

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

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

Ультрафіолетове (УФ) опромінення, якому піддається майже все населення планети, є необхідною складовою для утворення вітаміну D в організмі. Внаслідок тривалого впливу УФ променів на шкіру виникають сонячні опіки – еритема, що призводить до передчасного старіння шкіри. За даними ВООЗ щорічно діагностується від 2–3 мільйонів випадків базальноклітинної і плоскоклітинної карциноми і близько 130 тисяч випадків захворювання на злоякісну меланому.

Негативному впливу сонячного опромінення на організм запобігає застосування фотопротекторних лікарських та косметичних засобів, активні компоненти яких поглинають або відбивають УФ промені.

Перераховані вище факти обумовлюють доцільність розробки нових ефективних та безпечних сонцезахисних засобів, в якості яких можуть використовуватись наночастинки церію діоксиду (НЦД), які за даними літератури здатні інактивувати супероксидні, та гідроксильні радикали та впливати на активні форми кисню.

На відміну від існуючих антиоксидантів (супероксиддисмутаза, відновлений глутатіон тощо) CeO_2 здатен до регенерації після участі в окисно-відновному процесі та може повертатися до вихідного стану.

З огляду на вищенаведене дисертаційна робота Покотило О. А. є актуальною, оскільки присвячена фармакологічному вивченню крему з НЦД для використання як фотопротекторного засобу від УФ опромінення.

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

Дисертаційна робота Покотило О. А. є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України «Дослідження фармакологічних та токсикологічних властивостей наночастинок металів та композитів нанодисперсного кремнезему з органічними речовинами» (№ держреєстрації 0116U004905) та «Дослідження фармакологічних властивостей крему з наночастинками церію діоксиду» (№ держреєстрації 0118U001219), у яких автор є співвиконавцем.

Основний зміст дисертації та її структура

Дисертація Покотило О. А. написана логічно, послідовно та складається з анотацій українською та англійською мовами, змісту, переліку умовних позначень, вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, результатів власних досліджень у чотирьох розділах, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел, додатків. Обсяг основного тексту складає 147 сторінок друкованого тексту. Дисертація ілюстрована 27 таблицями та 34 рисунками. Перелік використаних джерел складає 159 найменувань, з них 39 – кирилицею, 120 – латиницею. 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 обґрунтований вибір теми дослідження, зазначений зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, сформульовані мета і завдання дослідження, охарактеризовані наукова новизна і практичне значення отриманих результатів, зазначені особистий внесок здобувача виконаної дисертаційної роботи, публікації та де здійснена апробація результатів дослідження, обсяг і структура роботи.

Огляд літератури – Розділ 1 складається з 4-х підрозділів, в яких розглядається УФ ураження шкіри різного ступеню тяжкості та наслідки після опромінення. Патогенез УФ ураження та його механізм, поширення

захворюваності на меланому в Україні, гендерна розповсюдженість онкопатологій.

У другому підрозділі розглянуті сучасні аспекти застосування фотопротекторів для попередження опіків. В третьому підрозділі розглянуті фармакологічні властивості НЦД. Вказані антиоксидантні, протизапальні та репаративні властивості, підтверджені літературними джерелами. В четвертому підрозділі розглянута безпечність НЦД щодо підгострої токсичності, вплив на репродуктивну та ембріотоксичну активність тварин при внутрішньошлунковому введенні.

У Розділі 2 – Матеріали та методи дослідження – наведені дизайн дослідження і характеристика наносубстанції НЦД та склад крему з НЦД. Субстанція церію діоксиду є нанокompatитом, в якому частинки церію діоксиду іміобілізовані на поверхні алюмосилікатних нанотрубок. Субстанція синтезована шляхом відновлення церію нітрату у водній суспензії алюмосилікатних нанотрубок. В якості допоміжної речовини застосована гідрофільна кремова основа. Як референтний препарат використовували 3% титану діоксид (ТД).

Дослідження проведені на достатній кількості тварин (31 білих мишах, 294 щурах лінії Wistar та 40 кролях породи Шиншила), які утримувалися згідно з прийнятими біоетичними нормами та дотриманням положень щодо захисту лабораторних тварин (Директива Європейського парламенту та ради ЄС 2010/63 ЄС, 22.09.2010 р., Наказ МОН України № 249 від 01.03.2012 р. «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів на тваринах»). Дотримання біоетичних норм засвідчене висновком Комісії з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень Національного медичного університету імені О. О. Богомольця.

В роботі були використані фармакологічні (моделювання фотодинамічної травми) дослідження, дослідження фармакокінетики, токсикологічні дослідження (гострої, хронічної токсичності, гонадотоксичної, ембріотоксичної

та мутагенної дії). Токсикологічні дослідження виконані з визначенням біохімічних, гематологічних та гістологічних показників.

Матеріали досліджень оброблені сучасними статистичними методами аналізу за допомогою параметричних та непараметричних показників.

Третій розділ дисертації присвячений скринінговому дослідженню фотопротекторної активності кремів з НЦД на моделі фотодинамічної травми у мурчаків. Був визначений лідер – крем з НЦД 0,25%, який виявився найбільш ефективним щодо зменшення вираженості еритеми та попередження розвитку запального процесу у мурчаків. За профілактичних умов введення за ефективністю крем з НЦД перевищував референтний крем з ТД.

Четвертий розділ присвячений токсикологічним дослідженням крему з НЦД – гострій токсичності при 2-х способах введення (нашкірному та внутрішньошлунковому) щурам, субхронічній токсичності протягом 90 діб у трьох дозах 0,06, 0,18 та 0,60 г/кг на кролях та хронічній токсичності протягом 6 місяців у трьох дозах 0,1, 0,5 та 1,0 г/кг на щурах. На мій погляд доречно було б взяти однакові дози при вивченні субхронічної та хронічної токсичності.

За результатами вивчення гострої токсичності було встановлено, що крем з НЦД належить до V класу токсичності – практично нетоксичні речовини. За показниками субхронічної токсичності при нашкірному нанесенні кролям протягом 90 діб та нашкірному нанесенню щурам протягом 6 місяців крем з НЦД не впливав на масу тіла, гематологічні та біохімічні показники крові тварин у всіх застосованих дозах, що підтверджено гістологічними даними.

При вивченні гонадо- та ембріотоксичної дії не спостерігалось негативного впливу на сперматогенез та ембріолетальність у тварин при топікальному застосуванні крему з НЦД у трьох досліджуваних дозах (0,1, 0,5 та 1,0 г/кг). Не виявив мутагенної дії крем з НЦД при топікальному нанесенні протягом 7 діб у мишей за показниками частоти хромосомних аберацій та мітотичного індексу у клітинах кісткового мозку. На мій погляд було б доречно

вивчити крем з НЦД *in vitro* на клітинах кісткового мозку. Це було б більш доказово.

П'ятий розділ присвячений дослідженню фармакологічної активності крему з НЦД на моделі фотодинамічної травми, в тому числі посиленої аміфурином. В якості препарату порівняння був використаний крем з ТД.

Експериментально було встановлено, що крем з НЦД дозою 2 мг/см² проявляє фотопротекторну активність, дозволяючи уникнути вираженого запального процесу, на що вказувала менша вираженість еритеми, менша кількість виразок і глибоких уражень шкіри. Спостерігалось зниження вмісту простагландинів P_gE₂ та P_gF_{2α} у шкірі піддослідних тварин на 23,1% і 24,2% у порівнянні з нелікованими тваринами. За цими показниками крем з НЦД перевищував ТД на 8,2%.

Шостий розділ дисертаційної роботи включає дані щодо фармакокінетики крему з НЦД. Крем наносили щурам дозою 5 мкг/см² у перерахунку на церію діоксид без опромінення та після опромінення УФ. Накопичення НЦД у шкірі тварин спостерігали протягом 48 год.

Було доведено, що церій діоксид не всмоктувався в системний кровообіг, не накопичувався в печінці, нирках і селезінці. СеО₂ накопичувався у шкірі протягом 24 годин з подальшим зниженням концентрації на 42%, що має забезпечувати тривалий захист від УФ опромінення.

Аналіз та узагальнення результатів. Автор підсумовує та аналізує отримані результати, викладені у попередніх розділах дисертації, з використанням сучасної літератури. Висновки узагальнюють результати досліджень, є обґрунтованими та логічними, що свідчить про досягнення поставленої мети та завдань роботи. Отже, дисертаційну роботу Покотило О. А. можна вважати завершеною, вона заслуговує позитивної оцінки.

Список використаних джерел оформлений згідно з чинними вимогами, містить 159 джерел, з яких 39 – кирилицею, 120 – латиницею.

Обсяг основного тексту дисертації складає 147 сторінок друкованого тексту. Робота проілюстрована 27 таблицями та 34 рисунками.

Наукова новизна отриманих результатів

В дисертаційній роботі вперше встановлена наявність фотопротекторної активності крему з НЦД 0,25% дозою 2 мг/см² та доведено його безпеку.

За більшістю досліджуваних показників крем з НЦД 0,25% перевищував препарат порівняння – крем з ТД.

Виявлена протизапальна та репаративна активності крему з НЦД, що підтверджено достовірним зниженням вмісту медіаторів запалення P_gE₂ та P_gF_{2a} на 23,1% та 24% у тканині шкіри. Спостерігали значуще зменшення ступеня вираженості еритеми, повну епітелізацію шкірних покривів за 5,86 діб та 9,14 діб у порівнянні з групою контрольної патології.

Встановлено за фармакокінетичними дослідженнями крему з НЦД, що при одноразовому нашкірному нанесенні шурам на фоні фотодинамічної травми крем не абсорбується крізь шкіру та не потрапляє у системний кровообіг.

Проведені розширені токсикологічні дослідження крему з НЦД при нашкірному та внутрішньошлунковому введенні тваринам у діапазоні доз 0,1–1,0 г/кг довели, що крем не впливає негативним чином на масу тіла, макроскопічну структуру та коефіцієнти маси внутрішніх органів. За даними LD₅₀ крем 0,25% НЦД належить до V класу – практично нетоксичні речовини.

Практичне значення отриманих результатів

Наявність фотопротекторної активності та нешкідливість крему з НЦД обґрунтовує доцільність подальших доклінічних та клінічних досліджень в якості фотопротекторного засобу.

За результатами дисертаційної роботи запропоновано спосіб застосування крему з НЦД для профілактики уражень УФ випромінюванням. Отримані дані підтвердженні інформаційним листом про нововведення в системі охорони здоров'я № 303 - 2018 р.

Фрагменти дисертаційної роботи впроваджено в науково-педагогічний процес 6 кафедр фармакології ВНЗ України – Буковинського державного

медичного університету, Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, Дніпропетровської медичної академії МОЗ України, Запорізького державного медичного університету, Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського та Київського медичного університету.

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

Обґрунтованість наукових положень і висновків дисертації Покотило О. А. базується на достатньому обсязі та всебічному аналізі отриманих експериментальних результатів. Дослідження виконані на сучасному науковому рівні з використанням адекватних методів дослідження та експериментальних моделей, за достатньо інформативними показниками. Достовірність отриманих результатів не викликає сумнівів, оскільки базується на параметричних і непараметричних методах статистики. Наукові положення та висновки дисертації є обґрунтованими та узгодженими з метою та завданнями дослідження.

Повнота викладу наукових положень дисертації в опублікованих працях і в авторефераті

За матеріалами дисертації опубліковано 19 наукових праць: 8 статей, серед яких 5 – у наукових профільних виданнях, рекомендованих МОН України, 2 – у зарубіжних наукових профільних виданнях, 10 тез доповідей, 1 інформаційний лист.

Дисертаційна робота та автореферат написані українською мовою з дотриманням наукового стилю. Оформлення автореферату та дисертації відповідає вимогам наказу МОН України № 40 від 12.01.17 р. щодо викладення, об'єму, структури, посилань на джерела літератури. Автореферат відповідає тексту дисертації.

Зауваження до дисертації і автореферату щодо їх змісту і оформлення

Незважаючи на загально позитивну оцінку роботи, виникли деякі зауваження та пропозиції:

1. Зустрічаються деякі помилки технічного характеру: на стор. 49 не вказаний час експозиції фотодинамічного опіку.

2. Стор. 59 не має літературного посилання на метод вивчення сперматогенезу.

3. На стор. 65 у табл. 3.1 використовуються 2 контролі, інтактний та контрольна патологія, в досліді з фотодинамічної травмою. Чи потрібно порівнювати результати з інтактним контролем?

4. Доза крему з НЦД в дисертації зустрічається у відсотках, при вивченні токсичності в мг/кг, при вивченні фармакокінетики в мг/см². На мій погляд, доречно дозу крему вказувати в одному параметрі.

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.

Запитання. У процесі рецензування виникли запитання, на які хотілося би почути відповідь дисертанта:

1. Чи є дисертант співавтором розробки крему з НЦД?

2. Для чого Ви вимірювали гістамін? Що він характеризує на фоні фотодинамічного опромінення?

3. Основними параметрами наночастинок є не тільки розмір, але й концентрація у середовищі або величина питомої поверхні. Це обумовлює їх активність і токсичність. Яка була концентрація церію діоксиду, що розміщений на алюмосилікатних нанотрубках, у зразках кремів?

Висновки про відповідність дисертації встановленим вимогам
Дисертаційна робота Покотило Оксани Анатоліївни «Фармакологічне дослідження крему з наночастинками церію діоксиду» є самостійною, завершеною науковою роботою, яка присвячена вирішенню актуального наукового завдання, що полягає у експериментальному обґрунтуванні доцільності застосування НЦД як активного фармацевтичного інгредієнту, що призначений для розробки фотопротекторних засобів для

профілактики ураження шкіри ультрафіолетовим випромінюванням та злякисних новоутворень, як наслідків такого ураження.

За актуальністю, науковою новизною, теоретичним і практичним значенням, повністю відповідає чинним вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою КМ України № 567 від 24.07.2013 р. (зі змінами), а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія.

Офіційний опонент:

Завідувач кафедри фізіології та анатомії людини
Національного фармацевтичного
університету МОЗ України,
доктор біологічних наук, професор

Л. М. Малоштан

Підпис професора Л.М.Малоштан засвідчу
Начальник відділу кадрів



З.Ф.Подстрелова