

## ВІДГУК

*офіційного опонента на дисертаційну роботу Сініциної Оксани Сергіївни «Фармакологічне дослідження нових вагінальних лікарських форм для корекції гіпоестрогенових станів», 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 дисертації**

Поточна демографічна ситуація в Україні характеризується постарінням населення та збільшенням у загальній популяції питомої ваги жінок старшого віку. Згідно з прогнозами ВООЗ до 2030 року в світі у періоді постменопаузи будуть перебувати 1,2 млрд. жінок, а серед жінок України їх частка буде дорівнювати майже половину. Внаслідок медико-соціальних та екологічних факторів простежується тенденція до зростання частоти передчасної ранньої менопаузи. У 23,1 % жінок вона настає до 45 років. Середня тривалість життя жінок у Європі 75-80 років, а середній вік настання менопаузи 51,5 років, в Україні ці показники 72 та 48,7 років відповідно. Третину свого життя жінки проводять у менопаузі.

Не зважаючи на те, що клімакс – це поступове фізіологічне згасання функції яєчників, внаслідок прогресуючого естрогендефіциту у 85% жінок він супроводжується розвитком патологічного клімактеричного (менопаузального) синдрому (КС) – комплексу нервово-психічних, вегето-судинних, обмінно-трофічних, уrogenітальних порушень: до 78% жінок відчувають «припливи жару», близько 50% скаржаться на наявність депресивних розладів, безсоння, ослаблення пам'яті, мають артеріальну гіпертензію та ішемічну хворобу серця. Це значно погіршує якість життя та відбивається на працездатності жінок. У 11–12 % жінок розвивається менопаузальний остеопороз, внаслідок чого у 40 % осіб, які досягли віку 70 років, і 50 % віком 75 років і більше, виникають переломи кісток та хребта. На 4 з 10 жінок чекає один або більше остеопоротичних переломів протягом життя. Після переломів шийки стегнової кістки летальні ускладнення виникають у 2,8 % жінок, що дорівнює показнику летальності при злоякісних пухлинах молочної залози (Поворознюк В.В., 2005).

Лікування ускладнень КС потребує значних фінансових витрат з боку держави, що важким тягарем покладаються на систему охорони здоров'я та родину. Враховуючи підвищення пенсійного віку в Україні до 60 років, важливість збереження працездатності і соціально важливих функцій жінок ставлять перед медициною і фармацією важливі завдання щодо необхідності пошуку більш ефективних методів профілактики і лікування КС. Замісна менопаузальна гормональна терапія (МГТ), що вважається золотим стандартом лікування КС, усуває більшість симптомів, покращує якість життя жінок, проте необхідно враховувати ризик виникнення побічних ефектів, тромбозів і інших ускладнень, що є особливо важливим у пацієнтів з вже наявними предикторами метаболічних порушень, зокрема, з цукровим діабетом, серцево-судинною патологією. До того ж прихильність до такого методу терапії залишається низькою, навіть у Франції та Швейцарії МГТ використовують 35–40% жінок, в Польщі, Чехії та Угорщині – 5–10%, а в Україні число таких жінок не перевищує 1%. З того часу як крупні фармакоепідеміологічні дослідження щодо довготривалого застосування МГТ, таких як Ініціатива заради здоров'я жінок (Women's Health Initiative), Дослідження мільйона жінок (Million Women Study), виявили невеликий, проте достовірний ризик розвитку інвазивного раку молочної залози, зростає увага до негормональної терапії ускладнень КС, зокрема до використання лікарських препаратів і дієтичних добавок, що містять фітоестрогени, природні метаболіти сполучної тканини, аміноцукор глюкозамін тощо.

З огляду на вищезазначене, дисертаційне дослідження Сініциної Оксани Сергіївни, присвячене фармакологічному вивченню нових лікарських форм для корекції гіпоестрогенових станів є своєчасним і актуальним.

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

Дисертаційну роботу виконано у межах науково-дослідних програм Національного фармацевтичного університету «Фармакологічні дослідження біологічно-активних речовин і лікарських засобів синтетичного походження, їхнє застосування у медичній практиці», № державної реєстрації 0103U000478, «Фармакологічне вивчення біологічно-активних речовин та лікарських засобів»,

№ державної реєстрації 0114U000956. Дисертант є співвиконавцем зазначених тем.

### **Наукова новизна одержаних результатів**

Результати характеризуються високим ступенем новизни. Дисертант уперше провів всебічне фармакологічне вивчення нових вагінальних гелів з глюкозаміну гідрохлоридом, екстрактом хмелю та аскорбіною кислотою, екстрактом хмелю та молочною кислотою і порівняв їх лікувальні властивості із гормональним естрогеновмісним препаратом «Овестін» на моделі гіпоестрогенових станів. Отримані результати обґрунтовують доцільність розробки нових препаратів запропонованого складу та захищені патентом.

Автором дослідження вперше показано, що глюкозаміну гідрохлорид, як попередник синтезу глікозаміногліканів, здатний виявляти аналогічну гіалуронової кислоті протекторну дію на слизову оболонку піхви у тварин з дефіцитом естрогенів за умов місцевого застосування у формі вагінального гелю.

Розширено наукові дані щодо здатності екстракту хмелю виявляти фармакологічну дію не тільки за умов ентерального, але й вагінального шляху введення. Встановлено, що у оварієктомованих тварин після лікування вагінальними гелями з екстрактом хмелю, незалежно від коректору рН (аскорбінової або молочної кислоти), виявлялися ознаки системної дії: відбувалося вірогідне підвищення вмісту естрадіолу та прогестерону в порівнянні з контрольною патологією, нормалізувався біоценоз піхви подібно дії препарату порівняння, показник рН вагінального секрету відновлювався до фізіологічних значень. Це позитивно відбивалося на психосоматичному стані щурів, що виявлялося помірним в зменшенням тривожності, помірним посиленням когнітивної функції та усуненням проявів депресії. Доведено вірогідне покращення реологічних властивостей крові, а саме, часу згортання крові та зменшення концентрації фібриногену відносно групи контрольної патології. Гістологічними дослідженнями підтверджено відновлення морфофункціонального стану слизової оболонки піхви після лікування гелями. Отримано нові дані щодо механізмів впливу гелю з екстрактом хмелю та молочною кислотою на метаболізм кісткової тканини та його здатності гальмувати розвиток остеопоретичних змін у

оварієктомованих тварин за рахунок збереження життєздатності остеоцитів, зростання кількості остеобластів. Встановлено, що за токсикологічними властивостями гель з екстрактом хмелю та молочною кислотою відноситься до класу практично нетоксичних речовин (V клас токсичності) за класифікацією К. К. Сидорова.

### **Практичне значення результатів дослідження**

Отримані результати відзначаються практичною цінністю та обґрунтовують доцільність розробки нових вагінальних гелів з глюкозаміну гідрохлоридом, екстрактом хмелю та аскорбіновою кислотою, екстрактом хмелю та молочною кислотою для подальшого впровадження у клінічну практику.

Гель комбінованого складу з екстрактом хмелю та молочною кислотою, що за сумарним рейтингом досліджуваних показників виявив найбільшу ефективність при гіпоестрогенових станах, впроваджено як косметичний засіб у промислове виробництво на фармацевтичному підприємстві ТОВ «Чиста флора». Автором вдосконалено існуючі підходи до лікування атрофічних урогенітальних менопаузальних розладів, що виникають внаслідок естрогендефіцитних станів, за допомогою нових вагінальних лікарських форм, до складу яких введено екстракт хмелю та коректор рН – молочну кислоту (інформаційний лист МОЗ України № 43-2016, 2016 р.). Запропоновано гель комбінованого складу для лікування та профілактики при гіпоестрогенових станах у гінекології (патент України на корисну модель № 103042 від 25.11.2015 р.).

Матеріали дослідження впроваджено у науково-педагогічний процес на профільних кафедрах ВНЗ України медичного профілю та науково-дослідний процес лабораторії репродуктивної ендокринології ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України».

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

Результати дисертації Сініциної О. С. ґрунтуються на значному обсязі досліджень і достатній кількості спостережень у різних серіях дослідів, сучасних методичних засадах. Дисертант дотримувався стандартизованих умов експерименту, спирався на чинні методичні рекомендації, застосовував адекватні

статистичні методи опрацювання результатів. Вище зазначене сприяло об'єктивному викладенню результатів і висновків. Робота добре проілюстрована у таблицях, рисунках, фотографіях гістологічних мікропрепаратів. Тому всі наукові положення та висновки дисертації слід вважати обґрунтованими і достовірними.

### **Основний зміст дисертації та його оцінка**

Загальні відомості про роботу. Дисертаційна робота О. С. Сініциної оформлена відповідно до чинних вимог щодо даного типу кваліфікаційних робіт, має загальноприйнятну структуру і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку літератури, що включає 350 найменування (з них 146 кирилицею, 204 латиною). Загальний обсяг дисертації складає 199 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 40 таблицями та 60 малюнками.

Вступ написаний лаконічно із включенням посилань на дослідження вітчизняних та іноземних авторів, що займаються близькою тематикою. Він є достатнім як з позиції актуальності обраної теми, так і сформульованої мети та задач досліджень. Охарактеризовано наукову новизну дослідження та її практичне значення. Наведено дані щодо публікацій та апробації основних, базових результатів досліджень.

Перший розділ роботи присвячений детальному обговоренню питань фармакологічної корекції патологічних змін в організмі жінок, пов'язаних з гіпоестрогеновим станом. У першому і другому підрозділах автор демонструє глибину розуміння як фізіологічних процесів жіночої репродуктивної системи, так і механізму розвитку вікових змін в нервовій, серцево-судинній, опорно-руховій, уrogenітальній системах. Пояснюються патогенетичні аспекти докладно описаних клінічних симптомів - ранніх вазомоторних і емоційно-психічних змін, середніх за часом змін уrogenітального тракту і шкіри, пізніх порушень обмінних процесів. Естрогени мають значний вплив на фізіологічні функції практично всіх тканин і, отже, зменшення їх кількості є провідною причиною вікових змін при згасанні репродуктивної системи. Другий підрозділ містить велику кількість даних клінічних і експериментальних досліджень, що

підтверджують етіологічну і патогенетичну обґрунтованість менопаузальної замісної терапії. Аналіз літературних даних привів автора до висновку, що ефективність цієї терапії залежить від ряду умов (зокрема, часу початку терапії, поєднання з іншими гормональними речовинами), підвищується при використанні її в комплексі з іншими медикаментозними і немедикаментозними прийомами, має значну кількість побічних ефектів, ускладнень (ІХС, інсульт, тромбоемболія, рак) і протипоказань. Зроблено висновок про те, що засоби замісної терапії здатні контролювати симптоми гіпоестрогенових станів, але не можуть служити засобом профілактики хронічних захворювань. У четвертому підрозділі дисертант розкриває можливості використання при корекції клімактеричних розладів деяких флавоноїдів, що мають структурну схожість з природними гормонами - естрогенами. Це фітоестрогени, що належать класам: ізофлавоноїди, лігнани і куместани. Використання фітоестрогенів зменшує інтенсивність менопаузальних розладів, таких як «припливи жару», кардіопатії, остеопороз, проатерогенні зміни ліпідного профілю крові, позитивно впливає на артеріальний тиск, ендотеліальну дисфункцію, когнітивні характеристики, стан шкіри. На основі природних фітоестрогенів створені аллопатичні, гомеопатичні і парафармацевтичні препарати, аналіз фармакодинаміки яких представлений. Увагу автора привернули дані літератури щодо екстракту шишок хмелю, що має багатий хімічний склад і виявляє естрогеноподібну активність завдяки наявності пренілфлавоноїдів. 8-пренілфлавоноїд є першим фітоестрогеном селективним до естрогенових рецепторів альфа типу. Дисертант наводить дані експериментальних і клінічних досліджень цієї речовини, які свідчать про його здатність знижувати концентрацію ЛГ і ФСГ, нівелювати «припливні» симптоми, сексуальні проблеми, позитивно впливати на кісткову тканину. Вважається, що 8-пренілфлавоноїд більш перспективний для створення препаратів негормональної терапії клімактеричних розладів, ніж геністеїн сої. П'ятий підрозділ висвітлює літературні дані про участь глікозаміногліканів в функціонуванні репродуктивної системи жінки. Так, вони беруть участь в процесах синтезу гонадотропних гормонів, сприяють овуляції і ембріональної

імплантації, впливають на реологічні властивості вагінального і цервікального слизу, проте в період менопаузи значно знижуються темпи утворення рівень глікозаміногліканів, що вважають причиною геніального пролапсу, появи зморшок, старіння шкіри. Підсумовуючи, автор припускає, що глюкозамін може бути використаний для корекції деяких дисфункцій в менопаузальному періоді.

Другий розділ містить докладний опис матеріалів і методів дослідження. Склад вагінальних гелів теоретично обґрунтований, вони містять екстракт шишок хмелю, аскорбінову кислоту, молочну кислоту, глюкозаміну гідрохлорид. Дослідження проведені на 114 самках білих щурів з дотриманням етичних принципів. Гіпоестрогеновий стан моделювали шляхом видалення основної гормонпродукуючої залози – яєчників. Складний симптомокомплекс при гіпоестрогеному стані, що моделюється, та його фармакологічну корекцію оцінювали за широким спектром показників: мікробіологічний пейзаж піхви, кислотність вагінального секрету, мікроскопічна структура тканин матки і піхви, рівень статевих гормонів в крові, динаміка маси тіла, зміни температури шкіри, функціональні характеристики нервової системи, реологічні показники крові, морфологічна структура серцево-судинної системи і кісткової тканини. Оцінку нешкідливості досліджуваних препаратів проводили в умовах гострого і хронічного введення. Методичні прийоми адекватні і релевантні, широкоживані в сучасних експериментальних дослідженнях, дозволяють довіряти отриманим результатам.

Третій розділ дисертації автор присвятив результатам дослідження фармакологічної активності вагінального гелю з глюкозаміну гідрохлоридом. Досліджуваний препарат в 1,4 рази знижує рН середовища піхви і одночасно позитивно впливає на біоценоз (зменшує кількість умовно-патогенних мікроорганізмів і сприяє зростанню лактобактерій). Інтравагінальне введення гелю з глюкозаміну гідрохлоридом спровокувало деяке збільшення концентрації естрадіолу і прогестерону в крові, збільшився час згортання крові в 1,2 рази і знизився вміст фібриногену в 1,2 рази. За впливом на біометричні показники рогів матки і наявність цервікального слизу оварієктомованих

тварин досліджуваний гель поступався препарату порівняння – супозиторії овестін. Незважаючи на те, що у гелю з глюкозаміну гідрохлоридом не виявлено типовою естрогеноподібною активності, є доказ зниження прояв ендотеліальної дисфункції в піхві та матці - у всіх шарах стінки рогів матки посилюється васкуляризація і відсутній спазм судин.

У четвертому розділі представлені докази перспективності клінічного застосування вагінального гелю з екстрактом хмелю і аскорбінової кислотою. Вибір аскорбінової кислоти не випадковий, так як вона впливає на синтез статевих гормонів, підвищує вміст естрогену в тканинах органів генітального тракту, регулює кислотність вагінального середовища. Спираючись на дані власних досліджень, дисертант робить висновок про позитивний вплив досліджуваного гелю на стан генітального тракту і організму в цілому у оваріоектомованих тварин. Так, вагінальний гель сприяє нормалізації біоценозу піхви, знижує рН його середовища, попереджає дегенеративні зміни макро- і мікроструктури піхви і матки, підвищує рівень статевих гормонів, знижує вираженість вазомоторних порушень і покращує реологічні властивості крові, попереджає розвиток дисгормональної кардіоміопатії та ендотеліальної дисфункції. Про поліпшення стану організму оперованих тварин у групі контрольної патології в цілому та нервової системи зокрема свідчать результати поведінкового тестування: поліпшення когнітивної функції, посилення дослідницької та рухової активності, анксиолітична дія.

П'ятий розділ дисертант присвятив висвітленню результатів досліджень активності вагінального гелю з екстрактом шишок хмелю і молочною кислотою в умовах гіпоестрогенового стану у тварин. Дана комбінація значніше, ніж попередня контролює біоценоз нижніх відділів генітального тракту, зокрема кількість лактобактерій збільшується в 1,2 рази, проте рН середовища знижувалося не так інтенсивно, як при використанні препарату порівняння. В умовах дефіциту естрогенів гель попереджає розвиток дистрофічних змін ендометрія і міометрія. За впливом на концентрації естрогену в крові дана комбінація максимально (відносно інших досліджуваних гелів) наближається до препарату порівняння (збільшується в 1,9 разів). Гель з екстрактом хмелю і



молочною кислотою покращує реологічні властивості крові: збільшує час згортання в 1,5 раз, зменшує вміст фібриногену в 1,5 раз. Дисертантом виявлено цікавий факт: морфометричний аналіз показав, що у оваріоектомованих тварин під впливом препарату порівняння та досліджуваного гелю кількість остеокластів в кістковій тканині не змінювалося, проте в умовах застосування останнього зросла кількість остеоутворюючих клітин - остеобластів в 1,54 разів у порівнянні з контрольною патологією та в 1,62 разів відносно препарату порівняння.

Також в цьому розділі представлені результати вивчення токсичності вагінального гелю з екстрактом хмелю і молочною кислотою. Препарат відноситься до групи практично нетоксичних речовин при внутрішньо шлунковому та інтравагінальному введеннях. Тривале введення протягом 3-х місяців також не виявило токсичних властивостей.

У розділі «Аналіз та узагальнення результатів» Сініцина О.С. всебічно аналізує отримані в ході досліджень результати, узгоджує їх з відомими фактами, даними сучасної літератури, демонструючи таким чином свій науково-дослідний потенціал, прагнучи наділити свою роботу науковим і практичним змістом. Клімактеричний синдром розглядається автором як своєрідний симптомокомплекс, так як дефіцит естрогенів, що мають рецептори практично у всіх тканинах, провокує розвиток патологічних змін у всьому організмі. Таким чином, виявлені позитивні зміни широкого спектру досліджуваних параметрів дозволили автору зробити висновок про доцільність застосування вагінального гелю з екстрактом шишок хмелю і молочною кислотою при гіпоестрогенових станах.

Висновки дисертації, кількість яких становить 6, узагальнюють результати досліджень. Вони викладені лаконічно, повністю відповідають фактичним даним, меті та завданням роботи.

## **Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих працях і авторефераті**

За темою дисертації опубліковано 19 наукових праць, з них: 4 статті у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 2 статті у наукових фахових іноземних виданнях (Eureka: Health sciences, Естонія; Вестник фармации, Республіка Білорусь), 1 патент України на корисну модель, 1 інформаційний лист, 11 тез доповідей.

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

Оформлення дисертації та автореферат відповідає вимогам МОН України щодо викладення, об'єму, структури, графічного матеріалу, ілюстрацій, посилань на джерела літератури. Зміст автореферату відповідає результатам, викладеним у дисертації і повністю висвітлює усі її положення та висновки.

### **Недоліки дисертації і автореферату щодо їх змісту і оформлення**

Отримані дисертантом результати та їх інтерпретація не принципових зауважень не викликають. У роботі переконливо доведена висока ефективність нових вагінальних гелів з екстрактом хмелю та аскорбіновою кислотою, екстрактом хмелю та молочною кислотою, показана помірна ефективність гелю з глюкозаміну гідрохлоридом при експериментальних гіпоестрогенових станах. Тексти дисертації та автореферату написані гарною українською мовою з дотриманням наукового стилю, їх оформлення відповідає вимогам МОН України щодо викладення, обсягу, структури, графічного матеріалу, посилань на джерела літератури. Поряд з безсумнівними досягненнями, сучасними підходами до розв'язання поставлених задач, отриманими об'єктивними результатами та їх ґрунтовним аналізом, у роботі О.С. Сініциної є зауваження та запитання.

#### **Зауваження:**

1. В таблицях 3.1,4.1 та 5.1, що містять інформацію про вплив вагінальних гелів на стан біоценозу нижнього відділу геніального тракту самок щурів різних експериментальних груп, не вказані одиниці виміру.
2. На малюнку 3.17 недостатньо якісне графічне відображення даних (недиференційовані лінії).
3. У таблиці 5.3 відсутня група псевдооперованих тварин.

Наведені зауваження принципово не змінюють оцінку дисертаційної роботи. У порядку наукової дискусії хотілося б послухати судження дисертанта з таких питань:

1. Чим можна пояснити здатність гелю з екстрактом шишок хмелю і глюкозаміну гідрохлоридом впливати на біоценоз генітального тракту і усувати прояви вазомоторної реакції у вигляді «припливів жару» у самок щурів з гіпоестрогенією?
2. Чому практично у 5 разів показники рівня прогестерону у сироватці крові оваріоектомованих тварин більше під впливом гелю з екстрактом шишок хмелю і молочною кислотою, ніж в аналогічних умовах експерименту під впливом екстракту хмелю і аскорбіновою кислотою?
3. У чому полягає різниця між механізмами дії естрогенів та фітоестрогенів, зокрема 8-пренілнarinгеніну? Які побічні реакції та протипоказання для фітоестрогенів хмелю можна передбачити?

### **Рекомендації щодо використання результатів дисертації в практиці**

Матеріали даного дослідження можуть бути рекомендовані для поглибленого дослідження з метою розробки нового лікарського препарату для терапії широкого кола дисгормональних розладів, що виникають в умовах фізіологічної або патологічної естрогенної недостатності, як альтернатива існуючим гормональним препаратам для пацієнтів з наявності протипоказань до них або низьким комплайєнсом.

### **Відповідність дисертації встановленим вимогам.**

Дисертаційна робота Сініциної Оксани Сергіївни є самостійною, завершеною роботою, в якій отримано нові науково-обґрунтовані результати, які у сукупності є суттєвими для медичної науки і практики. Вона відповідає вимогам МОН України за новизною отриманих результатів, їх теоретичною та практичною значимістю, а також технічним оформленням роботи.

## Висновок

За актуальністю теми, обсягом виконаних досліджень, достовірністю та новизною отриманих результатів, їх практичною значимістю, дисертаційна робота Сініциної Оксани Сергіївни «Фармакологічне дослідження нових вагінальних лікарських форм для корекції гіпоестрогенових станів» відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 567 від 24.07.2013 року (зі змінами), а дисертант заслуговує присудження йому наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія.

Офіційний опонент,  
завідувач кафедри загальної та клінічної фармації  
ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»  
доктор фармацевтичних наук, професор

