

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію Гринь Ірини Василівни «Фармакологічна ефективність мазі на основі тіотриазоліну та наночасток срібла при експериментальному термічному ушкодженні шкіри», представленої до спеціалізованої вченої ради Д 26. 550. 01 при ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія

Актуальність теми дисертації.

Актуальною і недостатньо розробленою проблемою сучасної медицини є патогенез і лікування опіків. Вони виникають на виробництві, в побуті і досить часто мають летальні наслідки. Зростаюча енергоозброєність сучасного виробництва, побуту, військові дії у різних країнах, широке використання хімічних речовин, які легко запалюються, вогненебезпечних газів, створення нових видів зброї значно збільшують частоту опіків у всьому світі. Глибокі поширені опіки характеризуються не лише пошкодженням покривних тканин, а й викликають різноманітні, тривалі і своєрідні загальні морфологічні й функціональні зміни всіх органів і систем організму, які об'єднуються нозологічним поняттям “опікова хвороба”. За даними ВООЗ, питома вага опіків серед травм мирного часу складає від 5,6 до 10%; вони займають третє місце в структурі загального травматизму.

Проте актуальність цієї проблеми визначається не тільки частотою, але й важкістю ураження, різноманітністю і тяжкістю ускладнень та високою смертністю, що у значній мірі залежить від вибору засобів патогенетичної фармакотерапії. Перспективним напрямком фармакології є створення нових препаратів шляхом посилення протизапальних і репаративних властивостей відомих засобів при застосуванні нанотехнологій. Проведені раніше дослідження протизапальної активності нової мазі тіотриазоліну, що містить наночастки срібла (НЧС), на моделі ультрафіолетової еритеми дають підставу припустити ефективність цього засобу для лікування термічних уражень шкіри, що потребує додаткових цілеспрямованих зусиль і робить дисертаційну роботу Гринь Ірини Василівни необхідною та своєчасною.

Зв'язок роботи з державними та галузевими науковими програмами, планами, темами.

Дисертація виконана у рамках НДР Харківського національного медичного університету МОЗ України «Механізми і фармакологічна корекція УФ-індукованих пошкоджень шкіри» (№ державної реєстрації 0113U002281). Здобувач була співвиконавцем теми.

Оцінка змісту дисертації

Дисертація побудована за традиційною схемою, викладена на 190 сторінках друкованого тексту і складається з анотації, вступу, огляду

літератури, розділу «Матеріали та методи досліджень», 5-ти розділів результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел та додатків.

У вступній частині чітко сформульовані актуальність теми, мета та задачі дослідження, наукова новизна та практичне значення отриманих результатів.

Огляд літератури присвячений характеристиці сучасних уявлень про механізми термічних ушкоджень шкіри, основні принципи фармакотерапії опіків, механізми дії наночасток срібла та доцільність їхнього використання для фармакотерапії термічних ушкоджень шкіри.

У другому розділі «Матеріали та методи дослідження» описано методiku моделювання термічного опіку, представлені сучасні фармакологічні, імуноферментні, біохімічні, морфологічні, планіметричні та статистичні методи дослідження.

У 3-му розділі дана порівняльна оцінка впливу препаратів «Мазь тіотриазоліну 2%», «Мазь метилурацилова 10%», мазь «Сульфатіазол срібла» та мазь тіотриазоліну з НЧС на динаміку місцевих проявів загоєння та загальних реакцій організму при експериментальному термічному опіку.

У 4-му розділі дисертації представлено результати дослідження зазначених засобів на вміст інтерлейкінів (IL) 1 β , -10 та фактора некроза пухлини- α (TNF- α) у крові й вогнищі ушкодження. З'ясовано відмінності дії препаратів на склад зазначених цитокінів за умов експерименту.

П'ятий розділ присвячено дослідженню впливу наведених лікарських засобів на вміст метаболітів оксиду азоту в сироватці крові й вогнищі ушкодження. Виявлено особливості впливу засобів, що досліджувалися, на показники нітрозативного стресу.

У 6-му розділі дисертації представлено результати дослідження впливу зазначених мазей на прооксидантно-антиоксидантний статус у вогнищі ушкодження. Доведена ефективність мазі тіотриазоліну з НЧС щодо корекції окисно-антиоксидантного гомеостазу при термічному опіку.

Сьомий розділ присвячено дослідженню наведених лікарських засобів на морфологічні зміни шкіри при термічному ушкодженні шкіри. Показано, що у групі тварин із застосуванням мазі тіотриазоліну з НЧС, порівняно з контрольною групою та референтними препаратами, ці зміни були найменш виражені, що дозволило автору зробити висновок про ефективність і доцільність застосування нової мазі для лікування опіків.

8-й розділ присвячено аналізу та узагальненню результатів проведених досліджень. При цьому автор проявила себе зрілим науковцем, який досконально знає проблему, яку вивчає, вірно оцінює отримані результати, належним чином співставляє їх між собою та літературними даними і робить цілком обґрунтовані висновки.

Висновки дисертації базуються на фактичному матеріалі, чітко обґрунтовані і повністю віддзеркалюють результати проведеного дослідження.

Список літературних джерел оформлений згідно з вимогами держстандарту і містить 214 найменувань, 144 із яких написані кирилицею, а 70

– латиницею. У списку переважають публікації останніх 10 років. Текст дисертації проілюстровано 42 рисунками, 1 схемою й 18 таблицями.

Додатки складаються з актів про впровадження результатів дисертації в навчальний процес, переліку праць, опублікованих за темою дисертації, та відомостей про апробацію результатів дослідження.

Автореферат дисертації побудований згідно з вимогами МОН України і за змістом цілком відповідає дисертації і надає повне уявлення про її зміст.

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

Отримані автором результати та розроблені на їх основі положення та висновки базуються на достатній кількості експериментальних досліджень. Ці дослідження проведено на 126 статевозрілих щурах лінії WAG масою 200-250 г. Усі процедури з тваринами проводили відповідно до вимог Європейської конвенції по захисту хребетних тварин (Страсбург, 1986 р.). Комісією з питань етики та біоетики Харківського національного медичного університету (протокол № 9 від 2 грудня 2015 р.) порушень морально-етичних норм при проведенні НДР не виявлено.

Вміст прозапальних і протизапальних цитокінів (IL-1 β , TNF- α і IL-10) у вогнищі й периферичній крові визначали імуноферментним методом. Окрім того досліджено вміст метаболітів NO (в крові й вогнищі ушкодження) та стан прооксидантно-антиоксидантної системи (у вогнищі ураження) з використанням сучасних біохімічних методів дослідження. Автором також застосовано морфологічні та планіметричні методи дослідження зразків шкіри.

Методики дослідження, що описані в роботі, можуть бути відтвореними і повністю відповідають меті та завданням дослідження.

Вірогідність результатів підтверджено статистичною обробкою отриманих цифрових даних на персональному комп'ютері з використанням програм «Excel» (Microsoft Corp., США) і «Statistica» (StatSoft, США). Проводився тест на нормальність розподілу Шапіро-Уїлка. Порівняння параметрів двох незалежних змінних при нормальному розподілі проводилися за допомогою t-тесту (Ст'юдента). Для порівняльного аналізу двох незалежних вибірок з дисперсії ненормального розподілу використовували U-тест Манна-Уїтні. Множинні порівняння проводилися за допомогою дисперсійного аналізу (ANOVA) при нормальному розподілі та рангового критерію Крускала-Уолліса при ненормальному розподілі.

Достовірність результатів дослідження не викликає сумнівів, оскільки базується на адекватній моделі термічного ушкодження шкіри та сучасних інформативних методах дослідження з використанням коректної статистичної обробки цифрового матеріалу. Всі теоретичні узагальнення та висновки дисертації базуються на результатах власних досліджень і повністю віддзеркалюють закономірності, які були виявлені в ході проведених експериментів. Тому є всі підстави стверджувати, що наукові положення та висновки дисертації Ірини Василівни є цілком обґрунтовані і узгоджені з метою

та задачами дослідження.

Наукова новизна отриманих результатів

Автором експериментально підтверджено, що внесення НЧС у мазь тіотриазоліну покращує її протизапальні, регенеративні та антиоксидантні властивості. Доведено переваги цієї мазі перед референтними препаратами (мазью тіотриазоліну, мазью метилурациловою та мазью «Сульфатіазол срібла») за рівнем терапевтичної ефективності.

Виявлено, що застосування мазі тіотриазоліну з НЧС сприяє більш інтенсивному перебігу репаративних процесів, ніж при використанні препаратів порівняння, що підтверджується обмеженням деструктивного процесу в межах епідермісу та дерми, відсутністю гнійно-некротичних ускладнень, прискоренням епітелізації та повним закриттям дефекту у процесі загоєння термічного опіку.

Показано, що мазь тіотриазоліну, яка містить НЧС, обмежує за умов термічного опіку концентрацію прозапальних цитокінів IL-1 β та TNF- α у вогнищі й крові та нормалізує вміст протизапального IL-10, дефіцит якого спостерігається при опіковій травмі. За впливом на цитокіновий профіль мазь, що досліджувалася, перевершує препарати порівняння.

Автором доведено, застосування мазі тіотриазоліну з НЧС є більш ефективним порівняно з референтними препаратами щодо нормалізації показників системи NO (в крові та вогнищі ураження) та прооксидантно-антиоксидантного статусу (у вогнищі термічного ушкодження).

Практичне значення результатів дослідження

На підставі проведених експериментальних досліджень обґрунтована доцільність створення мазі тіотриазоліну з НЧС з політропним механізмом дії (стимулюючою регенерацію, протизапальною, імуностимулюючою, антиоксидантною) та її застосування для лікування термічних опіків шкіри. За матеріалами дисертаційної роботи отримано інформаційний лист № 148-2014 про нововведення у сферу охорони здоров'я «Інноваційні підходи до підвищення фармакологічної ефективності мазі, що містить тіотриазолін, за рахунок включення наночасток срібла».

Результати дисертації впроваджено в навчальний процес кафедри фармакології Національного медичного університету ім. А. А. Богомольця (м. Київ); кафедри біофізики, біохімії, фармакології та біомолекулярної інженерії медичного інституту Сумського державного університету (м. Суми); кафедри клінічної фармації, фармакотерапії та медичної стандартизації Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького (м. Львів); кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету (м. Харків); у науково-дослідний процес роботи лабораторії лікарської й промислової токсикології ДП «ДНЦЛЗ» МОЗ України (м. Харків).

Особистий внесок здобувача

Автором проведено патентно-інформаційний пошук, проаналізовано наукову літературу за темою дисертації, спільно з керівником визначено мету й завдання дослідження, самостійно відтворені моделі, відповідно до яких виконані експерименти, оброблені отримані результати, проведено їх аналіз та узагальнення, сформульовані висновки, написані та оформлені всі розділи дисертації. У роботах, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал й основний творчий доробок: результати власних експериментальних досліджень, участь в аналізі та узагальненні отриманих даних, підготовлено статті до друку.

Апробація результатів дисертації

Основні наукові положення та висновки дисертації доповідалися й обговорювалися на конференції молодих вчених і студентів «Медицина третього тисячоліття» (Харків, 2014), VI Міжнародній студентській електронній науковій конференції «Студентський науковий форум 2014» (Москва, 2014), XXI Російському національному конгресі «Людина і ліки» (Москва, 2014), Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Молодіжний форум з нанобіотехнологій YOUTH NANOBIOTECH – 2014» (Київ, 2014), Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми експериментальної та клінічної медицини» (Таїланд, 2014), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання експериментальної і клінічної біохімії та фармакології» (Тернопіль, 2014), VII Міжнародній студентській електронній науковій конференції «Студентський науковий форум 2015» (Москва, 2015), XXII Російському національному конгресі «Людина і ліки» (Москва, 2015), Міжнародній науково-практичній конференції «Світова медицина: сучасні тенденції та фактори розвитку» (Львів, 2015), Науково-практичній конференції з міжнародною участю «14-е читання ім. В. В. Підвисоцького» (Одеса, 2015), Науково-практичній конференції з міжнародною участю «15-е читання ім. В. В. Підвисоцького» (Одеса, 2016), VII Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції», присвяченого пам'яті академіка НАНУ О.О. Мойбенка (Харків, 2016), сесії «Конструктивні та функціональні наноматеріали для медицини» Наукової ради з нових матеріалів при Комітеті з природничих наук Міжнародної асоціації академій наук (Київ, 2016), сесії «Функціональні наноматеріали для медицини» Наукової ради з нових матеріалів при Комітеті з природничих наук Міжнародної асоціації академій наук (Київ, 2017).

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях та авторефераті.

За результатами дисертації опубліковано 14 наукових праць, зокрема 8 статей у наукових фахових виданнях України та інших держав, з них 2 статті – у іноземних виданнях, а також 6 тез у матеріалах конгресів і конференцій.

Недоліки дисертації, автореферату щодо їх змісту та оформлення

Позитивно характеризуючи дисертацію в цілому, необхідно звернути увагу на деякі її недоліки:

1. Автор у тексті дисертації та авторефераті вказує, що вміст цитокінів IL-1 β , TNF- α , IL-10 у периферичній крові і тканинах визначали імуноферментним методом з використанням комерційної тест-системи фірми «Bender MedSystem» (Німеччина) на імуноферментному аналізаторі «Labline-90» (Австрія). Проте у тексті мало бути зазначено, що використовувалися адекватні реагенти для визначення цих цитокінів саме у щурів.

2. Автор досліджувала рівень метаболітів NO, до яких відносить такі показники – загальні, нітрит-аніон, нітрати. Проте після ознайомлення з методикою дослідження звертає на себе увагу, що «загальними метаболітами» є сума концентрацій нітрат- і нітрит-йонів. Оскільки весь комплекс метаболітів NO не обмежується цими компонентами напевно чи коректно їх називати «загальними». Окрім того, автор досліджувала не конкретні солі азотної кислоти (нітрати), а нітрат-йони, які так і потрібно було називати.

3. Некоректним є висловлювання «фарбування препаратів пікрофусином за методом Ван Гізона», оскільки автором методу є жінка - американський патолог Айра Ван Гізон.

4. Дисертація є фундаментальною роботою, проте має суттєве практичне значення. На підставі виявлених фармакологічних закономірностей доцільним було би формулювання цінних практичних рекомендацій, які відсутні.

5. Зустрічаються поодинокі орфографічні та стилістичні помилки.

У плані дискусії хотілось би почути думку дисертанта на такі питання:

1. Як Ви уявляєте механізм нормалізації у крові IL-10 на 14 добу після термічної травми шкіри під впливом мазі тіотриазоліну, що містить наночастки срібла? Яке значення в цьому ефекті належить власне тіотриазоліну, і яке НЧС?

2. Як би Ви могли б охарактеризувати тип взаємодії тіотриазоліну та наночасток срібла у складі мазі (адидія, потенціювання тощо)?

3. Що Ви розумієте під терміном «стабілізація системи оксиду азоту»? Чи є це нормалізацією процесів, залежних головним чином від індукцйбельної ізоформи NO-синтази, чи має також значення стан конститутивних NO-синтаз та нітритредуктазного шляху утворення оксиду азоту?

4. На підставі якого методичного підходу Ви розташували препарати за фармакотерапевтичною активністю: мазь тіотриазоліну з НЧС > мазь тіотриазоліну $\geq$ мазь сульфатіазолу срібла $\geq$ мазь метилурацилова? І чому саме більше-равно ($\geq$)?

Зауваження не змінюють загальну позитивну характеристику роботи. Основні наукові положення та висновки автора не підлягають сумніву.

Висновок про відповідність дисертації вимогам МОН України

Дисертація Гринь Ірини Василівни виконана за фахом 14.03.05 – фармакологія (медичні науки) згідно з паспортом спеціальності.

Робота є закінченим і самостійним науковим дослідженням, актуальна, виконана на достатньому експериментальному матеріалі з використанням

сучасних методів досліджень, містить оригінальні, принципові та суттєві, раніше не захищені наукові положення.

Загальний висновок – проведений аналіз показує, що дисертація Гринь Ірини Василівни «Фармакологічна ефективність мазі на основі тіотриазоліну та наночасток срібла при експериментальному термічному ушкодженні шкіри» є закінченою науковою працею, що містить нове вирішення важливого наукового завдання щодо експериментального доведення та обґрунтування доцільності створення і застосування при термічному ушкодженні шкіри мазі на основі тіотриазоліну з включенням наночасток срібла.

За актуальністю дослідження, новизною, теоретичною і практичною цінністю результатів дослідження, рівнем опублікування та оприлюднення результатів дисертація Гринь Ірини Василівни «Фармакологічна ефективність мазі на основі тіотриазоліну та наночасток срібла при експериментальному термічному ушкодженні шкіри» відповідає п.11 Порядку присудження наукових ступенів, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24 липня 2013 року, а дисертантка заслуговує на присвоєння їй наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія.

Офіційний опонент,
завідувач кафедри патофізіології Вищого
державного навчального закладу України
"Українська медична стоматологічна академія"
МОЗ України, доктор медичних наук,
професор

В.О. Костенко

Підпис засвідчую

Вчений секретар, доцент Філатова В.Л.

