Відгук

офіційного опонента доктора медичних наук, професора, завідувача відділенням патології статевих залоз ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України» Бондаренко Володимира Олександровича на дисертаційну роботу Равшанова Тимура Баходіровича за темою «Фармакологічне дослідження простатопротекторної дії супозиторіїв комбінованого складу», яку подано до спеціалізованої Вченої ради Д.64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті МОЗ України на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія

Актуальність обраної теми. Актуальність проблеми пошуку та розробки лікувальних засобів для терапії захворювань передміхурової залози визначається кількома причинами. По-перше, простатит, у тому числі хронічна форма є одним з найбільш поширених захворювань чоловіків репродуктивного віку. У 60-65 %% випадків відмічається відсутність бактеріальної складової, тобто, розвивається хронічний абактеріальній простатит. У літніх чоловіків у залозі відбувається розвиток її доброякісної гіперплазії, що визначають як хронічне прогресуюче гормонально-метаболічне захворювання, асоційоване з віком. Поширеність таких змін зростає до 50 % у віковій групі 60–70 рр. і досягає 80 % після 80 років. Обидва захворювання дуже часто супроводжуються порушеннями функціонування нижніх сечовивідних шляхів. Крім того, через збільшення середньої тривалості життя та частки чоловіків старших вікових груп, що спостерігається у більшості країн світу, показники поширеності захворювань передміхурової залози постійно зростають. Ця патологія значною мірою впливає на психоемоційний стан, працездатність, здоров'я чоловіків і призводить до економічних збитків населення та суспільства.

Іншою причиною, що визначає важливість розробки засобів для лікування захворювання простати, є те, що вона вкрай важлива для нормального функціонування репродуктивної системи чоловіків. Внаслідок хронічного запалення залози нерідко змінюється обмін статевих гормонів, що

веде до андрогенно-естрогенного дисбалансу, до відхилень в утворенні та транспорті статевих клітин, погіршення якісних і кількісних показників сперми. Такі зміни призводять до зниження запліднювальної здатності сперми, тобто, до чоловічої гіпофертильності. Погіршення репродуктивного здоров'я та зростання кількості безплідних подружь натепер велика проблема країн, що потерпають від депопуляції. На жаль, Україна за прогнозами ООН має перспективу втратити більш ніж 15% населення, що також обґрунтовує важливість обраної дисертантом проблеми.

Для лікування захворювань передміхурової залози, серед яких найчастіше визначаються простатит та доброякісна гіперплазія простати, застосовується багатокомпонентна терапія. Використовують антибактеріальні засоби, нестероїдні протизапальні засоби, венотоники, дезагреганти та як допоміжні – комплекси вітамінів та мікроелементів. Було встановлено, що індуктором розвитку доброякісної гіперплазії вважають компенсаторне зростання активності ферментів метаболізму тестостерону за умов дефіциту андрогенів з підвищеним утворенням 5α-відновленого (дигідротестостерон) та ароматизованого (естрадіол) метаболітів андрогена. Тому до терапії включають ліки, які специфічно впливають на метаболізм статевих гормонів у залозі. До таких засобів відносяться інгібітори 5α-редуктази (азидутастерид, фінастерид та ін.). Ефективність такої терапії безсумнівна, але застосування супроводжується ускладненнями та метаболічним навантаженням на печінку. Саме тому близько 40% призначень складають фітопрепарати, які інгібують утворення медіаторів запалення в залозі, цитотоксично діють на гіперплазовану залозисту тканину простати, інгібують активність 5α-редуктази, запобігають утворенню комплексів гормон-рецептор стосовно до андрогенів та естрогенів, добре переносяться більшістю пацієнтів і при хронічному застосуванні створюють більш стійкий терапевтичний ефект з меншою кількістю ускладнень. Саме патогенез доброякісної гіперплазії передміхурової залози обґрунтовує пошук активних природних сполук, які здатні впливати на процеси гормональної регуляції в залозі як основи для створення ефективних лікарських засобів, Серед таких значне місце посідає

індол-3-карбінол, який продемонстрував свою ефективність у комплексній терапії гормонзалежних захворювань, і цілком ймовірно може бути застосованим при лікуванні доброякісної гіперплазії простати.

Метою дисертаційного дослідження Равшанова Тимура Баходіровича стало фармакологічне обґрунтування розробки нового лікарського засобу з індол-3-карбінолом та мелоксикамом у формі ректальних супозиторіїв, як перспективного простатопротекторного засобу.

Вищевказане доводить, що обрана дисертантом тема дослідження, яка стосується створення нових ефективних лікарських препаратів для лікування хронічних захворювань передміхурової залози на основі природних сполук, є безперечно актуальною проблемою сучасної медицини та фармації.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконувалась у рамках комплексних науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету «Фармакологічні дослідження біологічно-активних речовин і лікарських засобів синтетичного походження, і їх застосування в медичній практиці» (№ держреєстрації 0103U000478) та «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (№ держреєстрації 0114U000956, 2014–2023). Автор дисертаційної роботи брав участь у виконанні цих тем.

Ступінь обґрунтованості та достовірності основних наукових положень і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Дисертація Равшанова Т. Б. виконана на сучасному науковому рівні. В експерименті задіяне достатня кількість лабораторних тварин, робота з якими проводилась відповідно до вимог Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Україна, 2006), Наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України від 01.03.2012 р. № 249 «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах». Дотримання біоетичних норм підтверджено Комісією з біоетики НФаУ. У роботі застосовано супозиторії відповідного складу й однієї серії, що розроблені на кафедрі заводської технології ліків під керівництвом д.фарм.н., професорки Рубан О. А. за участі аспіранта Зайченко В. С. Отримано

переконливі результати, достовірність яких не викликає сумнівів завдяки обґрунтованому дизайну експериментів, використанню референс-препарата та порівнянню отриманих результатів з даними відповідних контрольних груп. Зроблені висновки узгоджені з метою та завданнями дослідження і базуються на результатах адекватного статистичного аналізу.

Матеріали, що наведені в дисертації, мають науковий інтерес та перспективні щодо подальших розробок для практичного застосування.

Наукова новизна отриманих результатів. Автором вперше експериментально обґрунтовано доцільність розробки нового лікарського засобу з індол-3-карбінолом та мелоксикамом у формі ректальних супозиторіїв, як перспективного простатопротекторного засобу.

Біологічними дослідженнями поглиблено наукові уявлення щодо фармакодинаміки, механізмів лікувальної дії, доведено специфічну простатопротекторну активність розроблених супозиторіїв комбінованого складу. Отримано нові дані, що доводять лікувальний ефект супозиторіїв, в основі якого лежить інгібування активності індуктора гіперплазії залози 5α-редуктази майже вдвічі, чому сприяє зменшення як вмісту рецепторів андрогенів, так і співвідношення між кількістю андрогенних та естрогенових рецепторів. Уточнено, що у клітинах передміхурової залози при моделюванні гіперплазії зменшується співвідношення гормон/рецептор незалежно від ґенезу патології. Ці результати поглибили розуміння внутрішньоклітинних механізмів простатопротекторного ефекту супозиторіїв комбінованого складу.

Доведена відсутність гонадотоксичної дії супозиторіїв комбінованого складу при корекції патології передміхурової залози.

Виявлена нормалізація гормонопродукуючої активності гонад та поліпшення сперматогенезу у лабораторних тварин.

Практичне значення одержаних результатів. Практичне значення отриманих результатів полягають у тому, що розроблено новий комбінований засіб у вигляді ректальних супозиторіїв з індол-3-карбінолом та мелоксикамом з вираженою простатопротекторною активністю для лікування доброякісних захворювань передміхурової залози. Обґрунтовано доцільність розробки

нового комбінованого препарату для поповнення асортименту вітчизняних ліків простатопротекторами природного походження. За результатами роботи створена корисна модель та отримано патент України «Фармацевтична композиція у формі супозиторіїв для лікування доброякісних захворювань передміхурової залози», видано інформаційний лист «Спосіб лікування захворювань передміхурової залози за допомогою комбінації індол-3-карбінолу та мелоксикама» № 141-2019. Фрагменти дисертаційної роботи впроваджено в науково-дослідну роботу лабораторії репродуктивної ендокринології ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України».

Повнота викладення результатів дисертаційної роботи в публікаціях та авторефераті. Основні результати повноцінно висвітлено в 15 опублікованих наукових працях, з них 6 статей у фахових виданнях України, рекомендованих МОН України), з них 2 – у виданнях, що включені до міжнародних наукометричних баз, 1 інформаційному листі, 7 тезах доповідей. Отримано патент України.

Структура та зміст автореферату повно відображають основні положення дисертації та результати роботи.

Структура, обсяг та зміст роботи. Дисертаційна робота побудована за звичайним планом, містить анотації українською та англійською мовами, вступ, огляд літератури, опис матеріалів та методів дослідження, 2 розділи власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, висновки та перелік використаних джерел літератури (174 посилань, з них 73 – кирилицею, 101 – латиницею), 3 додатки. Обсяг основного тексту дисертації складає 134 сторінки друкованого тексту, є три додатки. Дисертація ілюстрована 32 таблицями та 54 рисунками. Отже, структура та обсяг дисертації Равшанова Т.Б. відповідають вимогам МОН України до дисертаційних робіт на здобуття вченого ступеня кандидата наук.

Анотація до роботи оформлена згідно до вимог наказу № 40 від 12.01.2017 р. «Про затвердження вимог до оформлення дисертацій».

У **Вступі** автором обґрунтовано актуальність теми дослідження, сформульовано мету та завдання, об’єкт і предмет, а також методи дослідження. Показаний зв'язок роботи з науковими темами, визначені новизна й практична значимість результатів, що отримані автором. Зазначено актуальність розширення переліку вітчизняних ефективних лікарських засобів, у тому числі рослинного походження з індол-3-карбінолом та протизапальним засобом мелоксикамом у ефективній лікарській формі ректальних супозиторіїв.

У **першому розділі** автор проаналізував результати фундаментальних і новітніх досліджень щодо найважливіших етіологічних чинників розвитку захворювання передміхурової залози та поширеність патології у світі. Розглянуто сучасні уявлення про патогенез хронічних простатитів та доброякісної гіперплазії залози, методи та ефективність лікування, показано місце лікарських засобів рослинного походження у терапії, розглянуто джерела, властивості, механізм дії індол-3-карбінола як перспективної речовини рослинного походження. Слід відмітити аналіз результатів, отриманих автором у співавторстві раніше, щодо вивчення варіантів супозиторної основи, токсичності, антибактеріального та антифунгальної дії композиції, що дозволило зосередитись на нових, раніше не досліджених аспектах фармакологічної активності супозиторіїв на поліетиленоксидній основі з індол-3-карбінолом та мелоксикамом.

У **Розділі 2** послідовно описано матеріали та методи дослідження. Описано склад супозиторіїв, шлях введення, дозування, обґрунтовано вибір препарату порівняння та моделей гормон-залежної гіперплазії передміхурової залози – сульпірид- та тестостерон-індукованої. Докладно викладено схема проведення експериментів, обґрунтовано вибір термінів дослідження тварин та їхніх фізіологічних параметрів, методів аналізу біологічних зразків (цитологічні, гістологічні, імуноферментні, біохімічні), отриманих від 86 нелінійних білих щурів.

Автор застосував статистичні методи аналізу, зокрема, непараметричні, що дозволило виявити та обговорювати лише статистично вірогідні зміни у стані тварин внаслідок застосування супозиторіїв комбінованого складу.

У цілому, матеріали, моделі та методи, застосовані при проведенні дослідження, дозволили розв'язати завдання роботи та досягти поставленої мети.

Розділ 3 та **Розділ 4** присвячені дослідженню фармакологічної дії супозиторіїв з індол-3-карбінолом та мелоксикамом. Обидва розділи містять підрозділи, в яких розглядаються та аналізуються наслідки моделювання гіперплазії передміхурової залози. В подальшому розглядаються результати корекції цих станів за допомогою досліджуваних супозиторіїв.

У **Розділі 3** описано зростання маси залози у щурів з сульпірид-індукованою моделлю гіперплазії, а стан гіперплазії підтверджений гістологічними дослідженнями зразків дорсолатеральної частки простати. Виявлено ознаки гіперплазії епітелію ацинусів різних простатичних залозок. Крім того, автор констатує зменшення андрогенізації організму, зміни концентрації фруктози, фосфатаз, порушення процесу сперматогенезу без виразних пошкоджень гістоструктури сім'яників. Методом імуноферментного аналізу встановлено характерні ознаки патології, а саме – зростання активності 5α-редуктази (у 2,5 раза), вмісту рецепторів андрогенів та естрогенів. У тканині простати виявлено суттєве, статистично вірогідне зменшення співвідношення андроген/рецептори до андрогенів (у 17,9 раза) та естроген/рецептори до естрогенів (у 14,5 раза), що відповідає виявленому зменшенню концентрації статевих гормонів.

При введенні супозиторіїв автор відмічає зменшення маси залози у щурів, позитивні зміни гістологічної картини, значне зменшення активності 5α-редуктази (на 82,0 %, $p<0,05$), вмісту рецепторів андрогенів (на 72,3 %, $p<0,05$) на тлі зростання кількості рецепторів естрогенів (на 185 %), нормалізація вмісту окремих фракцій T та E_2. Однак, виявлено зменшення підвищеного за умов патології співвідношення AR/ER.

Окремо автор виділяє наслідки дії супозиторіїв на репродуктивну функцію і відмічає деяке зростання концентрації сперматозоїдів та покращення їхньої якості, а також відсутність гонадотоксичного ефекту при світлооптичному аналізі гістологічних препаратів сім'яників. Вважаю ці результати особливо важливими з огляду «помолодшення» патології передміхурової залози у чоловіків репродуктивного віку.

У **Розділі 4** автор також описує дані, що свідчать про розвиток низки функціональних, морфологічних та біохімічних порушень передміхурової залозі, які відображують стан її гіперплазії у самців щурів після тривалого введення тестостерона пропіонату. Це зростання коефіцієнту маси простати, зміни біохімічних параметрів, зростання вмісту тестостерону й його вільної фракції, зменшення концентрації естрадіолу. Особливо цінними є спостереження, що у клітинах залози зростає активність 5α-редуктази у 2,3 рази, вміст рецепторів статевих гормонів – у 3,5 рази для естрогену та у 34 рази для андрогену. Стан гіперплазії також підтверджено гістологічно з ознаками як проліферації, так і гіперплазії залозистого епітелію стінок ацинусів різних типів простатичних залоз.

Корекція патології за допомогою досліджуваних супозиторіїв сприяла зменшенню коефіцієнту маси залози, нормалізації вмісту фруктози у сім'яних пухирцях та співвідношення між різними фосфатазами. Ефект тривалого курсового введення супозиторіїв полягав у зменшенні концентрації всіх гормонів: загального тестостерону, абсолютної кількості й частки вільного андрогену та естрадіолу у порівнянні з даними модельної патології. За цими результатами супозиторії переважали дію референтного препарату Олія насіння гарбуза.

Хоча у групі щурів, що отримували досліджувані супозиторії, зменшення активності 5α-редуктази у клітинах простати була менша, ніж у щурів, яким вводили олію насіння гарбуза, але цю різницю автор пояснює більшим ступенем зменшення концентрації тестостерону в крові щурів першої групи. Це відбувалося на тлі найбільшого зменшення концентрації рецепторів

андрогенів та збільшення вмісту рецепторів естрогенів при низькому рівні естрадіолу. При цьому відмічена нормалізація співвідношення різних типів рецепторів. Через зростання концентрації рецепторів естрогенів (у 5,5 рази) та зменшення вмісту естрадіолу відношення естрадіол/ER знижується на порядок. Але величини відношення концентрації вільного тестостерону до концентрації рецепторів андрогенів максимально наближається до даних інтактних щурів. Такі особливості клітинних змін, скоріш за все, є результатом дії складової супозиторіїв – індол-3-карбінола. Щодо дії препарату порівняння, то його введення не впливало на концентрацію рецепторів естрогенів. а спрямованість та абсолютна величина всіх показників не відрізнялися від розрахованих для групи позитивного контролю (модельна патологія гіперплазії передміхурової залози).

Гістологічні дослідження тканини залози щурів, яким вводили супозиторну масу, показали зменшення виразності гіпертрофії ацинусів простатичних залоз, яка б супроводжувалася проліферацією епітелію. Практично відсутнє многорядність у розташуванні епітеліальних клітин, відбувається зсув ядер з базальних до центральних відділів клітин, менше видно розростання папілярних виростів епітелію. Стан секрету в просвіті ацинусів був більш наближеним до нормального. Зменшена наявність ацинусів залозок (3-4 тип) з відшарованими апікальними відділами епітеліальних клітин (еозинофільні «утворення») та їх чисельність. У такому ж сенсі можна трактувати результати морфометрії ацинусів вентральної та дорсолатеральної частини передміхурової залози про зменшення їхнього периметру (на 15-30 %). Однак, переважна більшість кінцевих відділів простатичних залозок ще не досягала інтактного рівня за виключенням ацинусів залозок п’ятого типу.

Хоча основні токсикологічні дослідження були визначені до початку даного дослідження у співавторстві з к. фарм. н. Зайченком В. С., наявність у мелоксикаму властивостей селективного інгібітору циклооксигенази 2 типу визначила необхідність додаткових токсикологічних досліджень щодо стану

слизової шлунку, де можливе зменшення антацидний захисту його слизової оболонки. Поглиблене дослідження токсикодинаміки супозиторної маси, співставлення величини застосованої дози мелоксикаму з терапевтичною, а також врахування шляху введення дозволило дисертанту дійти висновку, що вірогідність такої побічної дії незначна і досліджувані супозиторії можна вважати відносно безпечним засобом лікування гіперплазії передміхурової залози.

У **Розділі Аналіз та узагальнення результатів** дисертант проводить співставлення застосованих моделей гіперплазії залози між собою, аналізує отримані результати по кожній моделі, порівнює результати при використанні супозиторіїв або олії насіння гарбуза. Надано ретельний аналіз кожного з досліджуваних показників стосовно відношення до ефектів індол-3-карбінол із залученням новітніх даних літератури. Автор висловлює думку, що більш виразний ефект СКС у порівнянні з дією референтного препарату у щурів з гіперплазією ПЗ пояснюється саме різним механізмом дії сполук.

Наприкінці дано узагальнення щодо позитивного впливу супозиторіїв з індол-3-карбінолом та мелоксикамом на стан залози з індукованою гіперплазією, які ефективно гальмують у ній запальний процес, демонструють виразну простатопротекторну дію, не чинять токсичного ефекту на репродуктивну функцію й придатні для тривалого використання.

У розділі **Висновки** сформульовано 5 висновків, які відповідають завданням та меті, що доводить завершений характер дисертаційної роботи.

Перелік літературних джерел оформлений відповідно до вимог МОН України і віддзеркалює добре знайомство автора з сучасним стан досліджуваної проблеми.

Текст дисертації та автореферату написано українською мовою з додержанням наукового стилю, відповідає вимогам щодо об’єму, структури, ілюстрацій, посилань на джерела наукової літератури.

Зауваження стосовно змісту та оформлення дисертації та автореферату дисертації. Разом з позитивною оцінкою потрібно відмітити деякі зауваження.

1. У тексті дисертації, особливо розділі «Аналіз та узагальнення результатів» зустрічаються повторення викладення результатів розділів власних досліджень.

3. В авторефераті не вказано, що результати дослідження токсикодинаміки досліджуваної комбінації надано у Додатку А дисертації.

Проте ці зауваження не зменшують загальної позитивної оцінки та значення дисертаційної роботи, яка є закінченим дослідженням, що має теоретичне та практичне значення, відрізняється науковою новизною одержаних результатів,

У порядку наукової дискусії виникають наступні запитання.

1. Чому при моделюванні сульпірид-індукованої та тестостерон-індукованої гіперплазії були задіяні щури різного віку, а саме – 9-11 місяців та 12-14 тижнів, відповідно?

2. Яким чином можна пояснити позитивні зміни концентрацій тестостерону та естрадіолу при корекції сульпірид-індукованої гіперплазії за допомогою СКС?

3. Підвищення концентрації тестостерону на 51% у щурів з СІГПЗ, які отримували СКС, є наслідком зменшення низькорівневого запалення чи зниження концентрації AR?

4. Чому на вашу думку відбувається зниження рівня тестостерону та підвищення естрадіолу через 14 днів після кастрації у щурів із первинною гіпотестикулярною патологією?

Відповідність дисертації обраній спеціальності, профілю спеціалізованої вченої ради та вимогам МОН України. Дисертаційна робота Равшанова Тимура Баходіровича «Фармакологічне дослідження простатопротекторної дії супозиторіїв комбінованого складу» є завершеним науковим дослідженням, в якому отримано нові результати, які сприяють

розв'язанню актуальної наукової проблеми – розробка нового лікарського засобу з індол-3-карбінолом та мелоксикамом у формі ректальних супозиторіїв, як перспективного простатопротекторного засобу.

Актуальність розробки, проведеної на достатньому об'ємі досліджень, використання відповідних та сучасних експериментальних досліджень, кваліфіковане застосування статистичних методів, наукова новизна, теоретичне та практичне значення результатів дозволяють стверджувати, що дисертаційна робота Равшанова Т.Б. повністю відповідає сучасним вимогам до дисертаційних робіт на здобуття наукового ступеня кандидата наук (Постанова Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 «Порядку присудження наукових ступенів» (зі змінами)), а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія.

Офіційний опонент,

завідувач відділення патології статевих залоз

Державної установи «Інститут проблем ендокринної патології

ім. В.Я. Данилевського НАМН України»,

доктор медичних наук, професор **В.О. Бондаренко**

ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
"ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ЕНДОКРИННОЇ ПАТОЛОГІЇ ІМ. В.Я. ДАНИЛЕВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ"
ПІДПИС ЗАВІРЯЮ:
Ген. спр.
(посада) (підпис)
«17» 09 2020 р.

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ ПРОБЛЕМ ЕНДОКРИННОЇ ПАТОЛОГІЇ ІМ. В.Я. ДАНИЛЕВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ» №02012131