

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА

на дисертаційну роботу Садогурської Катерини Володимирівни
«Експериментальне дослідження токсичних та фармакологічних властивостей
нанохрому цитрату», 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 теми дисертації. На сьогодні проблема цукрового діабету (ЦД) з огляду на його поширеність, тяжкість перебігу та ускладнень є однією з найактуальніших у світі. За даними ВООЗ та Міжнародної Діабетичної Федерації (IDF) кількість хворих на ЦД коливається від 1,5 до 4%, особливо у розвинутих країнах світу. В Україні також відбувається зростання захворюваності на ЦД, щорічно кількість хворих збільшується на 5-7%.

До визначних відкриттів людства кінця ХХ століття належить розробка технологій одержання та вивчення властивостей природних і синтетичних матеріалів нанорозмірів. Розвиток нанотехнологій та отримання нових наноматеріалів набуває особливого значення та спонукає науковців до необхідності дослідження їх безпеки для уникнення можливих несприятливих наслідків, як для здоров'я людини, так і навколишнього середовища. В останній час в Україні активно проводяться дослідження щодо вивчення токсикологічних і фармакологічних властивостей наносполук біометалів: срібла, заліза, міді, цинку тощо. Наночастинки та наноструктуровані матеріали вже використовують як нові лікарські засоби, біосенсори та прилади для візуалізації і діагностики.

Перспективними наноструктурами можуть бути і наночастинки хрому. Відомо, що хром як мікроелемент, відіграє важливу роль у вуглеводному, ліпідному обміні. Забезпечує функціонування роботи серцево-судинної системи, захищає судини від холестеринових відкладень, нормалізує артеріальний тиск, перешкоджає розвитку атеросклерозу, виникненню інфарктів та інсультів, разом з йодом підтримує функціонування щитоподібної залози. Хром підсилює дію інсуліну у складі низькомолекулярного органічного комплексу – фактора

толерантності до глюкози (glucose tolerance factor, GTF). Органічні й неорганічні сполуки хрому включено до складу дієтичних добавок, які рекомендують вживати при ЦД 2 типу, ожирінні, гіпертонічній хворобі, тощо.

З огляду на вищенаведене, дисертаційна робота К. В. Садогурської є актуальною, оскільки присвячена вивченню токсикологічних та основних фармакологічних властивостей НХЦ для створення на його основі лікарського засобу з протидіабетичною активністю.

Зв'язок теми дисертації з науковими програмами, планами, темами, грантами. Робота Садогурської К. В. є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри фармації Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет» «Фармацевтичні та медико-біологічні аспекти дії препаратів з антиоксидантною активністю» (номер держреєстрації 0111U006496) та «Фармакологічне та фармакоекономічне обґрунтування застосування засобів з антиоксидантною активністю за ушкодження нирок та органів травлення» (номер держреєстрації 0116U002932), у яких автор є співвиконавцем.

Оцінка змісту дисертації та її оформлення. Дисертаційна робота складається з анотації українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, розділу матеріалів та методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел літератури (250 посилань, з них 145 найменувань – кирилицею, 105 – латиницею), додатків.

Роботу викладено на 165 сторінках комп'ютерного тексту, ілюстровано 20 таблицями та 27 рисунками. Оформлена дисертація відповідає вимогам, затверджених Наказом МОН України № 40 від 12.01.2017 р.

Вступ містить дані щодо актуальності, мети та завдання дослідження, об'єкту і предмету дослідження, методів дослідження, наукової новизни, практичного значення, особистого внеску здобувача, апробації результатів дисертації, обсягу і структури, публікації.

В огляді літератури, який складається з двох підрозділів, які містять данні,

щодо фізико – хімічних властивостей наночастинок, залежність активності від розміру наноструктур. Представлені сучасні досягнення нанофармакології, різноманіття технологічних форм, їх фармакологічна активність та профіль безпеки нанопрепаратів. Пошук нових нанопрепаратів спонукає науковців досліджувати їх безпеку для уникнення можливих несприятливих наслідків як для здоров'я людини, так і навколишнього середовища. Наведена біологічна активність хрому та потенційні можливості застосування нанохрому цитрату (НХЦ) у медичній практиці.

У розділі 2 матеріали та методи дослідження наведені дизайн дослідження і характеристика методів, які були застосовані автором для досягнення поставленої мети.

Дослідження проведено на достатній кількості тварин (370 білих нелінійних щурах та 12 кролях обох статей породи Шиншила), які утримувалися згідно з прийнятими біоетичними нормами та дотримання принципів Європейської конвенції із захисту лабораторних тварин (Страсбург, 1986 р.), закону України «Про захист тварин від жорсткого поводження» №3477-IV від 21.02.2006 р. зі змінами, Наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України №249 від 01.03.2012 р. «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах». Дотримання зазначених вимог засвідчено висновком комісії з питань біомедичної етики БДМУ (протоколи № 9 від 19.06.2014 р.; № 3 від 16.11.2017 р.).

У роботі були використані токсикологічні методи гостра (при різних шляхах уведення), підгостра токсичність (протягом 14 діб), з використанням гематологічних біохімічних, патоморфологічних та кардіологічних показників; фармакологічні (антиоксидантна, гіпоглікімічна на моделі дексаметазонового ЦД, гіполіпідемічна, мембраностабілізувальна активності). Вивчені екскреторна, іонорегулювальна та кислотнорегулювальна функції нирок. Матеріали досліджень оброблені сучасними статистичними методами аналізу за допомогою параметричних та непараметричних показників. Матеріали та методи, використані в роботі, дозволяють об'єктивно та комплексно вирішити її завдання та досягти

поставленої мети.

Третій розділ дисертації присвячений вивченню токсичності НХЦ за різних шляхів (внутрішньошлунково, внутрішньоочеревинно, внутрішньовенно) та режимів (одноразово, тривало) уведення. Згідно токсикологічної класифікації речовин НХЦ за внутрішньошлункового введення належить до III класу (помірно токсичні речовини, DL_{50} 65 мг/кг), а за внутрішньоочеревинного, внутрішньовенного – до II класу (високотоксичні речовини. При тривалому введенні (14 діб) НХЦ у дозах (1; 2,5; 5% від DL_{50}) визначали вплив на загальний стан тварин; масу тіла, масові коефіцієнти внутрішніх органів (печінка, нирки, серце, легені, селезінка, підшлункова залоза), гематологічні показники крові (гемоглобін, лейкоцити, еритроцити, ШОЕ) та гістоструктуру внутрішніх органів.

Проведені дослідження довели не токсичний вплив НХЦ у дозах 0,04 – 0,11 мг/кг на організм тварин і виявлення токсичного впливу НХЦ, починаючи з дози 0,22 мг/кг, що підтвердилось при проведенні патоморфологічних досліджень. Основними органами – мішенями токсичної дії були легені та нирки.

Четвертий розділ присвячений вивченню можливої корекції токсичної дії НХЦ на стан оксидантно/антиоксидантного балансу. За умов тривалого введення НХЦ в умовно – терапевтичній дозі 0,01 мг/кг та більших дозах 3;4,47 мг/кг. Відповідно до даних в умовно – терапевтичній дозі НХЦ виявляє антиоксидантну активність, при збільшенні доз викликає порушення оксидантно – антиоксидантної рівноваги, та проявляє прооксидантну активність. Також параметри ПОЛ- АОС були вивчені у печінці та встановлено дозо – залежний вплив НХЦ.

Далі для корекції токсичного впливу нанохрому цитрату був задіяний тіотриазолін – відомий антиоксидантний лікарський засіб. Сумісне застосування НХЦ в токсичній дозі 3 мг/кг та тіотриазоліну зменшувало прооксидантний вплив НХЦ та підвищувало виживаність щурів, що свідчить про менш токсичний вплив НХЦ разом з тіотриазоліном.

П'ятий розділ складається з п'яти підрозділів, в якому проведені скринінгові дослідження гіпоглікемічної активності НХЦ у широкому діапазоні доз (від 0,25 до 5% від DL_{50}) на інтактних тваринах за різних режимів (одно- та багаторазово) та

шляхів (в/очер., в/ш) уведення. Автор застосовує для вивчення гіпоглікемічної активності модель експериментального ЦД, викликаного дексаметазоном. В якості референс – препарату було застосовано метформін.

При вивченні гіпоглікемічної активності за умов одноразового введення, дисертант визначає рівень глюкози тільки через 2 години. Було б доцільно вивчити фармакодинаміку дії НХЦ протягом декількох годин (2,4,6..) для того, щоб вивчити пік дії гіпоглікемічної активності НХЦ.

При тривалому введенні НХЦ в дозі 0,01 гіпоглікемічна активність знижувалась протягом 14 діб по відношенню до ІК, що може свідчити про ризик розвитку гіпоглікемії.

На фоні експериментального ЦД – II типу було визначено рівень глюкози та інсулінемії та встановлено, що НХЦ зменшував рівень цукру та інсуліну достовірно у порівнянні з контрольною патологією (КП) на 14 добу експерименту. Це може свідчити про зменшення інсулінорезистентності, індукованої дексаметазоном про це також свідчить коефіцієнт чутливості (НОМА– IR під дією НХЦ), що наближається до групи інтактного контролю (ІК). НХЦ був за фармакологічною активністю рівний метформіну.

Відому, що Cr(III) впливає на ліпідний обмін у хворих на ЦД – II типу, зменшує рівень холестерину та підвищує рівень тригліцеридів (ЛПВЩ). Антигіперліпідемічний ефект НХЦ на фоні ЦД супроводжувався нормалізацією порушення показників ліпідного обміну– вірогідно зменшував вміст загальних ліпідів, загального холестерину, та підвищував вміст ЛПВЩ.

Було також досліджено морфоструктуру підшлункової залози (ПЗ) у тварин з експериментальним ЦД та встановлено захисний вплив на гістоструктуру ПЗ НХЦ у порівнянні з метформіном. На мій погляд було б доречно порівнювати гістоструктуру з КП, оскільки метформін (це відомо) не впливає на секреторну активність островців Лангенгарса. Під впливом НХЦ у тварин з експериментальним ЦД встановлено мембраностабілізуючу активність про що свідчило достовірне підвищення осмотичної резистентності мембран еритроцитів.

Практично важливим є встановлення дозозалежного ефекту на

функціональну діяльність нирок та печінки. Після тривалого (14 діб) уведення НХЦ в умовно-ефективній дозі 0,01 мг/кг збільшувався водний діурез, зростала швидкість клубочкової фільтрації, в 2,5 разу збільшувався Na^+/K^+ коефіцієнт в сечі. При збільшенні дози наростали ознаки нефротоксичності. НХЦ підвищував детоксикуючу функцію печінки, у зростаючих дозах скорочував достовірно тривалість сну-наркозу, за рахунок активації мікосомних оксигеназ, які беруть участь в метаболізмі тіопенталу натрію.

Аналіз та узагальнення результатів. Дисертант підсумовує та аналізує отримані результати, викладені у попередніх розділах дисертації. Висновки узагальнюють результати досліджень, є обґрунтованими та логічними, що свідчить про досягнення поставленої мети та завдань роботи. Отже, дисертаційну роботу можна вважати завершеною, яка заслуговує позитивної оцінки.

Список використаних джерел оформлений згідно чинних вимог, містить 250 джерел, з яких 145 найменувань - кирилицею, 105 - латиницею

Наукова новизна отриманих результатів.

У дисертаційній роботі в досліджах на щурах вперше з'ясовано параметри токсикологічної характеристики нової нанополуки – нанохрому цитрату за різних шляхів та режимів уведення.

Розширено уявлення щодо токсикологічної характеристики НХЦ. За умов одноразового внутрішньошлункового введення НХЦ доведена належить до III класу (помірно токсичні речовини), а за внутрішньовенного, внутрішньоочеревинного – до II класу (високотоксичні речовини). За повторних (14 діб, внутрішньоочеревинно) уведень НХЦ у менших дозах (0,01; 0,04; 0,11 мг/кг) не впливає на життєво важливі показники стану тварин, а зі збільшенням дози (0,22 мг/кг) чинить токсичну дію. За основними органами – мішенями токсичної дії НХЦ є дихальна система - легені та нирки.

Уперше доведено корегувальний дозозалежний вплив НХЦ на рівновагу ПОЛ – АОС. За сумісним застосуванням з антиоксидантом тіотриазоліном встановлено зменшення токсичності у високих дозах НХЦ за рахунок пригнічення прооксидантної дії та збільшення тривалості життя.

Отримано нові дані щодо наявності у НХЦ дозозалежної (обернено пропорційної) за умов нормоглікемії гіпоглікемічної активності після одноразового та тривалих уведень. Доведена гіпоглікемічна, антигіперліпідемічна та мембраностабілізувальна активність НХЦ в умовно – терапевтичній дозі 0,01 мг/кг на моделі дексаметазонового ЦД. З'ясовано, що НХЦ зменшує індекс інсулінорезистентності майже до рівня інтактних тварин та не поступається за цим показником метформіну. Встановлено, що НХЦ чинить цитопротекторний вплив на гістоструктуру підшлункової залози (ПЗ) острівців Лангенгарса.

Уточнено дозозалежний вплив НХЦ на показники екскреторної функції нирок. Встановлено поріг доз зростання нефротоксичності, та підвищення детоксикуючої функції печінки.

Отримані дані захищені патентом на корисну модель.

Практичне значення отриманих результатів. Результати даного дослідження будуть рекомендовані для подальшого вивчення перспективної речовини нанохрому цитрату для використання в комплексній терапії і профілактики ускладнень ЦД -II типу.

Матеріали роботи впроваджено в науково-педагогічний процес 5 кафедр вищих навчальних закладів України та відділу токсикології ДУ «Інституту фармакології та токсикології НАМН України».

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

Наукові положення дисертаційної роботи Садогурської К. В. мають достатній рівень обґрунтованості й достовірності, оскільки виконані на сучасному науковому рівні, базуються на адекватних методах дослідження, достатній кількості експериментів, коректній математичній і статистичній обробці даних. Результати вдало представлені таблицями та ілюстровані рисунками.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях і в авторефераті. За матеріалами дисертації опубліковано 20 наукових праць, з них 9 статей, з яких 6 статей опубліковано у фахових журналах, рекомендованих МОН України, 2 статті у зарубіжних виданнях, 10 тез доповідей. Отримано 1 патент

України на корисну модель. Публікації віддзеркалюють основні положення роботи. Автореферат відповідає структурі та змісту дисертації.

Недоліки дисертації і автореферату щодо їх змісту і оформлення. Текст дисертації та автореферату викладено українською мовою з дотриманням наукового стилю. Їх оформлення в цілому відповідає сучасним вимогам МОН України щодо викладення, об'єму, структури, посилань на джерела літератури.

Зауваження: Суттєвих недоліків у дисертаційній роботі та авторефераті не виявлено. Написані вони логічно, з дотриманням існуючих вимог щодо структури, змісту і технічного оформлення. У процесі роботи з дисертацією виникли деякі зауваження.

- Зустрічаються помилки, невдалі вислови сторінка 45,46,72, тощо.
- У таблиці 2.2 не вказано вид тварин
- Початкова доза при вивченні токсичності, при повторному уведенні була 0,9 мг/кг, на мій погляд, було б доцільним починати вивчення токсичності з умовно – терапевтичної дози 0,01 мг/кг.
- Перед початком експерименту не розписані групи досліджуваної матеріалів і методи або у розділах власних досліджень.

Запитання: У порядку дискусії бажано було б почути відповіді на наступні запитання:

1. Для чого Ви вивчали підгостру токсичність та специфічну активність у різних способах уведення, якщо НХЦ буде застосовуватися перорально?
2. Як Ви можете пояснити підвищення гіпоглікемічної активності НХЦ протягом 14 діб?
3. Чому в якості препарату порівняння Ви використовували метформін при вивченні гістоструктури підшлункової залози?

Рекомендації щодо використання матеріалів дисертації у практиці

Проведені автором експериментальні дослідження дозволяють рекомендувати до подальших доклінічних випробувань новий нанохрому цитрату з метою розробки ефективного лікарського препарату для комплексного лікування у профілактиці ускладнень ЦД –II типу.

Результати дисертації можуть бути використанні у науково – дослідницькому та науково – педагогічному процесах.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.
Дисертаційна робота Садогурської Катерини Володимирівни за темою «Експериментальне дослідження токсичних та фармакологічних властивостей нанохрому цитрату» є самостійною, завершеною науково-дослідною працею. За своєю актуальністю, науковою новизною отриманих результатів, теоретичною і практичною цінністю повністю відповідає чинним вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів 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 засвідчую
Начальник відділу кадрів

З.Ф. Подстрелова