

## ВІДГУК

офіційного опонента доктора медичних наук, професора, завідувача кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова МОЗ України **Волощук Наталії Іванівни** на дисертаційну роботу *Покотило Оксани Анатоліївни за темою «Фармакологічне дослідження крему з наночастинками церію діоксиду»*, подану до спеціалізованої Вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті МОЗ України на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія

### **Актуальність обраної теми**

Злоякісні новоутворення шкіри відносяться до найбільш поширених різновидів раку. Частка меланоми – 1% в структурі злоякісних пухлин шкіри. Однак, статистика смертності від цього захворювання є найвищою. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, щорічно в світі реєструється близько 132 тисячі нових випадків меланоми. Меланома, базальноклітинний рак шкіри та плоскоклітинний рак шкіри знижують якість життя пацієнтів, характеризуються значними економічними витратами для суспільства.

Важливим предиктором раку шкіри є сонячний опік – запальна реакція, що виникає після гострого переривчастого впливу на шкіру інтенсивних сонячних променів. Фотоканцерогенез обумовлений спричиненими ультрафіолетом (УФ) ушкодженням ДНК, запаленням та імуносупресією, при цьому дані ефекти реалізуються напряму або опосередковано, внаслідок утворення активних форм кисню.

Негативному впливу сонячного опромінення на організм запобігає застосування фотопротекторних лікарських та косметичних засобів, активні фармацевтичні інгредієнти (АФІ) яких поглинають або відбивають УФ промені. Незважаючи на широке представлення на світовому фармацевтичному ринку та доведену ефективність, багато сонцезахисних кремів мають низку недоліків, пов'язаних з токсичністю. Ефективність таких засобів також часто обмежується здатністю поглинати чи відбивати УФ промені лише певної ділянки спектру.

Пошук нових фотопротекторів має бути спрямований на розробку засобів, здатних захищати від УФ випромінювання широкого діапазону. Перераховані вище факти обумовлюють доцільність розробки нових ефективних та безпечних сонцезахисних засобів, у ролі АФІ яких можуть виступити наночастинки церію діоксиду (НЦД), що позбавлені фотокаталітичних властивостей, мають виражену фотопротекторну та антиоксидантну дію, доведену *in vitro*.

Приймаючи до уваги вищенаведене, обрану дисертантом тему дослідження слід вважати актуальною.

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

Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідних робіт Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України «Дослідження фармакологічних та токсикологічних властивостей наночастинок металів та композитів нанодисперсного кремнезему з органічними речовинами» (номер державної реєстрації 0116U004905) та «Дослідження фармакологічних властивостей крему з наночастинками церію діоксиду» (номер державної реєстрації 0118U001219), у яких автор є співвиконавцем.

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

Обґрунтованість наукових положень і висновків дисертації ґрунтується на достатньому обсязі отриманих експериментальних результатів, їх всебічному аналізі. Дослідження фармакологічних властивостей крему з НЦД виконані на сучасному науковому рівні з використанням адекватних експериментальних моделей та методів дослідження за достатньо інформативними показниками. Усі методичні прийоми описано в роботі досить детально. Представлена робота характеризується достатнім методичним рівнем із використанням сучасних, адекватних та коректних методів: фармакологічних, фармакокінетичних, токсикологічних, біохімічних, гематологічних, морфологічних, математичних та статистичних. Сформульовані дисертантом наукові положення та висновки ґрунтуються на достатньому

експериментальному матеріалі. В роботі використано білі миші (самці лінії BALB/c, 31 особина), 200 самок та 94 самців білих щурів лінії Wistar, 230 нелінійних мурчаках обох статей та 40 самок кролів породи Шиншила. Результати роботи задокументовані, цифрові дані статистично оброблені, оформлені у вигляді таблиць, рисунків, їх об'єктивність не викликає сумнівів. Наукові положення та висновки дисертації є обґрунтованими та узгодженими з метою та завданнями дослідження.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи викладені та обговорені на: V національному з'їзді фармакологів України (Запоріжжя, 18–20 жовтня 2017 р.), Annual Young Medical Scientists' Conference 2017 (Київ, 27–29 жовтня 2017 р.), XXV International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Students 'Topical Issues of New Drugs Development' (Харків 18–20 квітня 2018 р.), XXII міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 23–25 квітня 2018 р.), XIII научно-практической конференции молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали ибни Сино с международным участием, посвященной «Году развития туризма и народных ремесел», «Медицинская наука: новые возможности» (Душанбе, 27 квітня 2018 р.), X республиканской научно-практической конференции с международным участием студентов и молодых ученых «Проблемы и перспективы развития современной медицины» (Гомель, 3–4 травня 2018 р.), 18<sup>th</sup> World Congress of Basic and Clinical Pharmacology 'WCP2018 Kyoto' (Киото, 1–6 липня 2018 р.), VII науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 27–28 вересня 2018 р.), International Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduates, and Young Scientists 'Topical Issues of Theoretical and Clinical Medicine' (Суми, 17–19 жовтня 2018 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених «Медична наука-2018» (Полтава, 16 листопада 2018 р.).

### Наукова новизна отриманих результатів

В науковій праці запропоновані підходи до розробки лікарських засобів з НЦД, ефективних та безпечних при профілактиці ураження шкіри УФ випромінюванням. Фармакологічна активність крему з НЦД при нашкірному нанесенні дозою  $2 \text{ мг/см}^2$  на моделі фотодинамічної травми у мурчаків підтверджена високим показником фотопротекторної активності на рівні 43,2%, стимуляцією регенераторних властивостей шкіри, про що свідчить повна епітелізація шкірних покривів, яка була на 46,7% швидше, ніж у групі контрольної патології, нормалізацією температури шкірних покривів, зменшенням деструктивних змін у шкірі за гістологічним аналізом. Фотопротективна активність крему з НЦД при нашкірному нанесенні дозою  $2 \text{ мг/см}^2$  зберігалась також і за ускладненої фотодинамічної травми у мурчаків, посиленої аміфурином.

Уточнені дані про фармакокінетику крему з НЦД при одноразовому нашкірному нанесенні щурам дозою  $2 \text{ мг/см}^2$ . Церій не всмоктується в системний кровообіг, не накопичується в печінці, нирках і селезінці, що вказує на відсутність системної абсорбції. Наночастинки не виявляються в крові після впливу УФ, що свідчить на користь прийнятного профілю безпеки у даних умовах. Церій накопичується у шкірі протягом 24 годин з подальшим поступовим зниженням концентрації, при цьому його фотопротекторний ефект при підвищеній інсоляції був більшим за такий при дії на інтактну шкіру.

Розширені наукові уявлення про токсикологічні властивості крему з НЦД. Так, встановлено, що за показниками гострої токсичності крем з НЦД як при нашкірному нанесенні, так і за внутрішньошлункового введення, відноситься до практично нешкідливих сполук, оскільки його доза  $5 \text{ г/кг}$  не викликає загибелі тварин, не впливає на масу тіла, макроскопічну структуру та коефіцієнти маси внутрішніх органів. Водночас, крем, який досліджувала автор, має високий профіль безпеки і за показниками хронічної токсичності. Так, при нашкірному нанесенні щурам протягом 6 місяців дозами  $0,1, 0,5$  і  $1,0 \text{ г/кг}$  не викликає загибелі тварин, не сприяє негативній динаміці

зміни маси тіла, безпечний за впливом на біохімічні показники сироватки крові, макроскопічну і гістологічну структуру та коефіцієнти маси внутрішніх органів.

Нашкірне нанесення самцям щурів крему з НЦД дозами 0,1, 0,5 і 1,0 г/кг протягом 90 днів не спричиняє гонадотоксичної дії. Топікальне застосування крему у вагітних самок щурів дозами 0,1, 0,5 і 1,0 г/кг не викликає ембріолетального ефекту та не спричиняє у плодів анатомічних змін органів. Крем з НЦД безпечний за параметрами мутагенного впливу на геном соматичних клітин при одноразовому нашкірному нанесенні дозами 0,1 та 1,0 г/кг та повторному – дозою 0,1 г/кг протягом 7 діб мишам.

### **Теоретичне і практичне значення результатів дослідження**

Дисертаційна робота має як теоретичне, так і практичне значення, адже її результати доповнюють наші знання щодо фотопротекторної активності у крему з НЦД. На основі проведених досліджень і отриманих результатів автором обґрунтовано доцільність розробки нового фотопротекторного лікарського засобу з НЦД у формі дермального крему та видано інформаційний лист № 303 від 2018 р.

Результати роботи впроваджено у науково-педагогічний процес ряду кафедр медичного та фармацевтичного профілю ВНЗ України, про що є відповідні акти впровадження.

### **Основний зміст дисертації та її структура**

Дисертація Покотило О. А. написана логічно, послідовно та складається з анотацій українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», 4 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел у кількості 159 найменувань, з яких 39 – кирилицею, 120 – латиницею, і додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 147 сторінок друкованого тексту. Робота проілюстрована 27 таблицями та 34 рисунками. Отже, структура та обсяг роботи відповідають вимогам МОН України.

**Анотація** до дисертаційної роботи оформлена згідно з вимогами наказу № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження вимог до оформлення дисертації».

**У вступі** чітко обґрунтована актуальність теми, сформульовані мета і завдання дослідження, сформульований зв'язок роботи з науковою темою, охарактеризовані новизна і практична значимість одержаних результатів, зазначені особистий внесок здобувача виконаної дисертаційної роботи, публікації та де здійснена апробація результатів дослідження, структура та обсяг роботи.

**В огляді літератури** автор детально аналізує наукові дані щодо медико-соціального значення сонячних опіків та раку шкіри, викликаного УФ опроміненням, сучасних аспектів застосування фотопротекторів для попередження розвитку даних патологій, фармакологічних властивостей, безпеки та аналізу потенційних можливостей застосування НЦД у медицині.

**У розділі 2 «Матеріали та методи дослідження»** представлено опис матеріалів та методів дослідження. Експерименти виконано на 31 білій миші (самці лінії BALB/c) масою 18–22 г, 200 самках та 94 самцях білих щурів лінії Wistar масою 150–240 г, 230 нелінійних мурчаків обох статей масою 450–500 г та 40 кролях самках породи Шиншила масою 3–4 кг. Наведена характеристика субстанції НЦД та кремів з НЦД. У якості референт препаратів використовували крем з 3% титану діоксиду (ТД) та кремову основу, розроблені у НТК «Інститут монокристалів» НАН України, а також крем з ТД виробництва ТОВ «Медичне науково-виробниче об'єднання Біокон». Дисертантом використовувалися 2 моделі патології: модель фотодинамічної травми у мурчаків; модель посиленої аміфурином фотодинамічної травми у мурчаків. Дисертантом представлено алгоритм дослідження у вигляді схеми. У розділі наведені сучасні фармакологічні, токсикологічні, біохімічні, гематологічні, морфологічні, математичні та статистичні методи дослідження. Дисертантом було застосовано достатній набір адекватних і сучасних методів, які дали можливість розкрити тему дисертації.

**У Розділі 3 «Скринінг фотопротекторної активності кремів з НЦД на моделі фотодинамічної травми у мурчаків»** автором представлений пошук крему-лідера за фотопротекторною активністю серед топікальних лікарських форм з різною концентрацією НЦД при моделюванні гострого фотодинамічного запалення шкіри у мурчаків. Результати скринінгу дозволили визначити оптимальну концентрацію НЦД у кремі – 0,25%.

**У Розділі 4 «Токсикологічні дослідження крему з НЦД»** зазначені результати експериментів з визначення гострої, субхронічної, хронічної токсичності, гонадотоксичної, ембріотоксичної та мутагенної дії крему з НЦД. Засновуючись на аналізі токсикологічних, біохімічних, гематологічних та морфологічних маркерів, зроблений висновок про безпеку лікарської форми у широкому діапазоні доз.

**Розділ 5 «Дослідження фармакологічної активності крему з НЦД»** містить результати, які вказують на те, що крем з НЦД проявив фотопротекторну дію при застосуванні в рамках експериментальних моделей фотодинамічної травми та посиленої фотосенсибілізатором аміфурином фотодинамічної травми у мурчаків. Фармакологічну активність аналізували за такими параметрами, як ступінь вираженості еритеми, температура та гістологічна структура шкіри, вміст простагландинів у шкірі, час повної епітелізації шкірних покривів. Виявлено, що за умов наускладненої фотодинамічної травми, ФПА становила 43,2%, що супроводжувалось повною епітелізацією шкірних покривів за 5,86 діб (на 46,7% швидше, ніж у групі контрольної патології), нормалізацією температури шкірних покривів, зменшенням деструктивних змін у шкірі за гістологічним аналізом. Ефективність крему з НЦД при нашкірному нанесенні дозою 2 мг/см<sup>2</sup> на моделі посиленої аміфурином фотодинамічної травми у мурчаків підтверджена показником ФПА 30,8%, активацією адаптаційних процесів у епідермісі, на 23,1% і 24,2% нижчим вмістом простагландинів P<sub>gE</sub><sub>2</sub> і P<sub>gF</sub><sub>2α</sub> у шкірі, зниженням на 0,55 °С температури шкірних покривів порівняно з групою

контрольної патології, повним загоєнням ран за 9,14 діб, що на 44,8% скоріше, ніж у нелікованих тварин.

**У Розділі 6 «Дослідження фармакокінетики крему з НЦД»** продемонстровано, що церій з крему з НЦД при одноразовому нашкірному нанесенні щурам не всмоктувався в системний кровообіг, не накопичувався в печінці, нирках і селезінці, навіть при ураженні шкіри УФ, що свідчило про відсутність системної абсорбції наночастинок, в тому числі в умовах підвищеної інсоляції. Виявлено, що церій після нанесення крему накопичується у шкірі протягом 24 годин з подальшим зниженням концентрації, що має забезпечувати тривалий захист від УФ опромінення.

Окремо подається **узагальнення та всебічний аналіз результатів**, авторська інтерпретація та науково обґрунтоване обговорення фактів і виявлених закономірностей. Ознайомлення з наведеними у розділі відомостями дозволяє скласти уявлення про науково-практичну сутність дисертаційної роботи. Автор вміло узагальнює результати власних досліджень із залученням літературних даних. Проводить аналіз отриманих результатів у порівнянні з референс-препаратами.

**Загальні висновки** відповідають меті та поставленим завданням дослідження, тобто дисертаційна робота носить завершений характер.

**Список літературних джерел** оформлений згідно з вимогами і відображає широке опрацювання дисертантом даних літератури.

**Повнота викладу наукових положень дисертації в опублікованих працях.** За матеріалами дисертації опубліковано 19 наукових робіт, з них 5 статей у профільних наукових журналах, рекомендованих МОН України, 2 статті у зарубіжному науковому профільному виданні, 1 інформаційний лист МОЗ України, 10 тез доповідей.

#### **Ідентичність змісту автореферату й основних положень дисертації**

Дисертаційна робота та автореферат написані у науковому стилі. Оформлення автореферату та дисертації відповідає вимогам наказу МОН України № 40 від 12.01.17 р. Автореферат відповідає тексту дисертації.



## **Зауваження, що стосуються оформлення і змісту дисертації та автореферату**

Разом з загальною позитивною оцінкою роботи слід відмітити деякі зауваження та пропозиції:

1. У Розділі 1 бажано розширити порівняльну характеристику сучасних фотопротекторів, зазначивши переваги та недоліки представлених на фармацевтичному ринку засобів з органічними та неорганічними УФ фільтрами.

2. Текст дисертації слід було би доповнити обґрунтуванням необхідності визначення фармакокінетики крему з НЦД у світлі доклінічного вивчення даного засобу.

3. У Розділі «Аналіз та узагальнення результатів» доцільно виглядали би переваги крему з НЦД у порівнянні з іншими сонцезахисними кремами, наявними на фармацевтичному ринку.

Проте вказані зауваження та пропозиції не мають принципового характеру, не зменшують науково-практичного значення роботи та не впливають на позитивну оцінку дисертаційної роботи Покотило О. А.

### **Крім того, хотілося би почути відповідь дисертанта на запитання, що виникли у процесі рецензування:**

1. Чим Ви обґрунтовуєте необхідність проведення великого обсягу досліджень з безпеки крему з НЦД, адже це лікарська форма для зовнішнього застосування?

2. Чим обумовлений вибір референтних зразків у дисертаційній роботі – при проведенні скринінгового дослідження та визначенні фотопротекторної активності крему з НЦД на моделях фотодинамічної травми у мурчаків?

3. Чому як АФІ крему Ви обрали церію діоксид саме у вигляді наночастинок? Чи є у цієї сполуки якість переваги, обумовлені розмірним ефектом? Як цей параметр впливає на механізм дії крему з НЦД?

**Відповідність дисертації обраній спеціальності, профілю спеціалізованої вченої ради та вимогам МОН України**

Дисертаційна робота *Покотило Оксани Анатоліївни* «Фармакологічне дослідження крему з наночастинками церію діоксиду» є завершеною науковою роботою, яка присвячена вирішенню актуального наукового завдання, що полягає у експериментальному обґрунтуванні доцільності застосування наночастинок церію діоксиду як активного фармацевтичного інгредієнту, що призначений для розробки фотопротекторних засобів для профілактики ураження шкіри ультрафіолетовим випромінюванням та злжкісних новоутворень, як наслідків такого ураження.

За актуальністю, науковою новизною, практичним значенням, методичним рівнем робота Покотило О. А. «Фармакологічне дослідження крему з наночастинками церію діоксиду» відповідає вимогам, що висуюаються до робіт на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук, викладених у п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 656 від 19.08.2015 р., № 1159 від 30.12.2015 р. та № 567 від 27.07.2016 р.), а її автор заслуговує присудження наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія.

**Офіційний опонент:**

Завідувач кафедри фармакології  
Вінницького національного медичного  
університету імені М. І. Пирогова  
МОЗ України, доктор медичних наук,  
професор

*Увощук*

Н. І. Волощук

18.09.2019 р.



Підпис *Волощук Н.І.*  
завіряю  
в ім'я відділу кадрів  
Вінницького національного  
медичного університету  
імені М. І. Пирогова  
*Н. І. Волощук*  
"18" 09 2019 г.