

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

СІНЦИНА ОКСАНА СЕРГІЇВНА

УДК: 615.322:615.454.1:618.173:001.893.54

ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ НОВИХ ВАГІНАЛЬНИХ ЛІКАРСЬКИХ
ФОРМ ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ГІПОЕСТРОГЕНОВИХ СТАНІВ

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармакології Національного фармацевтичного університету МОЗ України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор
РИЖЕНКО Ірина Михайлівна,
Національний фармацевтичний університет
МОЗ України (м. Харків),
професор кафедри фармакології

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
ПОДПЛЕТНЯ Олена Анатоліївна,
ДЗ «Дніпропетровська медична академія
МОЗ України»,
завідувач кафедри загальної та клінічної фармації

доктор медичних наук, професор
ВОЛОЩУК Наталія Іванівна,
Вінницький національний медичний університет
імені М.І. Пирогова МОЗ України,
завідувач кафедри фармакології

Захист відбудеться «19» січня 2017 р. о 10.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий «15» грудня 2016 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради
д. фарм. н., професор

Т. С. Сахарова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Клімактеричний (менопаузальний) синдром (КС, МС) – складний симптомокомплекс, що розвивається у жінок на фоні згасання функції репродуктивної системи, загальної вікової інволюції організму. За даними ВООЗ сьогодні 10 % усього населення земної кулі становлять жінки в клімактеричному періоді. До 2030 р. 1,2 млрд. жінок у світі будуть перебувати в періоді менопаузи, що буде складати майже шосту частину населення планети. Серед українських жінок у періоді постменопаузи перебуватиме половина – 13,2 млн. З одного боку, це пов'язано зі збільшенням тривалості їх життя, з іншого – з ранніми проявами клімаксу. У зв'язку з тим, що тепер пенсійний вік у жінок в Україні настає у 60 років, питання профілактики та лікування менопаузальних розладів (МР) набувають особливої медико-соціальної важливості не тільки для старшої вікової групи, але й для більш молодих працездатних жінок (З. М. Дубоссарська, 2010; Т. де Вільєрс, Т. Ф. Татарчук, 2016).

Незважаючи на те, що клімактерій на фоні вікових змін є фізіологічним станом, а інволютивні процеси зростають поступово, у 80 % жінок його перебіг супроводжується розвитком МС. Ранній клімактерій після хірургічного втручання супроводжується ще більш виразними проявами МС, оскільки гіпоестрогенія розвивається швидко, а період адаптації короткий, що обумовлює істотне погіршення стану здоров'я та якості життя жінок (G. K. Poomalar, B. Arounassalame, 2013; B. Ceylan, N. Ozerdoğan, 2014; В. Е. Радзинский и соавт., 2015).

Різні за етіологією прояви МС (внаслідок вікового або медикаментозного клімаксу, після хірургічних утручань на статевих органах, хіміотерапії, радіаційного опромінювання) розвиваються на фоні дефіциту естрогенів і включають коливання маси тіла, вазомоторні та психоемоційні розлади, остеопороз, генітоуретральні порушення (атрофія слизової оболонки піхви, зменшення секреторної активності вагінального епітелію, диспареунія, вагінальний дисбіоз) (S. A. Kingsberg et al., 2013; T. C. Okeke et al., 2013; S. A. Papadopoulou, J. C. Kaski, 2013; H. J. Jones et al., 2016).

Найбільш ефективним методом лікування МС залишається менопаузальна замісна терапія (МЗТ) з використанням лікарських засобів (ЛЗ), що містять статеві гормони. Проте, більша частина жінок внаслідок недостатньої обізнаності про сучасні фармакотерапевтичні можливості, «гормонофобію» або за наявності факторів ризику та протипоказань до статевих стероїдів більш прихильні до використання негормональних засобів корекції МС (фітоестрогенів, зволожуючих засобів, лубрикантів). В Україні майже відсутні препарати вітчизняного виробництва зазначеної дії, а більша частина асортименту представлена ліками іноземного виробництва та дієтичними добавками. Все це актуалізує науковий пошук і розробку нових ефективних і безпечних ЛЗ на основі природних сполук, дія яких спрямована на попередження або лікування наслідків гіпоестрогенових станів різної етіології (М. Б. Хамошина, Ю. А. Бриль, 2014; J. Calleja-Agius, M. P. Brincat, 2015).

Отже, перспективним є пошук і розробка ефективних ЛЗ на основі природних сполук, що мають спорідненість до β -естрогенових рецепторів (ER β), якими є фітоестрогени. Пренілфлавоноїди хмелю, зокрема 8-пренілнарінгенін (8-PN), виявляють найбільш високу естрогеноподібну активність, здатні попереджувати більшість наслідків гіпоестрогенового стану організму. Хміль звичайний (*Humulus lupulus L.*) доб-

ре культивується в умовах України, містить велику кількість 8-PN та ізоксантохумолу (Б. М. Зузук, Р. В. Куцик, 2004; R. Erkkola, S. Vervarcke et al., 2011), який може бути попередником синтезу 8-PN, тому доцільною є розробка на основі екстракту шишок хмелю (далі екстракту хмелю, ЕХ) нових ЛЗ для лікування МС.

Досить перспективним напрямом у лікуванні менопаузальних атрофічних генітоуретральних розладів також є використання природних компонентів, зокрема глікозаміногліканів (ГАГ), які підтримують вологість слизової оболонки, функції уротелію, пружність та регенеративні процеси у тканинах репродуктивного тракту. До складу найбільш ефективних зволожувальних засобів, що останнім часом запропоновані для місцевої терапії та полегшення симптомів МС, входить гіалуронан або похідні гіалуронової кислоти (ГК). Глюкозамін (ГА) є стартовою речовиною для синтезу ГК. Він швидко включається до метаболізму сполучної тканини та синтезу ГАГ, виявляє протизапальні, репаративні властивості, модулює синтез статевих гормонів, позитивно впливає на репродуктивні функції (Г. В. Зайченко та співавт., 2010, Зупанець І. А., 1993-2014). В країнах Євросоюзу зареєстровані та широко використовуються для терапії МС лікарські препарати місцевої дії, що містять ЕХ та ГК, тоді як в Україні аналоги за складом і показаннями до застосування відсутні. Вищенаведене стало підставою для вивчення нових вагінальних лікарських форм для корекції естрогендефіцитних станів, що обумовлює доцільність проведення даних досліджень.

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

Мета і задачі дослідження. *Мета* роботи – експериментальне обґрунтування доцільності розробки та застосування нових вагінальних лікарських форм, що містять глюкозаміну гідрохлорид, екстракт хмелю та аскорбінову кислоту, екстракт хмелю та молочну кислоту, шляхом вивчення їх фармакологічної дії при експериментальних гіпоестрогенових станах.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі *задачі*:

1. Оцінити вплив вагінального гелю з глюкозаміну гідрохлоридом на макро- і мікроскопічний стан генітального тракту, вагінальний мікробіоценоз, рівень статевих гормонів, динаміку маси тіла, вегетативні реакції, стан центральної нервової системи, реологічні властивості крові та морфологічні зміни у серцево-судинній системі оварієктомованих шурів і порівняти його лікувальну дію з супозиторіями з естріолом.

2. Дослідити лікувальну дію вагінального гелю комбінованого складу з екстрактом хмелю та аскорбіновою кислотою шляхом оцінки його впливу на макро- і мікроскопічний стан генітального тракту, вагінальний мікробіоценоз, рівень статевих гормонів, динаміку маси тіла, вегетативні реакції, стан центральної нервової системи, реологічні властивості крові та морфологічні зміни у серцево-судинній системі оварієктомованих самок шурів у порівнянні з супозиторіями з естріолом.

3. Вивчити ефективність вагінального гелю комбінованого складу з екстрактом хмелю та молочною кислотою, оцінюючи його вплив на макро- і мікроскопічний

стан генітального тракту, вагінальний мікробіоценоз, рівень статевих гормонів, динаміку маси тіла, вегетативні реакції, стан центральної нервової системи, реологічні властивості крові, морфологічні зміни у серцево-судинній та кістковій системах оварієктомованих самок щурів порівняно з супозиторіями з естріолом.

4. Провести дослідження окремих показників нешкідливості найбільш перспективного вагінального гелю комбінованого складу з екстрактом хмелю та молочною кислотою при одноразовому інтравагінальному, внутрішньошлунковому та довготривалому інтравагінальному шляхах введення.

Об'єкт дослідження – гіпоестрогенові стани.

Предмет дослідження – фармакологічні властивості нових вагінальних гелів з глюкозаміну гідрохлоридом, екстрактом хмелю та аскорбіновою кислотою, екстрактом хмелю та молочною кислотою, призначених для корекції гіпоестрогенових станів.

Методи дослідження. При виконанні дисертаційної роботи використовувався комплексний методичний підхід із залученням фармакологічних, токсикологічних, біохімічних, гістологічних і статистичних методів дослідження.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше на моделі гіпоестрогенових станів у щурів встановлено ефективність нових оригінальних вагінальних гелей з глюкозаміну гідрохлоридом (ГлГ), екстрактом хмелю та аскорбіновою кислотою (ЕХ+АК), екстрактом хмелю та молочною кислотою (ЕХ+МК).

Поглиблено наукові уявлення про механізми протекторного впливу ГлГ на слизову оболонку піхви за умов місцевого застосування у формі вагінального гелю на фоні дефіциту естрогенів. Встановлено, що під впливом екзогенного введення аналогу природнього метаболіту сполучної тканини відновлюється морфологічний стан і функціональна активність вагінального епітелію, а також синтез цервікального слизу до рівня фізіологічної норми у 100 % тварин. Показник рН вагінального секрету набував слабо кислого значення 5,8 од. Це позитивно відбивалося на психосоматичному стані щурів, що виявлялося помірним в зменшенням тривожності, помірним посиленням когнітивної функції та усуненням проявів депресії. Розширено наукові дані щодо ефективності ЕХ не тільки при ентеральному, але й при вагінальному застосуванні. Встановлено, що у оварієктомованих тварин після лікування вагінальними гелями з ЕХ, незалежно від коректору рН (АК або МК), виявлялися ознаки системної дії: відбувалося вірогідне підвищення вмісту естрадіолу в 1,5 разу (ЕХ+АК), в 1,9 разу (ЕХ+МК) та прогестерону в 2,4 і 5,6 рази, відповідно в порівнянні з КП. Редукувалися прояви ендотеліальної дисфункції (ЕД), нормалізується біоценоз піхви подібно дії препарату порівняння, більш виразний у гелю з ЕХ+МК. Доведено вірогідне покращення реологічних властивостей крові, а саме, часу згортання крові та зменшення концентрації фібриногену в 1,4 разу (ЕХ+АК) та 1,5 разу (ЕХ+МК) відносно КП. Встановлено покращення морфофункціонального стану слизової оболонки піхви.

Отримано нові дані щодо механізмів впливу гелю з ЕХ+МК на метаболізм кісткової тканини та його здатності гальмувати розвиток остеопоретичних змін у оварієктомованих тварин за рахунок збереження життєздатності остеоцитів, зростання кількості остеобластів в 1,5 разу ($p < 0,05$) порівняно з КП і в 1,6 разу ($p < 0,05$) по відношенню до препарату порівняння. При незмінній кількості остеокластів, гель з ЕХ+МК відновлює рівновагу в процесі «резорбція–кісткоутворення» і на відміну від препарату порівняння має позитивну дію на кісткову тканину.

Встановлено, що за токсикологічними властивостями гель з ЕХ+МК відноситься до класу практично нетоксичних речовин, а при одноразовому та тривалому інтавагінальному (і/в) введеннях (90 діб) не чинить негативної дії на стан внутрішніх органів, у тому числі на «органи-мішені» (яєчники, піхву) та фолікулогенез.

Практичне значення одержаних результатів. Результати фармакологічного дослідження обґрунтовують доцільність розробки нових вагінальних гелів з глюкозаміну гідрохлоридом, екстрактом хмелю та аскорбіною кислотою, екстрактом хмелю та молочною кислотою для подальшого впровадження у клінічну практику.

Гель комбінованого складу з ЕХ+МК, 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» (м. Київ, лист № 11/06 від 27.06.2016 р.).

Вдосконалено існуючі підходи до лікування атрофічних генітоуретральних МР, 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.).

Результати дисертаційної роботи впроваджені у науково-дослідний процес лабораторії репродуктивної ендокринології ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України» (протокол № 5 від 30.05.2016 р.), лабораторії патологічної фізіології і клінічної фармакології ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України» (протокол №3 від 20.10.2016 р.), науково-дослідний та науково-педагогічний процес кафедри акушерства і гінекології Харківського національного університету ім. В. Н. Каразіна (протокол №11 від 06.06.2016 р.).

Особистий внесок здобувача. Дисертація є завершеною науковою роботою. Разом з науковим керівником визначено мету і завдання дослідження, розроблено програму та методичні підходи до фармакологічного вивчення вагінальних гелів з глюкозаміну гідрохлоридом, екстрактом хмелю та аскорбіною кислотою, екстрактом хмелю та молочною кислотою. Здобувачем проведено: патентно-інформаційний пошук, експериментальні дослідження, статистичне опрацювання даних, аналіз та узагальнення одержаних результатів, сформульовано висновки. Вивчення впливу нових вагінальних гелів на мікробіоценоз піхви проведено на кафедрі мікробіології, вірусології та імунології НФаУ (зав. каф., д. мед. н., проф. Філімонова Н. І.). Морфологічні дослідження виконані за консультативної допомоги зав. лабораторії морфології сполучної тканини «Інституту патології хребта та суглобів ім. проф. М. І. Ситенка НАМН України», д. біол. н. Дєдх Н. В. та ст. н. с. ЦНДЛ НФаУ, к. біол. н. Лар'яновської Ю. Б. Дослідження параметрів токсичності проводили за консультативної допомоги ст. н. с. ДП «ДНЦЛЗ», к. біол. н. Никітіної Н. С.

Апробація результатів дисертації. Результати роботи були повідомлені та обговорені на XX міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Topical issues of new drug development» (Харків, 2015); II науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической биохимии» (Харків, 2015); Міжнародній науково-

практичній конференції «Пріоритетні наукові напрями у медицині: від теорії до практики» (Одеса, 2015); VIII Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Досягнення клінічної фармакології та фармакотерапії» (Вінниця, 2015); 63-ій науково-практичній конференції з міжнародною участю «Вклад медичної науки в оздоровлення сім'ї» (г. Душанбе, 2015); Міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні питання медичної теорії та практики» (Дніпропетровськ, 2015); Республіканській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации» (Ташкент, 2015); Міжнародній науково-практичній конференції «Досягнення та перспективи експериментальної та клінічної ендокринології» (П'ятнадцяті Данилевські читання) (Харків, 2016); Міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми клінічної, теоретичної, профілактичної медицини, стоматології та фармації» (Одеса, 2016); Міжнародній науково-практичній конференції «Topical issues of new drug development» (Харків, 2016).

Публікації. 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, 1 патент України на корисну модель, 1 інформаційний лист, 11 тез доповідей.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, списку використаних джерел літератури. Загальний обсяг дисертації складає 199 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 40 таблицями та 60 малюнками. Перелік використаних джерел літератури містить 350 найменування (146 кирилицею, 204 латиною).

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Досліджувані вагінальні гелі з ЕХ були розроблені на кафедрі аптечної технології ліків ім. Д. П. Сала НФаУ під керівництвом д. фарм. н., проф. Вишневської Л. І. До складу гелей включено екстракт хмелю (6 %), який є багатим джерелом фітоестрогенів (М. Л. Бавикіна, Л. І. Вишневська, 2016), аскорбінову кислоту або молочну кислоту, що є коректорами рН вагінального секрету, допоміжні речовини, зокрема олію плодів розторопші плямистої, лавандову олію, пропіленгліколь, ПЕГ-40 (або ПЕГ-80) гідрогенізовану рицинову олію, та інш. Вагінальний гель з глюкозаміну гідрохлоридом був розроблений під керівництвом д. фарм. н., проф. М. О. Ляпунова на базі ДНУ «НТК «Інститут монокристалів» НАН України». До його складу входить аміноцукор глюкозаміну гідрохлорид (5 %), який задіяний у регуляції гормонального гомеостазу жіночого організму та перебігу процесів репродукції (І. А. Зупанець, 1993-2010; Г. В. Зайченко, 2010), а також оригінальна крем-гельова основа, що надає лікарській формі біоадгезивних властивостей.

Як препарат порівняння були обрані вагінальні супозиторії Овестін (Естріол 0,5 мг, Органон, Нідерланди, серія G44874).

Дослідження проведені на 114 аутбредних самках білих щурів масою 180-260 г. та віком 6-8 міс. на початку експерименту. Тварини були виведені у розпліднику віварію ЦНДЛ НФаУ, що атестована МОЗ України (посвідчення № 058/15 від 08.12.2015 р., чинне до 07.12.2019 р.). При роботі з ними дотримувались «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001), що узгоджуються з по-

ложеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р. зі змінами, 1998 р.). Дотримання біоетичних норм засвідчено висновком комісії з біоетики НФаУ (протокол № 5 від 18.05.2016 р.).

Терапевтичну дозу препарату порівняння – вагінальних супозиторіїв з Е розраховували за вмістом естріолу (0,03 мг/кг), використовуючи коефіцієнт видової чутливості (Ю. Р. Риболовлев, Р. С. Риболовлев, 1979).

Дози досліджуваних тест-зразків були обрані, спираючись на дані літератури щодо вмісту ЕХ у вагінальних лікарських формах (Michele Di Schiena, 2009). Доза гелів з ЕХ+АХ або МК за вмістом фітоестрогенів – 0,06 мг/кг, гелю з ГлГ за вмістом ГлГ становила 22,7 мг/кг.

Гіпоестрогеновий стан у самок щурів викликали видаленням яєчників. Псевдооперованим (ПО) тваринам робили лапаротомію та ушивання рани без видалення яєчників (Я. Д. Киршенблат, 1969). Через 5 тижнів після операції (з 35-ої доби експерименту) самкам раз на добу впродовж 28 днів і/в вводили тест-зразки різного складу.

На 35-ту добу експерименту та після курсу лікування проводили мікробіологічне дослідження біотопу піхви методом «прямого посіву» вагінального секрету на спеціальні і диференціально-діагностичні поживні середовища та виражали у кількості КУО/г (Ю. Л. Волянський, 2004). Кислотність вагінального секрету за допомогою одноразових вагінальних рН-тестів Citolab (DFI Co, Ltd, Korea) вимірювали за 24 год. до початку введення і через 24 год. після останнього введення тест-зразків.

Рівень естрадіолу та прогестерону в сироватці крові визначали імуноферментним методом на імуноферментному аналізаторі (Stat Fax 303+) з використанням комерційних наборів реагентів «Естрадіол-ІФА», «Прогестерон-ІФА» (Хема-Medica, Росія).

Масу тіла самок щурів вимірювали на лабораторних електронних вагах EJ-6100 (AnD, Японія) у часовий період з 9.00 до 10.00 год. натще.

Реєстрацію температури шкіри біля кореня хвоста проводили впродовж 4 год. за допомогою термометра Thermo Tek Q5 (Medical Indicators Inc, США).

Стан центральної нервової системи самок щурів вивчали після закінчення курсу лікування тест-зразками у тестах «відкрите поле» та «піднесений хрестоподібний лабіринт» – орієнтовно-пошукова та емоційна активність і тривожність (О. В. Стефанов, 2001, Р. У. Хабрієв, 2005), «екстраполяційного вивільнення» – когнітивні функції (А. Н. Миронов и соавт., 2012), «поведінкового відчаю» за Порсолтом – антидепресивна дія (R. D. Porsolt et al., 1992).

Дослідження реологічних властивостей крові проводили за загальноприйнятими у лабораторній практиці методиками (В. В. Меньшиков и соавт., 1987). Визначали час згортання крові, концентрацію фібриногену в плазмі, які оцінювали по методу тромбоутворення Клауса на коагулометрі KG-4 за допомогою набору реагентів «Тех-фібриноген-тест» (Технологія-Стандарт, Росія).

Морфологічне дослідження тканин матки, слизової оболонки піхви, міокарду, кісток, проводили світлооптичним дослідженням за стандартними методами, зразки забарвлювали гематоксиліном та еозином (Г.А. Меркулов, 1969; Е. В. Колодийчук, В. П. Мернова, 2012) та оглядали під мікроскопом Granum. Мікрофотографування здійснювали цифровою відеокамерою Granum ДСМ310. Фотографії обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми TourView.

Стан компактної та губчастої кісткової тканини стегнової кістки (гель ЕХ+МК) оцінювали також за показниками морфометричного дослідження. У губчастій кістці підраховували та виражали у (%): кількість лакун з (та без) остеоцитами, відношення кількості лакун з остеоцитами до кількості лакун без остеоцитів; у компактній кістці – кількість остеонів, щільність остеоцитів.

Гостру токсичність найбільш активного тест-зразку – гелю з ЕХ+МК вивчали при одноразовому внутрішньошлунковому (в/ш) та і/в шляхах введення. Можливу токсичну дію вивчали також при тривалому і/в застосуванні (90 діб) самкам щурів згідно з методичними рекомендаціями (О. В. Стефанов, 2001).

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою комп'ютерних програм Statistica 6.0 та Excel 2003 (О. Ю. Реброва, 2006, А. А. Халафян, 2006) методами описової статистики та порівняльних методів аналізу з використанням t-критерію Ст'юдента або Ньюмена-Кейлса – у разі нормального розподілу, непараметричного критерію Круськала-Уолліса, Фішера для даних, які не підкоряються нормальному закону розподілу. Відмінності між групами вважали статистично вірогідними при прийнятому рівні статистичної значущості $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення.

Вплив досліджуваних засобів на мікробіоценоз і кислотність вагінального секрету оварієктомованих самок щурів. На тлі виразної гіпоестрогенії у жінок виникають генітоуретральні розлади (сухість слизової піхви, диспареунія, нетримання сечі), що характерно для атрофічного цистоуретриту або атрофічного вагініту (В. Е. Балан, 2009; С. Frye et al., 2012). У результаті із трансудату, що секретується слизовою оболонкою піхви, зникає глікоген, а із вагінального секрету елімінують лакто- і біфідобактерії, які підтримують її мікробіоценоз. Збільшення величини вагінального рН призводить до посилення симптомів атрофічного вагініту (Р. Fioretti, 1982; G. V. Melis, 2000). Встановлено, що середній показник рН вагінального секрету у групах ІК та ПО самок щурів становив 5,0-5,2 од. Після білатеральної оварієктомії він був слабо лужним 7,8-8,0 од. ($p < 0,05$). Це співпадає з даними літератури про те, що за умов гіпоестрогенії ендогенне продукування МК, яке відбувається в епітеліальних клітинах піхви під впливом естрогенів, зменшується (Т. Ф. Татарчук, 2012; Т. де Вільєрс, 2016). Проведення МЗТ супозиторіями з Е сприяло нормалізації рН вагінального середовища (5,2 од.) до рівня ІК. Після лікування тварин досліджуваними гелями показник рН був 5,8 од. ($p < 0,05$) порівняно з КП, що відповідало слабо кислому стану вагінального секрету. Можна припустити, що за рахунок здатності регулювати транспорт водню між НАДФ⁺Н та НАД і збільшення вмісту НАДФ-акцептора водню в органах генітального тракту, естрогени та фітоестрогени впливають на показник рН секрету піхви (Л. І. Кафарська, 2005). Іншим джерелом МК є глікоген злущених клітин епітелію після перетворення *Lactobacillus acidophilus*, які є звичайною складовою мікрофлори піхви (З. М. Дубоссарська, 2007). Очікуваний слабкіший ефект від лікування гелями з ЕХ+АК та ЕХ+МК, можливо, обумовлений меншою спорідненістю фітоестрогенів (8-пренілнarinгеніну) до β -естрогенових рецепторів, ніж у естрогенів, а також меншим рівнем їхньої участі в окисно-відновлювальних процесах у гормончутливих клітинах (S. Possemiers et al., 2006; R. Erkkola et al., 2011). Гель з ГЛГ здатний відновлювати кисле середовище вагінального секрету за

рахунок впливу на вторинні чинники (активність лейкоцитів, нормалізація мікробного пейзажу піхви), що узгоджується з даними E. R. Boskey, 1999.

Важливу роль в патогенезі генітоуретральних розладів відіграють зміни вагінального мікробіоценозу, що пов'язано з характерними для менопаузи порушеннями гемостазу, а саме, наростаючим дефіцитом стероїдних гормонів, підвищенням рівня ЛГ, ФСГ, змінами рецепторних систем (З. М. Дубоссарская, 2007). На тлі дефіциту естрогенів і зникнення шарів поверхневих клітин у піхві знижується вміст глікогену, окислювальний потенціал, зменшується кількість факультативних лактобактерій, збільшується пул облігатно-анаеробних мікроорганізмів, зростає рН вагінального секрету (Ю. Э. Доброхотова, 2008).

Вивчення мікробіологічного пейзажу піхви показало, що після оварієктомії вірогідно збільшувалась кількість умовно-патогенних мікроорганізмів, у тому числі, аеробних Гр- бактерій в 1,2 разу, зростала кількість колоній кишкових паличок в 1,3-1,4 рази, стафілококів в 1,5 – 1,7 рази, з'являлись клостридії, зменшувалась загальна кількість лактобактерій в 1,2 разу по відношенню до ІК, що свідчило про порушення біоценозу піхви. Лікування супозиторіями з Е позитивно змінювало біоценоз вагінального секрету: зменшувалась кількість умовно-патогенних мікроорганізмів, нормалізувалась кількість аеробних бактерій Гр-, чисельність клостридій вірогідно зменшувалась в 1,2 разу або вони повністю зникали, відновлювалась популяція лактобактерій, яка наближалась до рівня інтактних тварин. Застосування гелю з ГлГ сприяло лише помірному зменшенню росту умовно-патогенних мікроорганізмів, підвищенню колонізації лактобактерій та незначної дії відносно клостридій. Після введення гелів з ЕХ+АК та ЕХ+МК спостерігалась така ж сама спрямованість змін біоценозу піхви, як у самок, що отримували препарат порівняння. Однак більш виразний ефект по відношенню до аеробних Гр- бактерій, стафілококів та спроможність повністю відновлювати чисельність лактобактерій була притаманна гелю з ЕХ+МК. Це пов'язано з тим, що МК є природним метаболітом, який утворюється лактобактеріями піхвового біотопу та відноситься до фізіологічних регуляторів кислотності вагінального секрету (М. А. Гомберг, 2013; Е. Ф. Кира, 2014).

Вивчення впливу досліджуваних засобів на макро- та мікроскопічний стан генітального тракту оварієктомованих самок щурів. Вплив вагінальних гелів на макро- та мікроструктуру піхви та матки самок щурів вивчався з метою попередження можливого розвитку в них дегенеративних змін в умовах дефіциту естрогенів. Візуальна макроскопічна оцінка товщини рогів матки показала, що у тварин груп ІК та ПО вона була однаковою (2,8 – 3,0 см) і цервікальний слиз був присутній у 100% самок. Після оварієктомії товщина рогів матки зменшилась у 2,4–3,0 рази ($p < 0,05$), а цервікальний слиз був відсутній у 95% самок щурів. Введення супозиторіїв з Е повністю нормалізувало біометричні показники, що свідчить про відсутність дистрофічних змін в міометрії, а наявність цервікального слизу у 83,3% – 100% тварин вказує на стимуляцію синтезу ГАГ, які вистилають цервікальний канал. Лікування вагінальними гелями сприяло майже в однаковій мірі гальмуванню дегенеративних процесів у тканинах рогів матки в 1,7 – 2,0 рази ($p < 0,05$) в порівнянні з КІ, але в меншій мірі, ніж під дією супозиторіїв з Е – в 2,3 – 3,0 рази, ($p < 0,05$). В той же час товщина рогів матки після застосування гелю з ЕХ+МК була однаковою з таковою у препараті порівняння ($p > 0,05$). Відновлення синтезу цервікального слизу спостерігалось у 66,7% самок (гелі ЕХ+АК та ЕХ+МК), за винятком гелю з ГлГ, де цей показник ста-

новив 100%. Ймовірно, ГА стимулював синтез ГАГ, до складу яких він входить, що забезпечувало реологічні властивості вагінального та цервікального слизу (L. R. Bezerra et al., 2004). Отримані дані корелюють з результатами морфологічного дослідження тканин матки та піхви (рис. 1, 2).

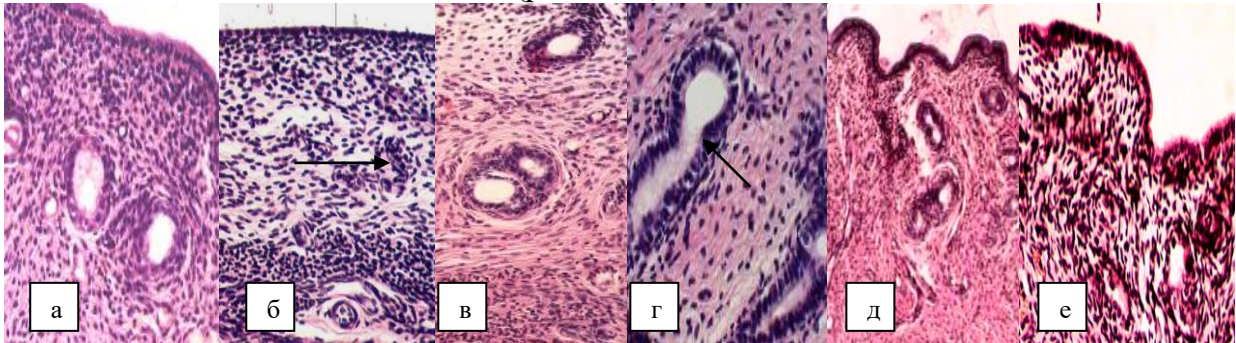


Рис. 1. Морфологічний стан ендометрію рогу матки. а – інтактної самки щура (поверхневий епітелій одношаровий, висококубичний, маткові залози і тонкостінні кровоносні судини без змін). x200; б – після оваріектомії (виразне зменшення розміру епітеліальних клітин, чисельності маткових залоз, спазм спіральних дрібних артерій, стоншення м'язових шарів). x250; в – після застосування супозиторіїв з Е (відновлення стану маткових залоз, кровоносних судин, шарів міометрію; x200. г – після застосування гелю з ГЛГ (епітелій маткових залоз у більш функціональному стані). x200; д – після застосування гелю з ЕХ+АК (збільшення чисельності капілярів та клітинного вмісту стромы). x200; е – після застосування гелю з ЕХ+МК (відновлення стану епітеліальних клітин, васкуляризації та клітинного вмісту стромы). x250. Гематоксилін та еозин.

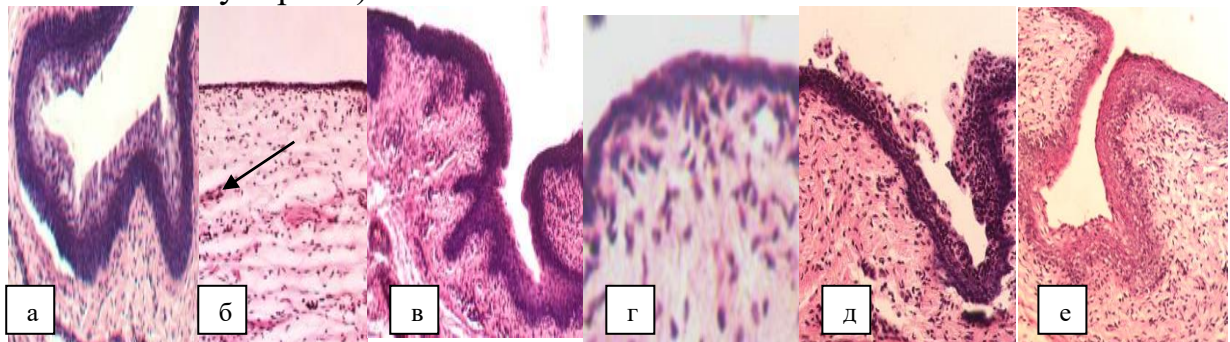


Рис. 2. Морфологічний стан проксимального відділу слизової оболонки піхви самки щура. а – інтактної самки щура (нормальний стан епітелію). x200; б – після оваріектомії (виразне стоншення епітеліальної вистілки, спазм кровоносних судин (стрілки). x200; в – після застосування супозиторіїв з Е. x100; г – після застосування гелю з ГЛГ (покривний епітелій стоншений). x250; д – після застосування гелю з ЕХ+АК (відновлення об'єму стромы слизової оболонки) x200; е – після курсового введення гелю з ЕХ+МК (відновлення вагінального епітелію, покращення кровопостачання слизової оболонки. x250. Гематоксилін та еозин.

Нестача ендогенних естрогенів призводила до інволютивних змін у статевих органах самок щурів. Препарат порівняння повністю відновлював гістоструктуру рогів матки. Курсове введення ГЛГ не чинило «типового» естрогеноподібного впливу як супозиторії з Е. Однак, при збереженні окремих ознак атрофії (стоншення епітеліального пласту) у слизовій оболонці піхви та в усіх шарах стінки рогів матки була помірно збільшена васкуляризація, відсутній спазм судин. Застосування гелів

ЕХ+АК та ЕХ+МК запобігало атрофічним змінам, макро- та мікроскопічній організації слизової оболонки піхви та матки. При цьому, гель з ЕХ+МК сприяв більш виразному потовщенню епітеліального пласту слизової оболонки піхви та накопиченню глікогену на відміну від гелю з ЕХ+АК, який збільшував епітеліальний пласт лише у 50% тварин.

Вплив вагінальних гелів на гормональний стан оварієктомованих самок щурів. Дефіцит статевих гормонів, що виникає на тлі МР, впливає на гомеостаз і формує цілий комплекс серйозних порушень. Після оварієктомії у самок щурів спостерігалось зниження рівня естрадіолу в 2,4 – 3,1 рази ($p < 0,05$) та прогестерону в 4,6 – 17 разів ($p < 0,05$), що узгоджується з даними літератури про формування у жінок з видаленнями гонадами важкого гіпоестрогенового стану (Н. В. Де, Г. І. Хрипунова, 2008). Під дією супозиторіїв з Е відбувалась нормалізація рівня естрадіолу та виразна тенденція до зростання рівня прогестерону, хоча останній не досягав показників здорових самок. Вагінальні гелі в порівнянні з КП сприяли вірогідному підвищенню вмісту естрадіолу (ГЛГ, ЕХ+АК – в 1,5 разу, ЕХ+МК – в 1,9 разу) та рівню прогестерону у 2,9; 2,4; 5,6 рази, відповідно, але при цьому не досягали даних ІК. В цілому, при помірній мірі відновлення гормонального фону, найбільшу ефективність виявляв гель з ЕХ+МК, який за вищенаведеними показниками наближався до препарату порівняння. Отримані результати свідчать, що при застосуванні в топікальній лікарській формі досліджуваних тест-зразки виявляють системну дію.

Вивчення впливу досліджуваних засобів на динаміку маси тіла та вегетативні реакції оварієктомованих самок щурів. В умовах білатеральної оварієктомії відзначено вірогідне зростання маси тіла тварин на 9-й тиждень на 15,1 % – 27,2 % порівняно з вихідними даними. Після лікування супозиторіями з Е приріст маси тіла у щурів був 7,1 % – 15,0 %. Під дією гелю з ГЛГ він становив 19,7 %, а після введення гелів з ЕХ+АК та ЕХ+МК – 17,5 % та 10,2 %, відповідно. Отже, найбільша ефективність притаманна гелю з ЕХ+МК, який уповільнював приріст маси тіла подібно препарату порівняння та досягав показників ІК ($p > 0,05$). Можна вважати, що у комплексній терапії наслідків гіпоестрогенії різного генезу фітоестрогени здатні брати участь у контролі маси тіла. Відомо, що абсолютний дефіцит естрогенів, які задіяні у регуляції функцій адипоцитів, супроводжується у 80 % жінок в період менопаузи ожирінням (S. Rodríguez-Cuena, 2007; О. В. Черниш, 2010), що є причиною серцево-судинних розладів, а також передумовою психоемоційних порушень (У. В. Столярова, Н. Ф. Хворостухіна, 2013).

Універсальним маркером естрогендефіцитних станів в період менопаузи вважають вазомоторні порушення, зокрема «приливи жару», порушення сну, пітливість, які відносяться до ранніх симптомів КС (І. А. Кондратов, 2005). На рисунку 3 наведені криві показників температури шкіри біля кореня хвоста самок щурів після введення досліджуваних тест-зразків. У оварієктомованих тварин відзначено вірогідне підвищення температури у порівнянні з ІК до 31,5°C на 10-й год. і 30,8°C на 12-й год., яке розцінювалося як еквіваленти «приливів жару», і свідчило про порушення вазомоторної реакції. Проведення МЗТ супозиторіями з Е сприяло нормалізації температурної кривої до рівня інтактних самок. Після введення гелю з ГЛГ також не виявлено статистично значущих відмінностей в показниках температурної кривої від таких у групі ІК, оскільки він є інгібітором лектину, який відповідає за її підвищення (N. G. Aleksidze, 2012).

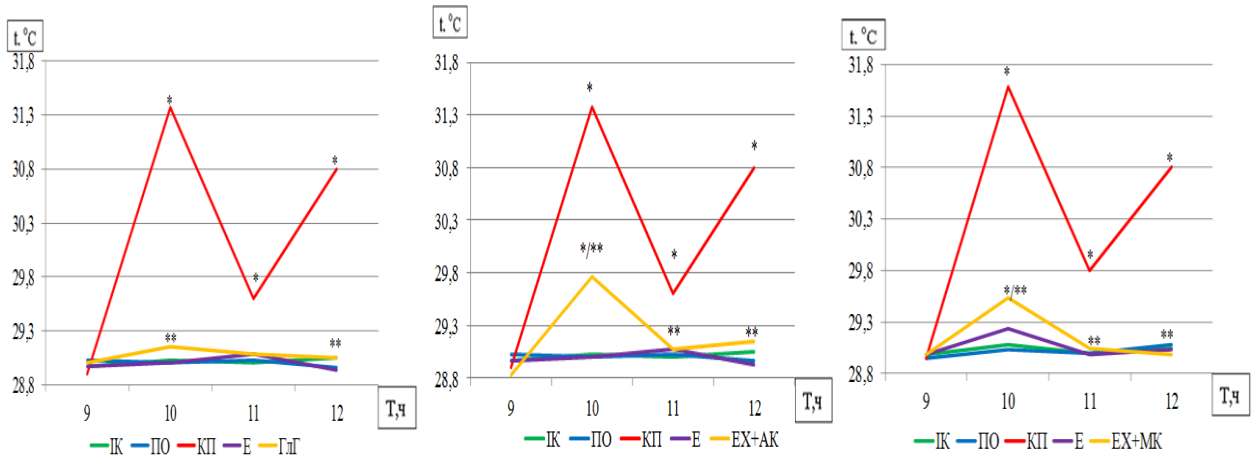


Рис. 3 Температура шкіри біля кореня хвоста у інтактних самок (ІК); псевдооперованих самок (ПО); оварієктомованих нелікованих самок (КП); оварієктомованих самок, що отримували супозиторії з естріолом (Е); або гель з глюкозаміну гідрохлоридом (ГлГ), екстрактом хмелю та аскорбіновою кислотою (ЕХ+АК), екстрактом хмелю та молочною кислотою (ЕХ+МК).

Примітка. * – статистично достовірна різниця з даними групи ІК ($p < 0,05$); ** – статистично достовірна різниця з даними групи КП ($p < 0,05$).

Під впливом гелів з фітоестрогенами хмелю спостерігали лише один підйом температури шкіри біля кореня хвоста на 10-й год., який сягав $29,5^{\circ}\text{C} - 29,8^{\circ}\text{C}$ ($p < 0,05$) по відношенню до ІК, що, ймовірно, пов'язано з їхньою здатністю зменшувати вивільнення ЛГ та ТТГ. Останні відіграють ключову роль у механізмі розвитку «приливів жару» (Р. К. Morrow, D. N. Mattair, G. N. Hortobagyi, 2011). Таким чином, досліджувані гелі або усували патологічні вазомоторні реакції на рівні препарату порівняння (гель з ГлГ), або зменшували вазомоторні прояви гіпоестрогенії (гелі з ЕХ+АК та ЕХ+МК).

Вплив досліджуваних засобів на функціональний стан центральної нервової системи оварієктомованих самок щурів. У період клімактерію нейроендокринна перебудова в організмі жінок часто супроводжується розвитком КС із супутніми психічними порушеннями (тривожність, страх, депресія та інш.), які обов'язково наявні в його структурі та в ряді випадків є домінуючими (А. М. Торчинов, 2006; А. М. Kaunitz, J. E. Manson, 2015). Показано, що в тесті «піднесеного хрестоподібного лабіринту» у оварієктомованих тварин зростала тривожність та знижувалась локомоторна активність, що підтверджувалося вірогідним зменшенням у 2,0 рази часу перебування у світлому рукаві, збільшенням в 1,9 рази тривалості перебування в темному рукаві та в 3,0 рази меншою кількістю переходів між ними відносно ІК. Зміни в поведінці самок повністю редукувалися після лікування супозиторіями з Е. Всі вагінальні гелі виявляли помірну анксиолітичну дію та покращували локомоторну активність. Найбільш повне її відновлення та зменшення тривожності було досягнуто в групі тварин, яким вводили гель з ЕХ+МК. Показник кількості переходів між рукавами різної освітленості у них збільшився в 2,4 рази проти дії гелів з ЕХ+АК (в 1,9 разу) та ГлГ в (2,0 рази). За допомогою тесту «екстраполяційного вивільнення» встановлено, що гіпоестрогенія викликала серйозні когнітивні порушення у тварин, на що вказувало вірогідне зменшення

кількості самок (в 3,0 – 6,0 разів), здатних вирішити завдання, та зростання часу (в 1,7 – 1,9 разу) на його вирішення порівняно з ІК. Когнітивні функції нормалізувалися після лікування препаратом порівняння, а вагінальні гелі справляли на них лише помірну стимулюючу дію, оскільки досліджувані показники не досягали ІК. При вивченні локомоторної, орієнтовно-дослідницької активності та емоційного стану кастрованих самок щурів у тесті «відкрите поле» встановлено вірогідне зменшення кількості заглядань в отвори та вертикальних стійок з одночасним зростанням числа актів дефекацій та уринацій. Супозиторії з Е нормалізували всі досліджувані показники до рівня ІК. Гель з ГЛГ не відрізнявся від препарату порівняння за винятком менш виразного «норкового рефлексу» та збільшення числа фекальних болюсів ($p < 0,05$), що супроводжують емоційні прояви у тварин. На тлі збільшення горизонтальної в 1,7 разу ($p < 0,05$) проти КП або нормалізації вертикальної рухової активності до рівня ІК гель з ЕХ+АК не зменшував прояви вегетативних реакцій. Після введення гелю з ЕХ+МК нормалізувалися всі види активності до рівня ІК, як і у препарату порівняння. Вивчення антидепресивних властивостей досліджуваних тест-зразків у тесті «поведінкового відчаю» за Порсолтом свідчить, що на тлі гіпоестрогенії показники поведінкового відчаю вірогідно перевищували дані ІК в 2,7 – 2,8 рази за сумарним часом іммобілізації та в 1,7 – 1,9 разу за кількістю епізодів нерухомості. Супозиторії з Е повністю усували прояви депресії у самок щурів. Вагінальний гель з ГЛГ виявляв помірні антидепресивні властивості. Фітопрепарати поступалися за антидепресивною дією препарату порівняння. За сукупністю показників, які характеризують позитивний вплив препаратів на центральну та вегетативну нервову систему, найбільш ефективну дію виявляв гель з ЕХ+МК.

Вплив досліджуваних засобів на реологічні властивості крові. За даними літератури (Р. А. Манушарова, Е. І. Черкезова, 2008) у жінок з КС у стінках судин і кров'яному руслі внаслідок змін естрогензалежних обмінних процесів формується синдром «підвищеної в'язкості крові» з порушенням багатьох реологічних показників – збільшення рівня фібриногену, зниження фібринолітичної активності та інш. Гіпоестрогеновий стан у самок щурів призводив до зменшення часу згортання крові в 1,9 – 2,4 рази ($p < 0,05$) та збільшення вмісту фібриногену в плазмі крові в 3,4 – 3,7 рази ($p < 0,05$) порівняно з ІК, що вказує на підвищення в'язкості крові. Препарат порівняння сприяв нормалізації даних показників до рівня інтактних тварин. Вагінальні гелі чинили сприятливу дію на систему гемостазу, що проявлялося вірогідним збільшенням часу згортання крові та зменшенням концентрації фібриногену в 1,2 (ГЛГ), 1,4 (ЕХ+АК) та 1,5 разів (ЕХ+МК) відносно КП. Хоча найбільша активність була притаманна гелю з ЕХ+МК, він поступався супозиторіям з Е за впливом на показники, що характеризують згортання крові.

Морфологічний стан серцево-судинної системи оваріектомованих самок щурів під впливом вагінальних гелей. Одним з наслідків процесу, пов'язаним зі зупиненням функції яєчників, є розвиток захворювань ССС, в основі яких лежать зміни взаємопов'язаних між собою обміну ліпідів, властивостей судинної стінки та системи гемостазу (К. Н. Kim, В. D. Young, J. R. Bender, 2014). Аналізуючи дані гістоструктури ССС оваріектомованих самок щурів, слід відмітити характерний для стану гіпоестрогенії комплекс морфологічних змін (вазоспазм, набряк, розпушеність судинної стінки, вогнищева проліферація, деструкція, дрібновогнищеве накопичення жиру у медіа та інтимі), які можна трактувати як прояви ЕД. Гель з ГЛГ в основному

усував гіпоестрогенові метаболічні зміни у міокарді. Лікування вагінальними гелями з ЕХ+АК та ЕХ+МК усувало прояви дисгормональної кардіопатії та ЕД.

Морфологія кісткової тканини оваріектомованих самок щурів після лікування вагінальним гелем з ЕХ+МК. Ключову роль в обмінних процесах кісткової тканини організму жінки відіграють естрогени. Їхня захисна дія на кісткову тканину в період менопаузи різко знижується, що призводить до розвитку остеопорозу (В. Riggs, 2000; Л. К. Ищейкина, Л. Г. Нетюхайло, 2014). Суперечливість відомостей щодо ефективності фітоестрогенів (S. Schmisch, 2008; О. В. Иванова, 2013) викликало необхідність вивчення впливу вагінального гелю з ЕХ+МК, як найбільш активного, на морфоструктуру кісткової тканини у самок щурів з гіпоестрогенією. В останніх спостерігалися порушення організації компактної (зросла кількість ділянок з порожнинами резорбції, формувались тріщини, зменшувалась щільність та мало місце гибель остеоцитів) і губчастої кісткової тканини (порушувалось формування трабекулярної сітки, знижувалась щільність остеобластів і остеоцитів, підвищувалась щільність остеокластів), тобто розвивались остеопенічні порушення. Лікування супозиторіями з Е не проявляло суттєвої позитивної дії на кісткову тканину. Гель з ЕХ+МК виявляв протективну дію. Загальна кількість лакун зросла в 1,2 разу ($p < 0,05$) у порівнянні з КП. Кількість порожніх лакун складала лише 21 %. У нелікованих тварин та тих, що отримували супозиторії з Е – 36 % та 33,9 %, відповідно. При незмінній кількості остеокластів, кількість остеобластів зросла в 1,5 разу проти КП та в 1,6 разу проти препарату порівняння ($p < 0,05$), відновлюючи рівновагу в процесі «резорбція–кісткоутворення».

Дослідження токсичності вагінального гелю з ЕХ+МК. Дослідження параметрів нешкідливості гелю з ЕХ+МК свідчилоло, що при одноразовому введенні самкам щурів і/в у дозі 6,9 мл/кг або в/ш у дозі 5000 мг/кг він відноситься до практично нетоксичних речовин (V клас токсичності) за класифікацією К. К. Сидорова. Спостереження за тваринами протягом 14 діб і при довготривалому введенні і/в у дозі 1,3 мл/кг (90 діб) не виявило загибелі самок щурів, ознак інтоксикації у них, негативного впливу на стан внутрішніх органів і гонад, коефіцієнти маси яких залишались у межах фізіологічної норми. За результатами морфологічного дослідження не встановлено негативної дії на органи-мішені (яєчники, піхва) та порушень фолікулогенезу.

ВИСНОВКИ

Одним із перспективних напрямів фармакологічної корекції генітоуретрального синдрому, який виникає на фоні фізіологічних (менопаузальних) або патологічних гіпоестрогенових станів, є призначення лікарських препаратів з фітоестрогенами та зволожувальних засобів місцевої дії. Вони швидко усувають патологічну симптоматику, покращують якість життя, мають сприятливий профіль безпеки та залишаються єдиними для пацієнок з наявністю протипоказань до лікування естрогенвмісними препаратами. Висока потреба в таких ліках при обмеженні асортиментних пропозицій та реалізація державної програми імпортозаміщення обумовлюють розробку нових вітчизняних лікарських засобів даної фармакотерапевтичної групи.

У дисертації наведені результати експериментального дослідження, що сприяли вирішенню актуального наукового завдання сучасної фармацевтичної науки та полягали у фармакологічному обґрунтуванні доцільності розробки та клінічного застосування нових вагінальних гелів з глюкозаміну гідрохлоридом, екстрактом хмелю

та аскорбіновою кислотою, екстрактом хмелю та молочною кислотою для корекції гіпоестрогенових станів.

1. Курсове лікування оварієктомованих самок щурів гелем з глюкозаміну гідрохлоридом приводило до відновлення фізіологічного діапазону значень кислотності вагінального секрету (показник рН знижувався в 1,4 разу ($p < 0,05$) проти КП); біотопу піхви (зростала кількість лактобактерій); помірного підвищення функціональної активності епітеліальних клітин ендометрію і маткових залоз; вірогідного підвищення порівняно з тваринами групи КП вмісту естрадіолу в 1,5 разу та прогестерону у 2,9 рази; редукції патологічних вазомоторних реакцій «приливи жару» на рівні дії препарату порівняння; покращення стану центральної нервової системи, що проявлялося помірним посиленням когнітивної функції і рухової активності тварин, зменшенням тривожності і вегетативного супроводу поведінкових реакцій. Приріст маси тіла тварин становив 19,7 %, тоді як у самок щурів групи КП – 27,2 %, покращувались реологічні властивості крові (в 1,2 разу збільшився час згортання крові, в 1,2 разу зменшився рівень фібриногену ($p < 0,05$) порівняно з КП). За даними морфологічних досліджень усувались ознаки розвитку ендотеліальної дисфункції в коронарних судинах, гіпоестрогенові метаболічні зміни у міокарді.

2. Курсове введення оварієктомованим самкам щурів гелю з екстрактом хмелю та аскорбіновою кислотою сприяло нормалізації функціонального стану генітального тракту, зокрема відновленню мікробіоценозу піхви та показнику рН вагінального середовища (до 5,8 од. проти 8,0 од. ($p < 0,05$) у КП), утворенню цервікального слизу у 67 % тварин; усувало атрофічні зміни макро- та мікроскопічної організації слизової оболонки піхви і матки; підвищувало рівень статевих гормонів у 1,5 разу естрадіолу та у 2,4 рази прогестерону ($p < 0,05$) по відношенню до КП; приріст маси тіла тварин був 17,5 % проти 27,2 % у групі КП; зменшувало виразність вазомоторних проявів гіпоестрогенії; покращувало реологічні властивості крові (у 1,4 разу збільшився час згортання крові та в 1,4 разу зменшився рівень фібриногену ($p < 0,05$) по відношенню до КП); виявляло помірну стимулюючу дію на когнітивну функцію, дослідницьку та рухову активність, позитивно впливало на емоційний стан щурів, що можна вважати проявом анксиолітичної дії; усувало розвиток дисгормональної кардіоміопатії та ендотеліальної дисфункції. За досліджуваними показниками гель поступався ефективності супозиторіям з естріолом.

3. Фармакологічна дія вагінального гелю з екстрактом хмелю та молочною кислотою характеризувалася вірогідним відновленням біоценозу піхви та зниженням показника рН вагінального секрету в 1,4 разу проти КП; усуненням розвитку атрофічних проявів у слизовій оболонці піхви та матки; помірним відновленням гормонального профілю, а саме підвищенням рівня естрадіолу в 1,9 разу та прогестерону в 5,1 рази ($p < 0,05$) відносно КП; зменшенням приросту маси тіла 10,2 % проти 15,1 % у групі КП та проявів вазомоторних порушень; сприятливою дією на систему гемостазу, що позначалось збільшенням часу згортання крові у 1,5 разу та зменшенням рівня фібриногену у 1,5 разу ($p < 0,05$) проти групи КП; вірогідним покращенням когнітивних функцій, позитивним впливом на орієнтовно-дослідницьку та рухову активність, нормалізуванням емоційних реакцій, що відповідало помірній анксиолітичній дії. Вагінальне введення гелю усувало патоморфологічні зміни міофібрилярного апарату серця та розвиток ендотеліальної дисфункції. На відміну від супозиторіїв з естріолом, він виявляв протективну дію на кісткову тканину (збереження життєздатності осте-

оцитів, стимулювання активності остеобластів та відновлення рівноваги у процесі «резорбція-кісткоутворення»).

4. Порівняння лікувальної ефективності досліджуваних тест-зразків показало, що найбільш ефективним за сумарним рейтингом досліджуваних показників був вагінальний гель з екстрактом хмелю та молочною кислотою, що підтверджувалося наступним: нормалізацією вагінального біотопу за рахунок відновлення чисельності лактобактерій до рівня ІК на відміну від гелю з глюкозаміну гідрохлоридом; підвищенням вмісту статевих гормонів порівняно з КП та найменшим приростом маси тіла тварин на рівні препарату порівняння супозиторіїв з Е; більш виразним зниженням гіперкоагуляційних розладів. Встановлена виразна його естрогеноподібна активність на відміну від гелів з екстрактом хмелю та аскорбіновою кислотою і глюкозаміну гідрохлоридом, що підтверджено даними морфологічних досліджень слизової оболонки піхви (потовщення вагінального епітелію, накопичення глікогену в епітеліальному пласті). На відміну від гормонівмісного препарату порівняння він усував остеопенічні порушення в кістковій тканині.

5. За результатами вивчення гострої токсичності гелю з екстрактом хмелю та молочною кислотою встановлено, що при одноразовому внутрішньошлунковому (5000 мг/кг) та інтавагінальному (6,9 мл/кг) шляхах введення він відноситься до практично нетоксичних речовин (V клас токсичності за класифікацією К. К. Сидорова, 1973). Тривале інтравагінальне введення гелю з ЕХ+МК (90 діб) у дозі 1,3 мл/кг не супроводжувалось ознаками інтоксикації, не викликало загибелі самок щурів, не впливало на їх загальний стан, поведінку, морфоструктуру «органів-мішеней» (яєчники, піхва) та фолікулогенез.

6. Результати фармакологічних досліджень свідчать про ефективність нового гелю з екстрактом хмелю та молочною кислотою на моделі експериментального гіпоестрогенового стану у тварин, який наближався до дії гормонівмісного препарату порівняння та мав сприятливий профіль нешкідливості. Отримані результати обґрунтовують доцільність розробки та його використання в клінічній практиці в якості альтернативного препарату менопаузальної замісної терапії для профілактики та лікування патологічних і фізіологічних гіпоестрогенових станів.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Редукция симптомов гипоестрогении у овариэктомированных крыс под влиянием вагинального геля с экстрактом шишек хмеля / О. С. Синицына, И. М. Рыженко, А. В. Зайченко, М. Л. Бавыкина // Український біофармацевтичний журнал. – 2015. – № 6. – С. 20-24 (*особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті*).
2. The effect of a vaginal gel with hop cones phytoestrogens on the hormonal state and morphostructure of the reproductive organs in spayed rats / O. S. Sinitsyna, G. V. Zaychenko, I. M. Ryzhenko, Yu. V. Laryanovskaya // Клінічна фармація. – 2016. – Т. 20, № 1. – С. 34-38 (*особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті*).
3. The effect of a new vaginal gel with the hop extract on the cardiovascular system in spayed female rats/ O. S. Sinitsyna, G. V. Zaychenko, I. M. Ryzhenko, Yu. V. Laryanovskaya // Вісник фармації. – 2016. – № 2 (86). – С. 64-68 (*особистий*

внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті).

4. Корекція станів, асоційованих з дефіцитом естрогенів, за допомогою комбінованого вагінального гелю з екстрактом хмелю та молочною кислотою / О. С. Сініцина, Г. В. Зайченко, І. М. Риженко, Ю. Б. Лар'яновська // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2016. – № 3 (49). – С. 80-88 (*особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті*).

5. Морфоструктура костной ткани овариэктомированных самок крыс на фоне применения нового вагинального геля с фитоэстрогенами хмеля и молочной кислотой / О. С. Сеницына, Н. В. Дедух, А. В. Зайченко, И. М. Рыженко // Вестник фармации. – 2016. – № 2 (72). – С. 72-78 (*особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті*).

6. Influence of vaginal administration of glucosamine hydrochloride to psychoemotional and locomotor activity of spay female rats / O. S. Sinitsyna, G. V. Zaychenko, I. M. Ryzhenko // Eureka: Health sciences. – 2016. – № 2(2). – P. 43-48 (*особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка статті*).

7. Патент України на корисну модель № 103042 МПК А61К 36/00, А61К 9/06, С07С 59/08, С07С 31/00, С12С 3/08, А61Р 15/00. Гель комбінованого складу для лікування та профілактики при гіпоестрогенових станах у гінекології / Л. І. Вишневіська, Г. В. Зайченко, Н. П. Половко, М. В. Бавикіна, В. А. Мегалінський, О. С. Сініцина, Д. В. Литкін; заявник та патентовласник Національний фармацевтичний університет. – № u 2015 06470; заявл. 30.06.2015; опубл. 25.11.2015, бюл. № 22. – 5 с (*особистий внесок здобувача: здійснення патентного пошуку, участь в експерименті, підготовка патенту*).

8. Comparative study of anxiolytic properties of gel with glucosamine hydrochloride and suppositories with estriol in spayed rats / O. S. Sinitsyna, D. V. Lytkin, A. A. Pilipenko, I. M. Ryzhenko, G. V. Zaychenko // Actual questions of development of new drugs: Abstracts of XX International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Students, Kharkiv, April 2015). – Kharkiv: Publishing Office NUPh, 2015. – P. 336.

9. Сеницына О. С. Изучение антидепрессивных свойств геля с 5% глюкозамина гидрохлоридом и суппозиторияев «Овестин» на фоне экспериментальной овариэктомии / О. С. Сеницына, И. М. Рыженко // Материалы II Научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической биохимии», г. Харьков, 27-28 мая 2015. – Харьков, 2015. – С. 23-24.

10. Сеницына О. С. Коррекция физико-химических свойств вагинального секрета новым гелем, содержащим фитоэстрогены хмеля / О. С. Сеницына, И. М. Рыженко, А. В. Зайченко // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Пріоритетні наукові напрями у медицині: від теорії до практики», м. Одеса, 18-19 вересня 2015 р. – Одеса: ГО «Південна фундація медицини», 2015. – С. 10-14.

11. Изучение влияния нового вагинального геля, содержащего фитоэстрогены хмеля на биотоп влагалища, у овариэктомированных самок крыс / О. С. Сеницына, И. М. Рыженко, Н. И. Филимонова, А. В. Зайченко // Матеріали VIII Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю. «Досягнення клінічної фармакології та фармакотерапії», м. Вінниця, 9-10 листопада 2015.– Нілан-ЛТД, 2015. – С. 231-233.

12. Влияние вагинального геля комбинированного состава с экстрактом шишек хмеля на гемореологические показатели у крыс после хирургической овариэктомии /

А. В. Зайченко, О. С. Сеницына, В. Ф. Осташко, Д. В. Лыткин // Материалы 63-ей годичной научно-практической конференции с международным участием «Вклад медицинской науки в оздоровление семьи», г. Душанбе, 20 ноября 2015. – Душанбе, 2015. – С. 54-55.

13. Влияние вагинального геля с фитоэстрогенами шишек хмеля на морфоструктуру миокарда овариэктомированных самок крыс / О. С. Сеницына, И. М. Рыженко, А. В. Зайченко, Ю. Б. Ларьяновская // Актуальні питання медичної теорії та практики: Збірник матеріалів міжнародної науково-практичної конференції, м. Дніпропетровськ, 11-12 грудня 2015. – Дніпропетровськ: Організація наукових медичних досліджень «Salutem», 2015. – С. 108-110.

14. Сеницына О. С. Влияние нового вагинального геля с экстрактом шишек хмеля на структурно-функциональное состояние матки на фоне эстрогенного дефицита у крыс / О. С. Сеницына, И. М. Рыженко, А. В. Зайченко // Материалы республиканской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации». – Ташкент, 2015. – С. 399-401.

15. Сеницына О. С. Антидепрессивный эффект вагинального геля комбинированного состава с экстрактом шишек хмеля у крыс после хирургической овариэктомии / О. С. Сеницына, И. М. Рыженко // Материалы республиканского научного журнала «Вестник», Казахстан, 2015. – № 4 (73). – С. 122-124.

16. Сініцина О. С. Зміни макро- та мікроскопічного стану генітального тракту овариєктомованих самок щурів під впливом вагінального гелю з екстрактом шишок хмелю та молочною кислотою / О. С. Сініцина // Науково-практична конференція з міжнародною участю «Досягнення та перспективи експериментальної та клінічної ендокринології», Харків 10-11 березня. – Харків, 2016. – С. 123-125.

17. Влияние вагинального геля с экстрактом хмеля и молочной кислотой на состояние костной ткани у самок крыс с гипоестрогенией / О. С. Сеницына, И. М. Рыженко, А. В. Зайченко, Н. В. Дедух // Матеріали міжнародної науково-практичної конференції «Актуальні проблеми клінічної, теоритичної, профілактичної медицини, стоматології та фармації», м. Одеса, 8-9 квітня 2016 р. – Одеса: Міжнародний гуманітарний університет, 2016. – С. 159-163.

18. Sinitsyna O. S. Investigation of psychotropic (anxiolytic) activity of vaginal gel with hop extract and lactic acid in female rats with estrogen deficiency / O. Sinitsyna, M. Pivovarova // Topical issues of new drug development: Abstracts of international Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Students, Kharkiv, April 23, 2016. – Kharkiv: Publishing Office NUPh, 2016. – P. 79-80.

19. Інноваційні підходи до фармакологічної корекції гіпоестрогенових станів вагінальним гелем з екстрактом хмелю та молочною кислотою / Г. В. Зайченко, І. М. Риженко, Л.І. Вишневська, О. С. Сініцина, М. Л. Бавикіна // Інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я №43 – 2016. – Укрмедпатентінформ МОЗ України – Випуск 7 з проблеми «Фармація». – К., 2016. – 3 с (*особистий внесок здобувача: участь в експерименті, аналіз даних, підготовка інформаційного листа до видання*).

АНОТАЦІЯ

Сініцина О. С. Фармакологічне дослідження нових вагінальних лікарських форм для корекції гіпоестрогенових станів. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2016.

Дисертаційна робота присвячена фармакологічному вивченню нових вагінальних гелей з глюкозаміну гідрохлоридом та комбінованого складу, які містять як основні компоненти екстракт хмелю, аскорбінову або молочну кислоти для корекції естрогендефіцитних станів, у порівнянні з препаратом менопаузальної замісної терапії – вагінальними супозиторіями з естріолом.

У оварієктомованих самок щурів на тлі гіпоестрогенового стану, що імітує симптоми подібні до менопаузального синдрому у жінок, встановлена здатність досліджуваних засобів покращувати функціональний стан генітального тракту (відновлення мікробіоценозу піхви та кислотності вагінального секрету), усувати атрофічні зміни у слизовій оболонці піхви та міометрії, позитивно впливати на гормональний фон тварин (вміст естрадіолу та прогестерону), прояви вазомоторної реакції у вигляді «приливів жару». Після лікування вагінальними гелями покращувався або нормалізувався стан центральної нервової системи (орієнтовно-дослідницька рухова активність, когнітивні функції). Введення тест-зразків запобігало розвитку ендотеліальної дисфункції в коронарних судинах та дисгормональної кардіопатії. Найбільшу ефективність виявляв гель з екстрактом хмелю та молочною кислотою. На відміну від супозиторіїв з естріолом для нього характерна протективна дія по відношенню до кісткової тканини. Не виявляє токсичної дії в гострому та хронічному досліді при внутрішньошлунковому та інтравагінальному шляхах введення.

Ключові слова: вагінальний гель, глюкозаміну гідрохлорид, екстракт хмелю, аскорбінова кислота, молочна кислота, оварієктомовані самки щурів, менопаузальні розлади, гіпоестрогенія.

АННОТАЦИЯ

Синицына О. С. Фармакологическое исследование новых вагинальных лекарственных форм для коррекции гипоестрогеновых состояний. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2016.

Работа посвящена фармакологическому изучению новых вагинальных гелей с глюкозамина гидрохлоридом и комбинированного состава, которые содержат как основные компоненты экстракт хмеля, аскорбиновую или молочную кислоту для коррекции эстрогендефицитных состояний в сравнении с препаратом менопаузальной заместительной терапии – вагинальными суппозиториями с эстриолом.

У овариэктомированных самок крыс на фоне гипоестрогении, что соответствуют симптомам похожим на менопаузальный синдром у женщин, установлена способность исследуемых тест-образцов улучшать или нормализовать

функциональное состояние генитального тракта, а именно, возобновлять вагинальный микробиоценоз и показатели кислотности вагинального секрета. Так, введение геля с глюкозамина гидрохлоридом способствовало лишь умеренному уменьшению количества условно-патогенных микроорганизмов, повышению колонизации лактобактерий, но практически не влияло на количество клостридий. Направленность действия гелей с экстрактом хмеля и аскорбиновой кислотой, экстрактом хмеля и молочной кислотой на вагинальный биоценоз была такой же, как после введения суппозиторий с эстриолом. В то же время наиболее выраженный антибактериальный эффект по отношению к стафилококкам, аэробным Гр-бактериям и способность восстанавливать численность лактобактерий в большей степени отмечено у геля с экстрактом хмеля и молочной кислотой. Данные гистологического исследования тканей матки и влагалища свидетельствуют о том, что курсовое введение геля с глюкозамина гидрохлоридом не оказывало на них «типичного» эстрогеноподобного действия, но уменьшало проявление признаков эндотелиальной дисфункции в «органах-мишенях». После применения комбинированных гелей с фитоэстрогенами хмеля в микроскопической картине четко прослеживались признаки их эстрогеноподобного влияния т. е. отмечалась способность предупреждать атрофические изменения в слизистой влагалища и матки.

Показано позитивное влияние исследуемых тест-образцов на гормональный фон животных (содержание эстрадиола и прогестерона), вазомоторные реакции в виде «приливов жара». Под их влиянием уровень эстрадиола достоверно повысился в 1,5 раза (гель с ГлГ, ЭХ+АК) и в 2,5 раза (гель с ЭХ+МК), а уровень прогестерона в 2,9; 2,4 и 5,6 раз, соответственно по сравнению с группой контрольной патологии. Гель с экстрактом хмеля и молочной кислотой проявлял наибольшую эффективность. После лечения вагинальными гелями улучшалось или нормализовалось состояние нервной системы (ориентировочно-исследовательская двигательная активность, когнитивные функции, анксиолитическое, антидепрессивное действия), параметры гемостаза. Курсовое введение тест-образцов предотвращало развитие эндотелиальной дисфункции в коронарных сосудах и дисгормональной кардиопатии. Наибольшую эффективность по изучаемым показателям проявлял гель с фитоэстрогенами хмеля и молочной кислотой, несколько уступая при этом препарату сравнения. Однако, в отличие от суппозиторий с эстриолом он оказывал протективное действие по отношению к костной ткани, что проявлялось сохранением жизнеспособности остецитов, стимулированием остеобластов и восстановлением равновесия в процессах «резорбция–костеобразование».

Полученные данные о профиле безопасности вагинального геля с экстрактом хмеля и молочной кислотой при однократном внутрижелудочном (5000 мг/кг) и интравагинальном (6,9 мл/кг) путях введения свидетельствуют об отсутствии гибели животных, токсического влияния на общее состояние и поведение самок крыс. При патоморфологическом исследовании внутренних органов и их коэффициентов массы не обнаружено отклонений от нормы. Долгосрочное (90 суток) интравагинальное введение (1,3 мл/кг) также не оказывало токсического действия на организм животных, морфоструктуру «органов-мишеней» (яичники, влагалище) и фол-

ликулогенез. По классификации К. К. Сидорова исследуемый гель относится к практически нетоксичным веществам (V класс токсичности).

Таким образом, проведенные исследования экспериментально обосновывают целесообразность разработки и использования нового вагинального геля с экстрактом хмеля и молочной кислотой в терапии менопаузального синдрома и позволяют считать его альтернативным препаратом для лечения физиологических и патологических гипоэстрогеновых состояний.

Ключевые слова: вагинальный гель, глюкозамина гидрохлорид, экстракт хмеля, аскорбиновая кислота, молочная кислота, овариэктомированные самки крыс, менопаузальные расстройства, гипоэстрогения.

SUMMARY

Sinitsyna O. S. Pharmacological research of the new vaginal medicinal forms for correction hypoestrogen states. – As a manuscript.

The thesis for a Candidate of Pharmaceutical Sciences degree in specialty 14.03.05 – Pharmacology. – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2016.

The dissertation is devoted to the pharmacological research of the new vaginal gels with glucosamine hydrochloride and combined composition, which containing hop extract, ascorbic or lactic acid as main components, for correction of estrogen-deficiency states compared with the medicine of menopausal replacement therapy – vaginal suppositories with estriol.

The studied medicines had the ability to improve or normalize the functional state of genital tract (restoration of vaginal microbiocenosis and acidity of vaginal secretions), to prevent atrophic changes in vaginal mucosa and myometrium in spayed female rats on the background of hypoestrogen state, simulating symptoms of menopausal syndrome in women. Positive influence of the medicines on the endocrine profile of animals (the content of estradiol and progesterone), vasomotor reaction in the form of "hot flushes" has been shown. After treatment with vaginal gels the state of the central nervous system (orientation and research motor activity, cognitive function) have become improved or normalized. The administration of drugs has prevented the development of endothelial dysfunction in coronary vessels and dishormonal cardiopathy. Gel with hops extract and lactic acid was the most effective upon the studied indications. Unlike suppositories with estriol, it is characterized by the protective action on the bone tissue. At the same time, it had a favorable safety profile in acute and chronic research.

The performed studies experimentally confirm the feasibility of development and use of the gel of hops extract and lactic acid in the therapy of menopausal syndrome and allow it for consideration as an alternative drug for prevention and treatment of hypoestrogen states.

Keywords: vaginal gel, glucosamine hydrochloride, hops extract, ascorbic acid, lactic acid, spayed female rats, menopausal disorders, hypoestrogenism.