновки

З усього вище викладеного можна зробити висновок про те, що дисертаційна робота «Фармакологічне обґрунтування використання модулятора NMDA-рецепторів в якості церебропротектора при черепно-мозковій травмі (експериментальне дослідження)», що представлена до захисту, є закінченою науковою працею, в якій досягнута основна мета та вирішені задачі дослідження, і відповідає чинним вимогам «Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук», затвердженого Постановою Кабінету міністрів України №1197 від 17 листопада 2021 року, а її автор, Семененко Святослав Ігорович, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора медичних наук з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 14.03.05 — фармакологія (медичні науки).

Завідувач кафедри фармакології та технології ліків Одеського національного університету ім. І.І. Мечникова,

доктор медичних наук, професор



Олександр НЕФЬОДОВ

Александр Нефьодов
директор
инспектор Вн