

Міністерство охорони здоров'я України  
Національний фармацевтичний університет

РАВШАНОВ ТИМУР БАХОДІРОВИЧ

УДК 615.65-002-007.61:615.322:615.454.2:615.032.35

ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОСТАТОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ  
СУПОЗИТОРІЇВ КОМБІНОВАНОГО СКЛАДУ

14.03.05 – фармакологія

Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних наук

Харків – 2020

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Національному фармацевтичному університеті МОЗ України, м. Харків.

**Науковий керівник:**

доктор медичних наук, професор  
**ЗАЙЧЕНКО Ганна Володимирівна,**  
Національний медичний університет  
імені О.О. Богомольця МОЗ України (м. Київ),  
завідувач кафедри фармакології

**Офіційні опоненти:**

доктор медичних наук, професор  
**БОНДАРЕНКО Володимир Олександрович,**  
ДУ «Інститут проблем ендокринної патології  
ім. В.Я. Данилевського Національної академії медичних  
наук України» (м. Харків),  
завідувач відділенням патології статевих залоз

доктор медичних наук, професор  
**ДЕВ'ЯТКІНА Тетяна Олексіївна,**  
Українська медична стоматологічна академія  
МОЗ України (м. Полтава),  
професор кафедри експериментальної та клінічної  
фармакології з клінічною імунологією та алергологією

Захист відбудеться « 8 » жовтня 2020 р. о 13<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д.64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4.

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

Автореферат розісланий « 7 » вересня 2020 р.

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

К. Г. Щокіна

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Важливим питанням сучасної медицини є збереження стану здоров'я, фертильності та статевої функції чоловіків. Більша частина з них після 45 років страждає на розлади статевої функції, про що свідчить великий загальний клінічний досліджень. (А. Е. Calogero et al., 2019). У зв'язку з цим розробка нових ефективних лікарських засобів (ЛЗ) для фармакотерапії хронічних захворювань передміхурової залози (ПЗ) є досить актуальною проблемою сучасної медицини і фармації

Доброякісна гіперплазія передміхурової залози (ДГПЗ) – хронічне прогресуюче гормонально-метаболічне захворювання, асоційоване з віком (И. А. Тюзиков, С. Ю. Калинин, 2016; D. Mobley et al., 2015). На тлі вікового дисбалансу статевих гормонів розвивається простатична залозисто-стромальна гіперплазія, що супроводжується симптомами нижнього сечовивідного тракту у близько половини чоловіків у віці старше 60 років (А. А. Камалов, С. Д. Дорофеев, 2013).

У більшості теорій патогенезу ДГПЗ ключовими є проблеми гормональної регуляції, які базуються як на дисбалансі експресії рецепторів до андрогенів (AR) та естрогенів (ER), так і метаболізмі гормонів у базальних та люмінальних клітинах ПЗ (V. W. Nitti, 2005). Індуктором розвитку ДГПЗ вважають компенсаторне зростання активності ферментів метаболізму тестостерону (Т) за умов дефіциту андрогенів, що призводить до підвищеного утворення 5 $\alpha$ -відновленого (5 $\alpha$ -дигідротестостерон, 5 $\alpha$ -ДГТ) та ароматизованого (естрадіол, E<sub>2</sub>) метаболітів Т (И. А. Тюзиков и соавт., 2017; M. Oelke et al., 2017). Виявлено гіперекспресію 5 $\alpha$ -редуктази у клітинах ПЗ, а підвищення рівню дигідротестостерону (ДГТ) у чоловіків асоціюється зі збільшенням ризику ДГПЗ (J. K. Parsons et al., 2010). На цьому патогенетичному механізмі базується застосування інгібіторів 5 $\alpha$ -редуктази, які знижують концентрацію ДГТ у сироватці, внаслідок чого гальмується клінічне прогресування ДГПЗ і симптоми нижнього сечовивідного тракту (J. C. Nickel et al., 2011). Зменшення об'єму клітин ПЗ (на 20%–30% після 12 міс. лікування) зменшує концентрацію AR, що зменшує рівень внутрішньо простатичного Т і знижує його конверсію в 5 $\alpha$ -ДГТ, інгібуючи зв'язування, активацію AR (A. Ryl et al., 2015) та унеможливаючи індукцію ДГПЗ. ER також залучені у патогенез ДГПЗ: показано, що у пацієнтів з ДГПЗ експресія ER $\alpha$  знижена, а експресія ER $\beta$  не змінена (P. Zhang et al., 2016), хоча питання про роль ER при ДГПЗ залишається дискусійним.

Провідний тренд терапії ДГПЗ полягає у призначенні ЛЗ, які специфічно впливають на метаболізм статевих гормонів у ПЗ, зокрема, інгібіторів 5 $\alpha$ -редуктази (азидутастерид, фінастерид та ін.). Значну частку лікарських призначень в Україні (близько 40 %) складають фітопрепарати, серед яких перспективними є ЛЗ, що містять біологічно активні сполуки з антиферментними, гормоноподібними та антиоксидантними властивостями. До групи фітопрепаратів можна віднести засоби з індол-3-карбінолом (ІЗК), який є однією із активних сполук екстракту броколі. ІЗК показав свою ефективність у комплексній терапії гормонозалежних захворювань (H. L. Bradlow, 2008). Виходячи з фармакодинамічних характеристик, цілком ймовірно, що ІЗК може спрямовано впливати на механізми розвитку ДГПЗ. Створення композиції з ІЗК та нестероїдного протизапального засобу мелоксикам у

вигляді ректальних супозиторіїв дозволить підвищити ефективність ЛЗ, розширити спектр фармакологічних ефектів та показань до застосування при ДГПЗ, що є актуальним напрямком сучасної медицини та фармації.

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

Дисертаційна робота є фрагментом 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), в яких автор є співвиконавцем.

**Мета і завдання дослідження.** Метою даної роботи є фармакологічне обґрунтування розробки нового лікарського засобу з ІЗК та мелоксикамом у формі ректальних супозиторіїв, як перспективного простатопротекторного засобу.

Для досягнення поставленої мети було необхідно вирішити наступні завдання:

1. Визначити простатопротекторну дію супозиторіїв комбінованого складу (СКС) з ІЗК та мелоксикамом на моделі індукованої сульпіридом гіперплазії ПЗ у щурів зрілого віку за комплексом показників: гістоструктура ПЗ, масові коефіцієнти органів, активність лужної (ЛФ) та кислій фосфатаз (КФ), концентрація фруктози, андрогенний стан за феноменом «листя папороті» та інтегральними показниками клітинних змін ПЗ (концентрація в гомогенаті ER та AR, активність 5 $\alpha$ -редуктази).

2. Дослідити ефективність простатопротекторної дії СКС у щурів на моделі тестостерон-індукованої гіперплазії ПЗ за характеристиками її гістоструктури та іншими інтегральними показниками (масові коефіцієнти органів, активність ЛФ та КФ, концентрація фруктози, андрогенний стан за феноменом «листя папороті»).

3. Визначити вплив ІЗК, як діючої речовини СКС, на патогенетичні ланки розвитку ДГПЗ.

4. Вивчити вплив СКС на показники репродуктивної функції щурів самців з сульпірид-індукованою гіперплазією ПЗ за характеристиками гістоструктури гонад, станом сперматогенезу (вміст сперматозоїдів, частка патологічних форм, нерухомих та мертвих гамет, осмотична резистентність, тривалість руху сперматозоїдів) та рівнем статевих гормонів (концентрація у сироватці крові Т, вільного тестостерону (вТ) та Е<sub>2</sub>), наявність інших токсичних ефектів.

5. Порівняти ефективність СКС з рефернс-препаратом та обґрунтувати доцільність подальшої розробки досліджуваного ЛЗ.

*Об'єкт дослідження* – доброякісні захворювання передміхурової залози.

*Предмет дослідження* – фармакологічні властивості СКС, що містять ІЗК та мелоксикам, призначених для корекції захворювань ПЗ (зокрема ДГПЗ).

**Методи дослідження.** Фармакологічні (моделювання сульпірид- та тестостерон-індукованої гіперплазії ПЗ); гістоморфологічні (світлооптична мікроскопія); біохімічні (визначення активності КФ та ЛФ, концентрації фруктози); імуноферментні (визначення активності 5 $\alpha$ -редуктази, концентрації рецепторів гормонів, концентрації статевих гормонів); статистичні методи.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше експериментально обґрунтовано доцільність розробки нового лікарського засобу з ІЗК та мелоксикамом у формі ректальних супозиторіїв, як перспективного простатопротекторного засобу.

Фармакологічними дослідженнями поглиблено наукові уявлення щодо механізмів лікувальної дії, доведено специфічну простатопротекторну активність розроблених СКС. Отримано нові дані, що доводять лікувальний ефект СКС, в основі якого лежить інгібування активності індуктора гіперплазії ПЗ 5 $\alpha$ -редуктази (на 82,0 %,  $p < 0,05$ ), чому сприяє зменшення як вмісту рецепторів андрогенів (на 72,3 %,  $p < 0,05$ ), так і співвідношення між кількістю AR та ER. Уточнено, що у клітинах ПЗ при моделюванні гіперплазії зменшується співвідношення гормон/рецептор незалежно від генезу патології.

Поглиблено знання щодо внутрішньоклітинних механізмів простатопротекторного ефекту СКС. Встановлено, що корекція СКС супроводжується нормалізацією гормонпродукуючої активності гонад з відновленням рівня статевих гормонів (на моделі сульпірид-індукованої гіперплазії ПЗ): зростання у 1,3 разу концентрації Т, у 2,6 разу – вТ та у 4,3 разу – Е<sub>2</sub> відповідно, порівняно з КП.

Експериментально доведена відсутність гонадотоксичної дії СКС при корекції патології ПЗ, оскільки виявлено позитивний вплив на масові коефіцієнти статевих залоз, концентрацію фруктози в сім'яних пухирцях активність фосфатаз, гормональну функцію сім'яників (збільшення концентрації Т та Е<sub>2</sub> на 50,0 % та 633,3 % відповідно,  $p < 0,05$ ) з поліпшенням перебігу сперматогенезу за кількісними та якісними параметрами спермограми.

**Практичне значення одержаних результатів.** Розроблено новий комбінований засіб у вигляді ректальних супозиторіїв з ІЗК та мелоксикамом на поліетиленоксидній основі з вираженою простатопротекторною активністю для лікування доброякісних захворювань ПЗ. Обґрунтовано доцільність розробки нового комбінованого препарату для поповнення асортименту вітчизняних ліків простатопротекторами природного походження. Отримано патент України на корисну модель № 134165 від 10.05.2019 р. «Фармацевтична композиція у формі супозиторіїв для лікування доброякісних захворювань передміхурової залози».

За результатами роботи видано інформаційний лист «Спосіб лікування захворювань передміхурової залози за допомогою комбінації індол-3-карбінолу та мелоксикама» № 141-2019. Результати дисертаційної роботи впроваджено в науково-дослідну роботу лабораторії репродуктивної ендокринології ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В.Я. Данилевського НАМН України» (протокол № 5 від 30.11.2019 р.).

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Постановка мети та завдань, обговорення результатів проведені разом з науковим керівником. Безпосередньо автором здійснено: патентно-інформаційний пошук та аналіз літературних даних за темою дисертації; проведення експериментального дослідження, участь у проведенні лабораторних та морфологічних досліджень; статистична обробка та аналіз отриманих результатів. Морфологічні дослідження виконані за консультативної допомоги ст. н. с. ЦНДЛ НФаУ, к. біол. н. Лар'яновської Ю. Б.

Співавторами наукових праць є науковий керівник та науковці, спільно з якими проведені дослідження. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту частково належить фактичний матеріал й основний творчий доробок.



Персональний внесок дисертанта в усіх опублікованих працях зі співавторами (Г. В. Зайченко, О. Я. Міщенко, В. С. Зайченко, О. А. Рубан, Н. О. Горчакова, О. С. Сініцина, Ю. Б. Ларьяновська, А. В. Березняков, О. Л. Халєєва, Ю. С. Маслій, К. Г. Жемерова, Д. В. Музичко, Д. В. Литкін) вказано за текстом дисертації, а також в авторефераті у списку фахових публікацій. Співавтором наукових праць дисертантом Зайченком В. С. захищена дисертація «Розробка складу та технології комбінованих ректальних супозиторіїв з індол-3-карбінолом», Харків, 2019. Дисертант вдячний всім науковцям та співавторам за методичну та консультативну допомогу.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення роботи викладено та обговорено на: III науково-практичній Internet-конференції з міжнародною участю «Товарознавчий аналіз товарів обмеженого аптечного асортименту» (Харків, 15.04.2016), XXIII International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student «Topical issues of new drugs development» (Харків, 21.04.2016), VIII з'їзді фармацевтів України «Фармація XXI століття - тенденції та перспективи» (Харків, 13.09.2016), Республіканській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации» (Ташкент, 11.10.2016), V Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології» (Харків, 18.11.2016), XIV Міжрегіональній науковій конференції «Актуальні питання біології та медицини» (Старобільськ, 22.12.2016), Міжнародній науково-практичній конференції World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (Киото, 01.07.2018).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 15 наукових праць, у тому числі 6 статей у фахових журналах, рекомендованих МОН України, з них 2 у виданнях, що входять до міжнародних наукометричних баз, 1 патент України на корисну модель, 7 тез доповідей, 1 інформаційний лист.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація 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 (175 посилань, з них 74 – кирилицею, 101 – латиницею), 3 додатки. Обсяг основного тексту дисертації складає 135 сторінок друкованого тексту. Дисертація ілюстрована 32 таблицями та 54 рисунками.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали і методи дослідження.** Об'єкт досліджень був розроблений на кафедрі заводської технології ліків під керівництвом д.фарм.н., професорки Рубан О. А. за участі аспіранта Зайченко В. С. До складу дослідних зразків СКС входили – ІЗК 200 мг, мелоксикам 7,5 мг, поліетиленоксидна супозиторна основа.

У роботі було задіяно 86 білих нелінійних щурів самців з розплідника віварію ЦНДЛ НФаУ (м. Харків). При роботі з тваринами дотримувались вимог Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Україна, 2006), узгодженого з «Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург,

1986), 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 (протокол № 1 від 02.10.2019). Дизайн дослідження наведено на рис. 1.



Рис. 1 Схема дизайну дослідження експериментального вивчення СКС.

В усіх дослідах СКС вводили ректально в дозі 0,45 мг/кг за мелоксикамом (групи СКС). Препаратом порівняння обрано аналог за медичним призначенням – супозиторії з олією насіння гарбуза, який вводили у дозі 35 мг/кг маси тіла (група ОНГ, «Фітосвічки з олією гарбуза», ТУУ 24.5-31062507-037:2011, ТОВ «Дослідний завод ГНЦЛС», Україна).

Дослідження специфічної активності обраних зразків СКС проводили на гормон-залежних моделях гіперплазії ПЗ. Модель сульфпірид-індукованої гіперплазії ПЗ (СІГП) у щурів відтворювали шляхом хронічного внутрішньочеревного введення сульфпіриду, що призводило до гіперпролактинемії з наступним розвитком гіперплазії ПЗ (Н. В. Тишевская и соавт., 2017). Сульфпірид у дозі 40 мг/кг вводили 24 самцям щурів віком 9-11 міс. та масою тіла 320-360 г впродовж 31 доби. Наступного дня розпочинали введення СКС у лікувальному режимі впродовж 14 діб. Виведення тварин усіх груп з експерименту було проведено на 15 добу шляхом швидкої декапітації.

Модель тестостерон-індукованої гіперплазії ПЗ відтворювали щоденним введенням тестостерону пропіонату (ТсП) кастрованим самцям щурів (M. Kantah et al., 2017). В експеримент були залучені 30 самців щурів віком 12-14 тижнів з масою тіла 160-180 г. Частину з них було орхідектовано під наркозом (Тіопенат, Бровафарм, Україна), на третю добу розпочинали введення ТсП (5 мг/кг, п/ш) впродовж 14 днів. Наступного дня розпочинали введення СКС у лікувальному режимі впродовж 14 діб. Виведення тварин усіх груп з експерименту проводили на 28 добу експерименту шляхом швидкої декапітації.

Об'єктом морфологічного дослідження слугувала ПЗ щурів (медіанні зрізи), а саме: ділянка дорсолатеральної частки (ДЛЧ) ПЗ щурів, що включає зони проходження ампул сім'яносних протоків та простатичної частини сечовипускного каналу. На відбитках секрету з вентральної частки ПЗ щурів усіх груп експериментів визначали рівень андрогенної насиченості (АН) організму за типом кристалізації (Б. А. Вартапетов, А. Н. Демченко, 1975). Оцінку типу кристалізації секрету проводили за 4-х бальною системою (О. В. Стефанов, 2001; Г. В. Зайченко, 2008).

Оцінка інтегральних показників співвідношення об'єму залишкової сечі до площі сечового міхура проводилася під час автопсії.

Активність КФ та ЛФ досліджували спектрофотометрично використовуючи набори реагентів (ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика», Україна).

Рівень статевих гормонів у зразках сироватки крові визначали імуноферментним методом за допомогою тест-системи Тестостерон-ІФА та тест-системи Естрадіол-ІФА (НВЛ «Гранум», Україна). Оцінка рівня вільного Т (вТ) відбувалася за допомогою набору для проведення подвійного імуноферментного аналізу («сендвіч тесту») Free Testosterone Test System виробництва MonoBind Inc., США (P/C: 5375-300).

Визначення активності 5 $\alpha$ -редуктази у гомогенаті тканин ПЗ проводили за допомогою набору реактивів «SRD5A2 ELISA Kit» виробництва Aviva Systems Biology, США (ОКЕН03719). Концентрацію ER та AR у гомогенаті тканин ПЗ визначали видоспецифічними наборами реактивів «Esr1 ELISA Kit (Rat)» та «Ar ELISA Kit (Rat)» виробництва Aviva Systems Biology, США (ОКЕН03324 та ОКЕН03276). Зразки гомогенатів тканин простати виготовлювали за описаною у наборах процедурою.

Оцінку стану репродуктивної функції давали враховуючи гістоморфологічну характеристику гонад, концентрацію фруктози в гомогенатах тканин сім'яних пухирців (набори реагентів (ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика», Україна), масові коефіцієнти (КМ) статевих органів, а також показники спермограми (кількісні та якісні показники сперматозоїдів), користуючись методикою Є.К. Мілованова в модифікації Г.І. Єгорової (Р.У. Хабрієв та співавт., 2005). Визначали осмолярну стійкість, концентрацію, тривалість руху, кількість патологічних та нерухомих форм сперматозоїдів. Визначення рН суспензії епідидимальних сперматозоїдів здійснювалось за допомогою рН-метра рН-150МИ.

Зразки тканин для гістологічного дослідження готували за загальноприйнятими методами, зрізи фарбували гематоксилін-еозином (Г. А. Меркулов, 1969; Ю. Б. Лар'яновська, Н. В. Котелевець, 2005). Огляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Micros 400. Мікрофотографування мікроскопічних зображень



здійснювали цифровим фотоапаратом Nikon Cool Pix 4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Nikon Viv 5.

Впродовж 14 діб на 32 самцях щурів проведено більш детальне вивчення впливу СКС при введенні супозиторної маси у максимально можливному об'ємі ректально (1000 мг/кг) або перорально (5000 мг/кг) на стан слизової оболонки шлунка та кишківника. Оцінювали фізіологічні (базальна температура тіла, частота дихання, характер активності, вживання корму та води) та морфологічні показники (маса тіла, макроскопічна морфологічна оцінка внутрішніх органів, визначення маси та макроскопічних змін в органах) самців щурів. Основні токсикологічні дослідження були проведені у співавторстві з к.фарм.н. Зайченком В. С. (Т. Б. Равшанов, Г. В. Зайченко, 2019; Т. Ravshanov et al, 2019).

Статистичний аналіз результатів проводили за допомогою пакету програм Excel 10.0 та Statistica 6.0. У таблицях представлені результати досліджень як медіана (*Me*) та інтерквартильний розмах у вибірці (*LQ*; *UQ*). Перевірку нульової гіпотези про відсутність різниці між групами проводили із застосуванням U-критерію Манна-Уїтні. Різницю між групами вважали статистично значущою при  $p < 0,05$  (С. Н. Лапач та співавт., 2001; А. А. Халафян, 2007).

**Результати та їх обговорення.** Для дослідження спроможності СКС з ІЗК зменшувати прояви гіперплазії ПЗ гормонального генезу проведено експеримент на моделі СИП. Використаний для створення моделі гіперплазії ПЗ сульпірид — відомий лікарський засіб з антидопамінергічною дією. Гіперпролактинемія, яка розвивається внаслідок тривалого надходження сульпіриду, є патогенетичною основою змін у простаті щурів (F. Van Corpenolle et al., 2001). Механізмами розвитку гіперплазії ПЗ під впливом сульпіриду є посилення проліферація та гіпертрофія клітин залозистого епітелію (Е. А. Шубникова, 1996).

Розвиток гіперплазії простати у щурів після введення сульпіриду був підтверджений гістологічними дослідженнями, які показали, що в ПЗ, відносна маса якої зросла на 41,9 % ( $p < 0,05$ ), наявні яскраві ознаки вогнищевої гіперплазії простатичного та протокового епітелію з запальними процесами у стромі, порівняно до щурів інтактного контролю (ІК). В одних ацинусах гіперплазія проявлялася збільшенням довжини, чисельності, гіллястості та щільності розташування складок епітелію при збереженні однорядного характеру розміщення клітин (рис. 2). У других – втрачався впорядкований однорядний характер розташування клітин. Простежується дистрофія, видна вакуолізація цитоплазми клітин епітелію. Аналогічні зміни простежені в епітелію вивідних проток простатичних залозок, які часто більш звивисті. Помічено виразне збільшення розміру частини ацинусів, особливо у межовій зоні з дорсолатеральною частиною. У стромі дорсолатеральної частини ПЗ зустрічалися запальні інфільтрати. Подібна проліферація епітелію дещо нагадує проліферати епітелію аденоматозного характеру при ДГПЗ людини. Також виявлені ознаки гіперплазії епітелію ацинусів різних простатичних залозок, більша звивистість протоків простатичних залозок, збільшення розміру ацинусів, що аналогічно морфологічній картині ДГПЗ у людей (Ю. В. Кудрявцев, А. В. Сивков, 2010). Переважною ознакою дії СКС є зменшення гіперплазії епітелію (рис. 2). При цьому у більшості ацинусів зменшується розмір, чисельність складок епітелію,

упорядковуюються епітеліальні клітини у вистилці, на відміну від групи контрольної патології (КП).

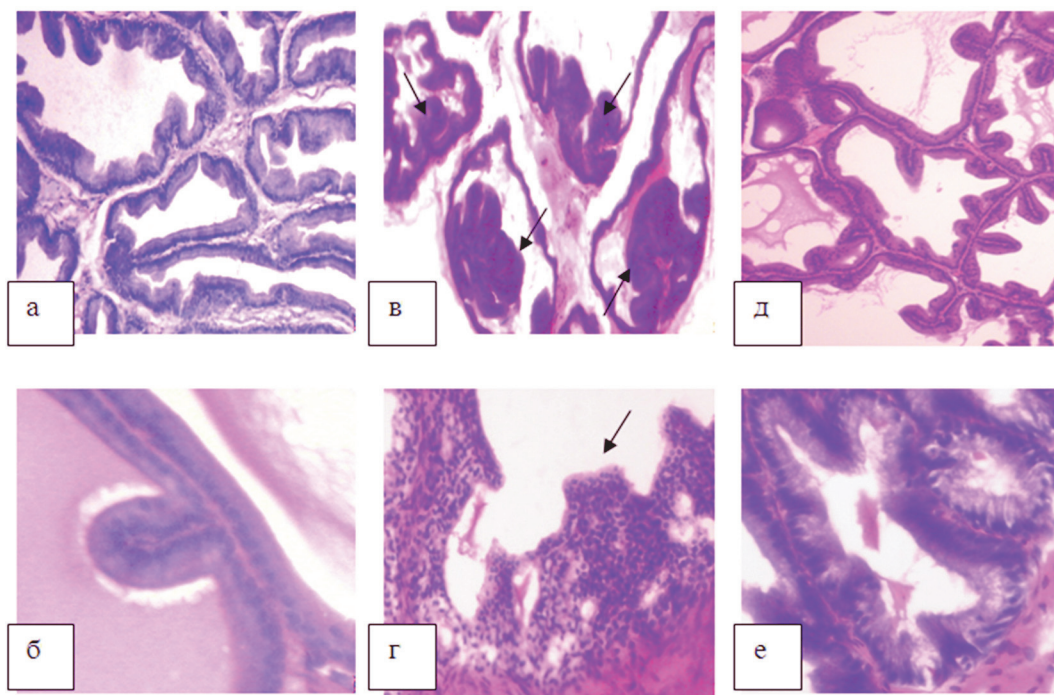


Рис. 2 Передміхурова залоза інтактного щура (а, б), після введення сульпіриду (в, г) та щура після корекції СКС (д, е). а – зона перешийку між вентральними частками, б – межова зона з дорсолатеральною часткою, в – межова зона з дорсолатеральною часткою, г – крупна вивідна протока простатичної залозки, д – епітеліальні вирости у ацинусах у межовій зоні з дорсолатеральною часткою, е – вивідні протоки простатичних залозок. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. а, в, д – х200; б, г, е – х400.

Корекція СКС сприяла достовірному збільшенню активності 5 $\alpha$ -редуктази (на 170 %), зменшенню концентрації Т та вТ (на 44,8 % та 11,7 % відповідно), а також Е<sub>2</sub> (на 84,2 %) на тлі зростання вмісту рецепторів у гомогенаті залози: ER – на 128 % та AR – на 910 % ( $p < 0,05$ ) (рис. 3). У тканині простати виявлено статистично вірогідне зменшення співвідношення Т/AR та Е<sub>2</sub>/ER (на 94,4 % та на 93,1 %), що відповідає виявленому зменшенню концентрації статевих гормонів. Зростання співвідношення AR/ER майже удвічі ( $p < 0,05$ ) свідчить про порушення внутрішньоклітинного метаболізму Т, зокрема, на шляху його ароматизації. Тобто, отримані дані свідчать про розвиток низки функціональних, морфологічних та біохімічних порушень функції ПЗ у стані гіперплазії.

Також відмічене дворазове зменшення показника АН (оцінка рисунка «листя папороті»), вмісту фруктози (на 43,7 %) та погіршення спермограми (зменшення концентрації сперматозоїдів на 31,2 %, серед яких майже вдвічі збільшувалась частка аномальних форм), змінами кислотно-лужного балансу суспензії гамет, хоча патологічні зміни гістоструктури тестикулярної тканини носять різноспрямований характер і скоріше пов'язані зі спонтанною патологією.

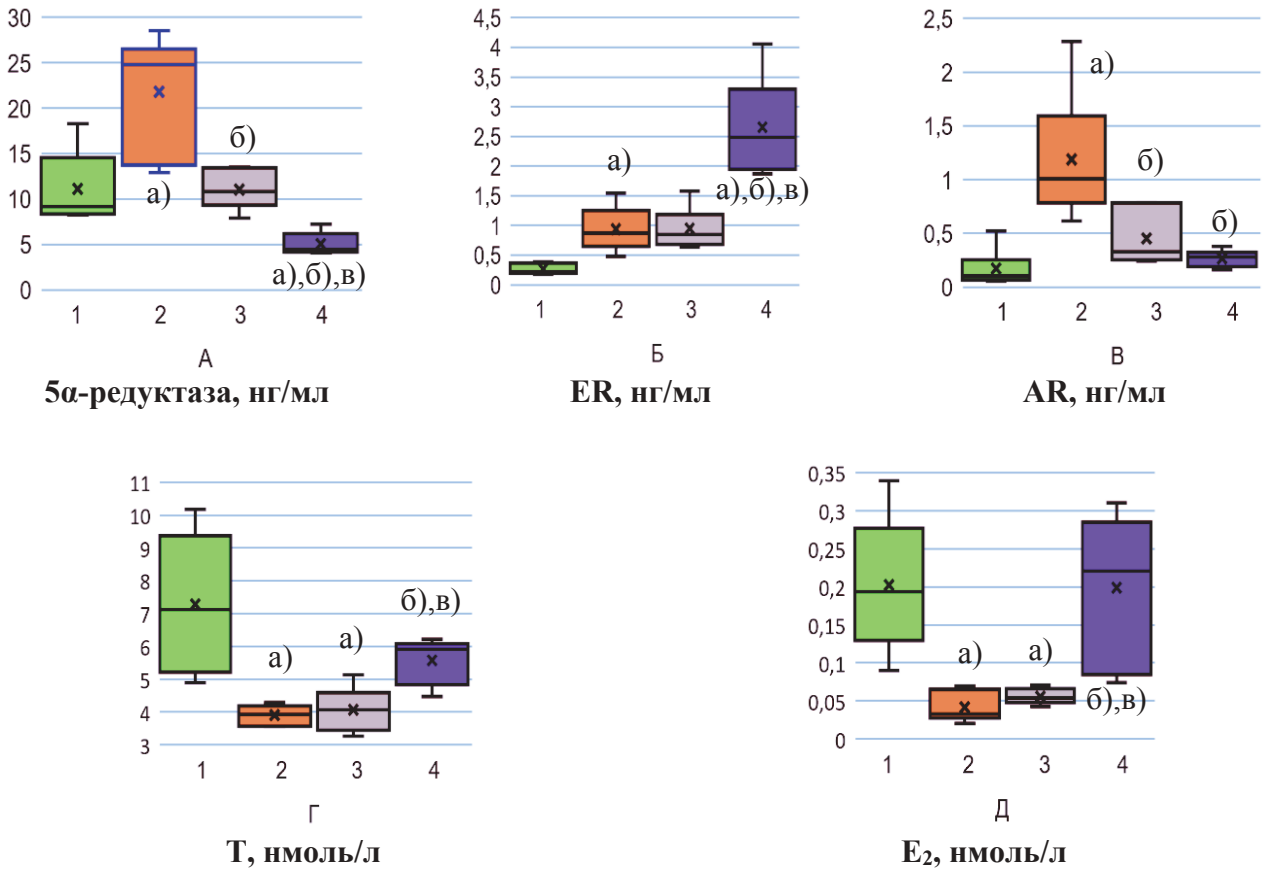


Рис. 3 Активність 5α-редуктази, концентрація рецепторів до статевих гормонів (ER та AR) у гомогенаті простати та гормонів (Т та E<sub>2</sub>) у сироватці крові щурів з сульпірид-індукованою гіперплазією простати після курсового введення СКС (Me; Q25. Q75), n=6.

Примітки. 1 – група ІК; 2 – група КП; 3 – група ОНГ; 4– група СКС; <sup>a)</sup>– статистично вірогідні відмінності проти групи ІК (p<0,05); <sup>б)</sup> – статистично вірогідні відмінності проти групи КП (p<0,05); <sup>в)</sup> – статистично вірогідні відмінності проти групи ОНГ (p<0,05); n – кількість тварин у групі.

При 14-денному введенні СКС з ІЗК та мелоксикамом позитивні зміни проявлялися зникненням клітинної запальної реакції у стромі, що може бути пов'язано з ефектом останнього, здатного пригнічувати біосинтез простагландинів, медіаторів запалення. Такий ефект може бути пояснено наявністю у супозиторіях ІЗК, здатного значною мірою впливати на метаболізм андрогенів, зменшуючи активність 5α-редуктази (на 82,0 %, p<0,05), вмісту AR (на 72,3 %, p<0,05), а також проявляти протипухлинну активність, пригнічувати поділ клітин. Введення СКС нормалізувало відносну масу ПЗ, покращувало АН організму зі зростанням рівня фруктози у сім'яних пухирцях (на 45%), нормалізацією активності фосфатаз, поліпшенням якісних показників гамет (зменшення частки патологічних та нерухомих гамет на 27,8 % та 28,4 % відповідно, p<0,05). Дослідження структури сім'яників щурів не виявило порушень у процесі сперматогенезу, органічних змін у гістологічній будові тестикулярної тканини, тобто, введення СКС, як і введення ОНГ, було нешкідливим для гонад. За виразністю ефект СКС переважав ефект референтного препарату ОНГ, що пояснюється саме різним механізмом дії сполук. Можна думати, що така різниця

є результатом позитивного впливу ІЗК, який входить до складу СКС, внаслідок чого значно знизилась (майже вдвічі) активність 5 $\alpha$ -редуктази, суттєво зменшився вміст AR (рис. 3). Це вплинуло на гормональний баланс і проявилось нормалізацією концентрації загального Т відносно групи КП (зростання на 51,1 %,  $p < 0,05$ ).

Можна відмітити, що курсове введення СКС не позначилося на рівні ER при суттєвому зростанні концентрації гормону, хоча повідомляють про вплив ІЗК на метаболізм естрогенів. Однак, виявлено зменшення підвищеного за умов патології співвідношення AR/ER. Скоріше за все вплив ІЗК на метаболізм естрогенів здебільше стосується характеру подальшого метаболізму E<sub>2</sub>, тобто, змін співвідношення 2-гідроксіестрону та 16-гідроксіестрону, що зменшує вірогідність гіперпластичних ефектів естрогенів (D. T. N. Verhoeven et al., 1997).

Наступним етапом було досліджено простатопротекторну та гормон-модулюючу дії СКС на моделі гіперплазії ПЗ, індукованої ТсП. Застосування великих доз ТсП призвело до зростання у щурів коефіцієнту маси ПЗ та сім'яних пухирців у порівнянні з гонадектомованими тваринами (Оперовані) (на 92,6 % та 68,1 % відповідно,  $p < 0,05$ ), найкращій кристалізації секрету вентральної ПЗ, збільшенню рівню фруктози у сім'яних пухирцях (на 24,8 %,  $p < 0,05$ ), до різноспрямованих змін активності фосфатаз. Такі відмінності відмічено на тлі зростання концентрації Т та вТ (на 83,1 % та 124,4 %,  $p < 0,05$ ), причому частка вТ зростала особливо помітно. Збереження досить високого рівня Т після гонадектомії пов'язано з тим, що ендогенний Т в організмі тварин ще певний час після видалення сім'яників зберігається у вигляді комплексу з білками. Виявлене значне зменшення вмісту E<sub>2</sub> при застосуванні надмірних доз ТсП у порівнянні з ІК (на 84,0 %) може бути пов'язано з пригніченням активності ароматази або зменшенням субстрату – ендогенний Т – для синтезу E<sub>2</sub>. Вочевидь, що курсове введення ТсП та зменшення концентрації E<sub>2</sub> було причиною зменшення концентрації білків, що зв'язують андрогени, що своєю чергою призвело до зростання частки вТс.

Виявлено також й клітинні зміни у ПЗ, які безпосередньо відповідають за розвиток гіперплазії ПЗ при введенні ТсП (рис. 4). Це зростання активності 5 $\alpha$ -редуктази у гомогенаті ПЗ (на 133,0 %,  $p < 0,05$ ), концентрації ER (на 247,0 %,  $p < 0,05$ ) та AR (у 34 рази,  $p < 0,05$ ). Зростання відношення AR/ER (у 7,6 разу,  $p < 0,05$ ) в гомогенаті ПЗ у порівнянні з групою ІК відповідало значному збільшенню концентрації саме AR.

У гонадектомованих щурів, що зазнали андрогенної стимуляції, у порівнянні з кастрованими тваринами дифузно по всіх досліджених частках ПЗ відмічена виразна гіпертрофія ацинусів простатичних залозок, майже повністю заповнених еозинофільним і щільним секретом (рис. 5). Крім того, відмічається як проліферація, так і гіперплазія залозистого епітелію стінок ацинусів різних типів простатичних залозок в обох досліджених частках ПЗ, що співпадає з даними, отриманими іншими авторами (С. В. Бондарь, А. А. Краевский, 2016).

Часто в ацинусах залозок, локалізованих у дорсолатеральній частині ПЗ (переважно 3-4 тип), є ознаки часткової зміни типу секретії з мерокринного на апокринний (Е. А. Шубникова, 1996) – відшаровування апікальних частин клітин внаслідок надмірної стимуляції секреторної активності епітелію.



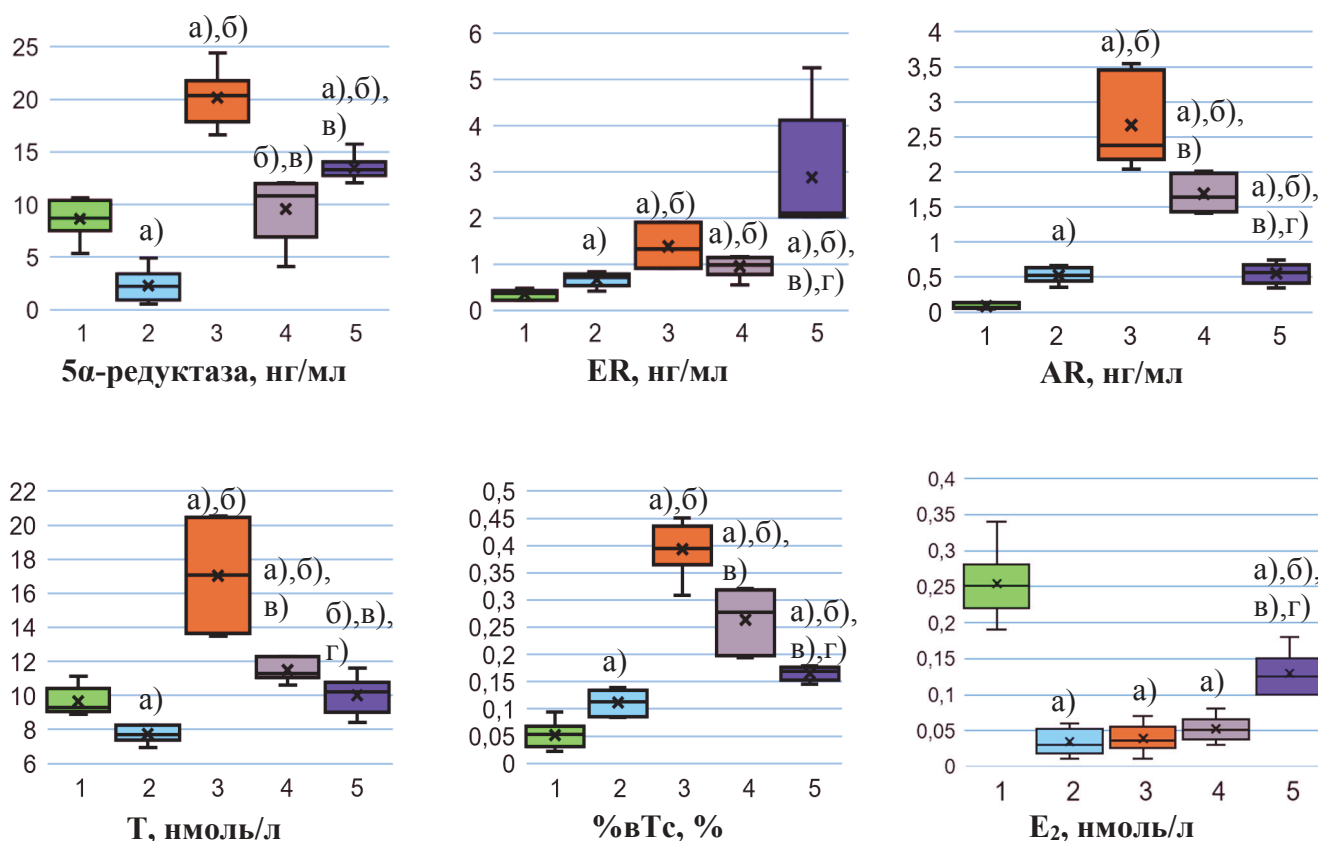


Рис. 4 Активність 5α-редуктази, концентрація рецепторів до статевих гормонів (ER та AR) у гомогенаті простати та гормонів (Т, %vTc та E<sub>2</sub>) у сироватці крові щурів з тестостерон-індукованою гіперплазією простати після корекції (Me; Q25. Q75), n=6.

Примітки. 1 – група ІК; 2– група Оперовані; 3 – група КП; 4 – група ОНГ; 5– група СКС; а)– статистично вірогідні відмінності проти групи ІК (p<0,05); б) – статистично вірогідні відмінності проти групи Оперовані (p<0,05); в) – статистично вірогідні відмінності проти групи КП (p<0,05); г) – статистично вірогідні відмінності проти групи ОНГ (p<0,05); n – кількість тварин у групі.

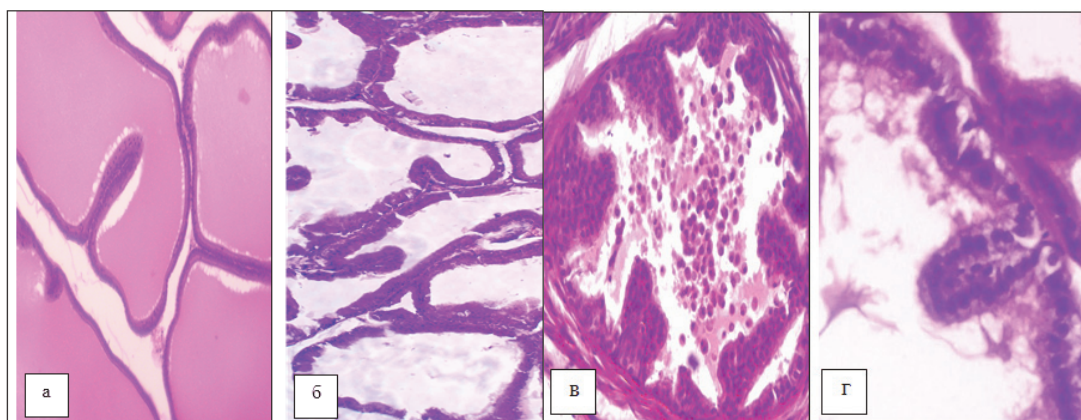


Рис. 5 Передміхурова залоза гонадектомованого щура в умовах стимуляції тестостероном пропіонатом. а - гіпертрофія простатичних залозок, локалізованих у вентральній частці (1 тип), б - зона перешийку між вентральними частками (2 тип), в – ацини простатичних залозок, локалізованих у дорсолатеральній частці, г – вакуолізація епітелію. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. а, б – x200; в – x250; г – x400.



Проведені морфометричні виміри та їхній аналіз переконливо довели атрофічні зміни у ПЗ гонадектомованих щурів. Після андрогенної стимуляції периметр ацинусів простатичних залозок, локалізованих у вентральній частині, вірогідно збільшився відносно кастрованих щурів у 4,5 разу та більш ніж у 1,5 разу у порівнянні з ІК.

Середній периметр усіх проаналізованих ацинусів простатичних залозок, локалізованих у ДЛЧ ПЗ (3-5 тип), збільшився у 3,5 разу у порівнянні до гонадектомованих щурів. Морфометричні виміри препаратів щурів з ТГП показали статистично вірогідне збільшення периметру ацинусів простатичних залозок, локалізованих у вентральній частині, відносно кастрованих щурів у 4,5 разу, та більш, ніж у півтори разу – у порівнянні з ІК.

Отже, отримано дані, які свідчать про розвиток низки функціональних, морфологічних та біохімічних порушень ПЗ, які відображують стан гіперплазії ПЗ у щурів після курсового введення ТсП.

Введення СКС сприяло зменшенню коефіцієнту маси ПЗ (на 20,3 %,  $p < 0,05$ ), нормалізувало вміст фруктози у сім'яних пухирцях та співвідношення КФ/ЛФ. При використанні ОНГ аналогічних змін не спостерігалось, показники залишались на рівні КП і вірогідно відрізнялися від групи, що отримувала СКС. Ефект СКС полягав у зменшенні концентрації андрогенів: Т – до величини ІК (на 40,2 %,  $p < 0,05$ ), абсолютної кількості й частки вТ (на 40,2 % та 56,4 % відповідно,  $p < 0,05$ ), однак концентрація  $E_2$  зростала (на 225 %,  $p < 0,05$ ) у порівнянні з КП й дорівнювала 52,0 % від величини ІК. За цими результатами СКС переважали дію препарату порівняння (група ОНГ).

При застосуванні СКС зменшувалась активність  $5\alpha$ -редуктази у клітинах ПЗ (на 34,4 % у порівнянні з КП,  $p < 0,05$ ). Хоча ефективністю СКС поступалася ОНГ, але це можливо пов'язано з більшим ступенем зменшення концентрації Т в крові після курсу СКС. Такі зміни внаслідок застосування СКС спостерігалися на фоні зменшення концентрації AR (на 76,0 %) майже до рівня гонадектомованих тварин, та зростання концентрації ER попри стабільно низький рівень  $E_2$ . При цьому відмічена нормалізація співвідношення AR/ER. Через зростання концентрації ER (у 5,5 разу) та зменшення вмісту  $E_2$  відношення  $E_2/ER$  знижується на порядок. Але величина вТс/AR є максимально наближеною до даних ІК. Такі особливості клітинних змін, скоріш за все, є результатом дії складової СКС, а саме – ІЗК.

Введення ОНГ не впливало на концентрацію ER. Тобто, ефект СКС на ПЗ на клітинному рівні переважав ефект ОНГ. В групі, що отримувала препарат порівняння, спрямованість та абсолютна величина всіх показників не відрізнялися від КП (модельна патологія гіперплазії ПЗ).

Введення СКС щурам з ТГП сприяло зменшенню виразності гіпертрофії ацинусів простатичних залоз. Частина ацинусів залозок, локалізованих як у вентральній, так і ДЛЧ ПЗ, були збільшені. У передній частці зберігалася виразність гіпертрофії кінцевих відділів (рис. 6). Гіпертрофія ацинусів залозок у значно меншому ступеню супроводжувалася проліферацією епітелію. Стан секрету в просвіті ацинусів був більш наближеним до ІК. Зменшена наявність ацинусів залозок (3-4 тип) з відшарованими апікальними відділами епітеліальних клітин (еозинофільні «утворення») та їх чисельність. Відсутня десквамація клітин, втім, у деяких ацинусах трапляється доволі виразна вакуолізація епітелію (рис. 6).

Про зменшення ознак гіпертрофії у групі, що отримувала СКС, свідчить й зменшення на 24,9 % периметру ацинусів, локалізованих у вентральній частці ПЗ, та на 15,6 %, 30,8 % та 17,7 % (відповідно 3-5 типу залозок) у дорсолатеральній частині простати у порівнянні з КП. Однак, переважна більшість кінцевих відділів простатичних залозок ще не досягала ІК за виключенням ацинусів залозок 5 типу.

Після введення шурам з гіперплазією ПЗ супозиторіїв з ОНГ (препарату порівняння) на гістологічних зрізах зберігалися ознаки гіпертрофії значної кількості ацинусів простатичних залозок у всіх досліджених частках ПЗ. Спостерігалась вогнищева проліферація з порушенням розташування в ряду епітеліальних клітин. У частині ацинусів збереглися збільшеними видовжені епітеліальні вирости. Мали місце й непрямі ознаки часткової зміни типу секреції, пов'язані з надмірним підвищенням секреторної активності епітелію – відшаровані апікальні відділи клітин у просвіті ацинусів (3-4 тип), поява злущених клітин (у меншій кількості ніж у групі КП). Також спостерігали вакуолізацію епітелію у ряді ацинусів та наявність запальних реакцій периваскулярно у стромі ДЛЧ поблизу сім'яної протоки.

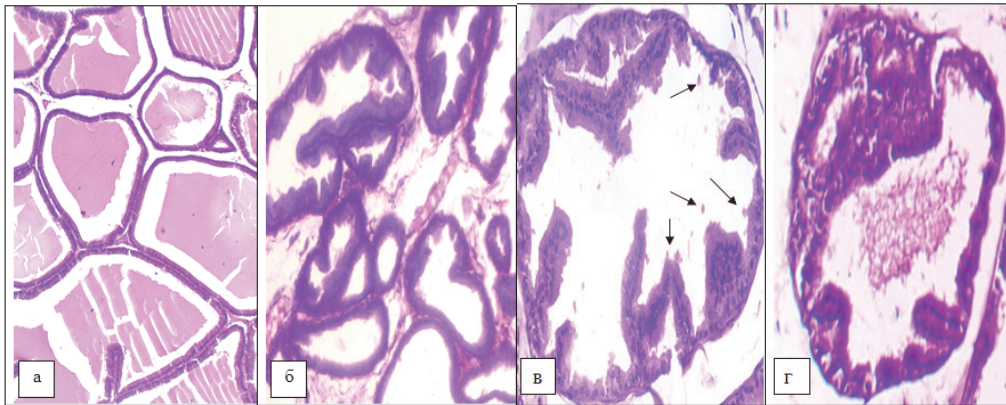


Рис. 6 Передміхурова залоза гонадектомованого щура, якому на тлі стимуляції тестостероном пропіонатом вводили СКС. а – зменшення частини ацинусів простатичних залозок, локалізованих у вентральній частці, б – у зоні перешийку між вентральними частками, в – відсутність десквамації епітелію, виразне зменшення відшарованих апікальних відділів клітин, г – вакуолізація цитоплазми епітелію. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб. а, б –  $\times 200$ ; в, г –  $\times 250$ .

Морфометрія зрізів ПЗ показала, що у щурів з гіперплазією ПЗ корекція супозиторіями з ОНГ не позначилась на периметрі ацинусів простатичних залозок вентральної частини ПЗ, зменшення показника у залозок усіх типів дорсолатеральної частини простати не набувало статистичної достовірності. Порівняння наслідків терапії супозиторіями з ОНГ або СКС показує перевагу останніх за більшістю проаналізованих морфологічних ознак.

Обов'язковий етап дослідження нових біологічно активних речовин та ЛЗ – визначення токсикологічних характеристик СКС, був попередньо виконаний у співавторстві з к. фарм. н. Зайченком В.С. При проведенні поглибленого дослідження токсикодинаміки СКС при одноразовому введенні, супозиторну масу вводили одноразово ректально (1000 мг на тварину) або перорально (4500 мг на тварину). Введення супозиторної маси СКС ані у першу добу, ані у подальшому на 3, 7 та 14

добу не позначилося на фізіологічних характеристиках (стан волосяного покриву, відкритих ділянок шкіри, харчова поведінка, виділення, рухливість та таке інше) та масі тіла. В усі вищезазначені періоди частина тварин (по 4 тварин) виводилась з експерименту та визначались масові коефіцієнти органів щурів. При обох варіантах введення у кожному з періодів вимірювані параметри не мали вірогідних розбіжностей та залишалися у межах референтної вікової норми.

При макроскопічному морфологічному дослідженні встановлено, що у 25 % щурів підгрупи 1 (per os введення), через 24 год та 3 доби відзначалась гіперемія слизової оболонки шлунку. Це може бути пов'язано з впливом мелоксикаму, адже пригнічення активності циклооксигенази-2 може дещо знижувати антацидний захист слизової оболонки шлунку (В. М. Астахов, 2011). Слід підкреслити, що при введенні СКС у розрахованій терапевтичній дозі за мелоксикамом (0,45 мг/кг) щури масою 200-220 г отримують 0,09-0,10 мг речовини. Тобто, щури з підгрупи 1, яким вводили 4,5 г супозиторної маси per os, отримали 10,45 мг мелоксикаму, що у більш ніж 100 разів перевищує терапевтичне дозування. Тому гіперемію слизової оболонки можна вважати очікуваним, але маловірогідним небажаним проявом, враховуючи рекомендоване дозування та шлях введення.

Аналіз отриманих результатів дозволив дійти висновку, що фармацевтична композиція ІЗК та мелоксикаму у вигляді ректальних супозиторіїв на моделях сульпірид- та тестостерон-індукованої гіперплазії ПЗ позитивно впливає на стан ПЗ, демонструє виразну простатопротекторну дію, не чинить токсичного ефекту й придатна для тривалого використання.

## ВИСНОВКИ

Прогресуюча з віком доброякісна гіперплазія передміхурової залози – одне з найпоширеніших захворювань сечостатевої системи чоловіків. Комбінована терапія (нестероїдні протизапальні засоби,  $\alpha$ -адреноблокатори, холінолітики, інгібітори  $5\alpha$ -редуктази) нерідко викликає ускладнення, у тому числі порушення репродуктивної функції, статевої активності. За стандартами Європейської асоціації урологів рекомендовано включати при терапії захворювання фітопрепарати. На них припадає до 40 % від усіх лікарських призначень при захворюваннях сечостатевої системи, оскільки вони мають позитивний ефект на стан залози, добру переносимість та комплайентність у хворих. Це визначає актуальність пошуку та розробки лікарських засобів на основі природних сполук для лікування захворювань передміхурової залози.

У дисертаційній роботі наведено теоретичне обґрунтування та експериментальне вирішення актуальної наукової задачі, яке полягає у пошуку та розробці нових простатопротекторів. Доведено позитивний вплив супозиторіїв з індол-3-карбінолом та мелоксикамом, що виявляють ефективність при експериментальній гіперплазії передміхурової залози.

1. СКС проявляють позитивну дію щодо сульпірид-індукованої гіперплазії передміхурової залози, нормалізуючи її відносну масу (зменшення на 40,0 %,  $p < 0,05$ ) та покращуючи гістоструктуру (зменшення кількості та розмірів епітеліальних сосочків, відновлення упорядкованого однорядного розташування епітеліальних

клітин в епітеліальній вистилці простатичних залозок та вивідних протоках, відсутність запальних процесів у стромі), а також суттєвим зменшенням патологічних змін у залозі на клітинному рівні з нормалізацією активності 5 $\alpha$ -редуктази (на 82,0 %,  $p < 0,05$ ), та вмісту рецепторів статевих гормонів (рецепторів андрогенів на 72,3 %, рецепторів естрогенів на 185 %,  $p < 0,05$ ).

2. При гіперплазії простати іншого генезу, що викликана гіперандрогенізацією, двотижневе введення СКС у щурів зменшує відносну масу залози (на 20,3 %,  $p < 0,05$ ) та морфологічні ознаки патології, зокрема, гіпертрофію ацинусів простатичних залозок, мінімізує прояви гіперплазії залозистого епітелію, чому сприяє зменшення вмісту загального й вільного тестостерону (на 40,2 % та 40,2 % відповідно,  $p < 0,05$ ), активності 5 $\alpha$ -редуктази (на 34,4 %,  $p < 0,05$ ) та концентрації рецепторів андрогенів (на 76,0 %,  $p < 0,05$ ).

3. Корекція патологічних змін у щурів з індукованою гіперплазією простати різного генезу при застосуванні СКС відбувається завдяки специфічній здатності індол-3-карбінола знижувати активність 5 $\alpha$ -редуктази, відповідальної за утворення індуктора гіперплазії передміхурової залози дигідротестостерону, зменшувати концентрацію рецепторів андрогенів та естрогенів та співвідношення між цими рецепторами.

4. Не виявлено гонадотоксичного ефекту при застосуванні СКС у тварин з індукованою сульпіридом гіперплазією простати, про що свідчить відсутність ознак органічних змін у гістологічній будові тканин сім'яників, позитивний вплив на масові коефіцієнти статевих залоз, концентрацію фруктози в сім'яних пухирцях (підвищення на 45%,  $p < 0,05$ ), активність фосфатаз, гормональну функцію сім'яників (збільшення концентрації тестостерону та естрадіолу на 50,0 % та 633,3 % відповідно,  $p < 0,05$ ) з поліпшенням перебігу сперматогенезу за кількісними та якісними параметрами спермограми (зменшення частки патологічних та нерухомих гамет на 27,8 % та 28,4 % відповідно,  $p < 0,05$ ). Наявність токсичного впливу на інші органи та системи при дослідженні гострої токсичності СКС при пероральному або ректальному застосуванні не виявлена.

5. СКС за виразністю простатопротекторної дії на різних моделях гіперплазії ПЗ різного генезу переважають препарат порівняння (супозиторії з олією насіння гарбуза). Отримані результати є теоретичним обґрунтуванням доцільності подальшої розробки лікарського засобу для лікування та профілактики хронічного простатиту, доброякісної гіперплазії залози та інших захворювань чоловічої статевої системи.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Зайченко Г. В., Горчакова Н. О., Сініцина О. С., Зайченко В. С., Равшанов Т. Б. Фармакодинаміка і спектр дії індол-3-карбінолу. *Вісник проблем біології і медицини*. 2018. Вип. 3 (145). С. 30–38. (Особистий внесок: аналіз літератури, підготовка матеріалів до публікації).
2. Зайченко Г. В., Равшанов Т. Б. Простатопротекторна дія супозиторіїв комбінованого складу з індол-3-карбінолом та мелоксикамом на моделі сульпірид-індукованої доброякісної гіперплазії передміхурової залози. *Проблеми*



- ендокринної патології. 2019. № 1 (67). С. 95–103. (Особистий внесок: участь в експерименті, аналіз літератури, проведення статистичного аналізу, підготовка матеріалів до публікації).
3. Зайченко Г. В., Равшанов Т. Б. Морфоструктура передміхурової залози щурів при застосуванні супозиторіїв комбінованого складу з індол-3-карбінолом та мелоксикамом. *Фітотерапія. Часопис*. 2019. № 1. С. 37–44. (Особистий внесок: підготовка матеріалів для огляду літератури, проведення експерименту, статистичний аналіз результатів, оформлення публікації).
  4. Зайченко Г. В., Равшанов Т. Б. Ефективність супозиторіїв з індол-3-карбінолом та мелоксикамом при тестостерон-індукованій гіперплазії передміхурової залози у щурів. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2019. Т. 13, № 1 (62). С. 58–65. (Особистий внесок: аналіз джерел літератури, участь в експерименті, статистична обробка результатів, підготовка тексту публікації).
  5. Равшанов Т. Б., Зайченко Г. В. Фармакологическое исследование суппозиторий для лечения доброкачественных заболеваний предстательной железы. *Наука и инновация*. 2019. № 3. С. 104–111. (Особистий внесок: проведення експерименту, статистичного аналізу отриманих результатів).
  6. Experimental study of antimicrobial properties and acute toxicity of the PEO-based combined suppositories / T. Ravshanov, G. Zaychenko, K. Zhemerova, V. Zaychenko, O. Ruban. *EUREKA: Health Sciences*. 2019. №5. С. 12–20. (Особистий внесок: проведення поглибленого дослідження з гострої токсичності при ректальному та пероральному введенні, статистична обробка результатів).
  7. Зайченко В. С., Рубан О. А., Маслій Ю. С., Гербіна Н. А., Равшанов Т. Б., Зайченко Г. В. Фармацевтична композиція у формі супозиторіїв для лікування доброякісних захворювань передміхурової залози: пат. 134165 України на корисну модель. № u 201810110; заявл. 10.10.2018; опубл. 10.05.2019, Бюл. № 9. (Особистий внесок: участь в експерименті, аналіз даних, оформлення патенту).
  8. Зайченко Г. В., Мищенко О. Я., Равшанов Т. Б., Зайченко В. С., Березняков А. В. Лікарські засоби для лікування ДГПЗ на фармацевтичному ринку України: аналіз асортименту та споживання. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології*: зб. наук. пр. Харків : Вид-во НФаУ, 2016. С. 232–235.
  9. Мищенко О. Я., Зайченко В. С., Равшанов Т. Б., Халеева Е. Л. Анализ ассортимента лекарственных средств для лечения ДГПЖ на фармацевтическом рынке Украины. *Актуальные вопросы образования, науки и производства в фармации*: материалы респуб. науч.-практ. конф. с междунар. участием. Ташкент, 2016. С. 197–201.
  10. Зайченко В. С., Маслій Ю. С., Равшанов Т. Б., Рубан О. А. Актуальність створення ректальних супозиторіїв з екстрактом броколі. *Товарознавчий аналіз товарів обмеженого аптечного асортименту*: матеріали III наук.-практ. Internet-конф. з міжнар. участю. Харків : НФаУ, 2016. С. 131–132.
  11. Зайченко Г. В., Равшанов Т. Б., Зайченко В. С. Перспективні напрямки розвитку терапії доброякісної гіперплазії передміхурової залози лікарськими засобами рослинного походження. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи*: матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 13–16 верес. 2016 р. Харків : НФаУ, 2016. Т. 2. С. 41.



12. Ravshanov T. B., Zaychenko G. V., Ostashko V. F., Zaychenko V. S., Lytkin D. V. Prostate protective activity of broccoli extract. *Topical issues of new drugs development: abstracts of XXIII International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student*. Kharkiv, 2016. Vol. 2. P. 72.
13. Равшанов Т. Б., Зайченко Г. В., Міщенко О. Я., Зайченко В. С. Порівняльна оцінка експериментальних моделей простатитів. *Актуальні питання біології та медицини*: зб. наук. пр. за матеріалами XIV міжрегіон. наук. конф. Старобільськ, 2016. С. 133–135.
14. Zaychenko G. V., Ruban O. A., Ravshanov T. B., Zaychenko V. S., Muzychko D.V. Pharmacological substantiation of development of suppositories with indole-3-carbinol and meloxicam for treatment of urologic diseases. *World Congress of Basic and Clinical Pharmacology (WCP 2018)*. Kyoto, Japan: 2018. Poster session.
15. Зайченко Г. В., Рубан О. А., Равшанов Т. Б., Зайченко В. С. Спосіб лікування захворювань передміхурової залози за допомогою комбінації індол-3-карбінолу та мелоксикаму: інформ. лист про нововведення у сфері охорони здоров'я № 141 – 2019. Укрмедпатентінформ МОЗ України, 2019. 3 с. (Особистий внесок: участь в експерименті, аналізі даних та підготовці листа до видання).

## АНОТАЦІЯ

**Равшанов Т.Б. Фармакологічне дослідження простатопротекторної дії супозиторіїв комбінованого складу.** – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2020.

Дисертаційна робота присвячена комплексному фармакологічному вивченню простатопротекторної активності супозиторіїв комбінованого складу з індол-3-карбінолом та мелоксикамом (СКС).

СКС проявляють простатопротекторну дію шляхом нормалізації відносної маси передміхурової залози, покращення гістоструктури, а також суттєвого зменшення патологічних змін у залозі на клітинному рівні з нормалізацією активності 5 $\alpha$ -редуктази та вмісту рецепторів статевих гормонів, рецепторів андрогенів та рецепторів естрогенів, що підтверджено на моделях сульпірид- та тестостерон індукованої гіперплазії передміхурової залози.

Корекція патологічних змін у щурів з індукованою гіперплазією простати різного генезу при застосуванні СКС відбувається завдяки специфічній здатності індол-3-карбінола знижувати активність 5 $\alpha$ -редуктази, відповідальної за утворення індуктора гіперплазії передміхурової залози – дигідротестостерону, зменшувати концентрацію рецепторів андрогенів та естрогенів та співвідношення між цими рецепторами. Не виявлено гонадотоксичного ефекту при застосуванні СКС у тварин з індукованою сульпіридом гіперплазією простати, про що свідчить відсутність ознак органічних змін у гістологічній будові тканин сім'яників, позитивний вплив на масові коефіцієнти статевих залоз, концентрацію фруктози в сім'яних пухирцях, активність фосфатаз, гормональну функцію сім'яників (збільшення концентрації тестостерону та естрадіолу) з поліпшенням перебігу сперматогенезу за кількісними та якісними

параметрами спермограми (зменшення частки патологічних та нерухомих гамет). Наявність токсичного впливу на інші органи та системи при дослідженні гострої токсичності СКС при ректальному та пероральному введенні у максимально можливій дозі не виявлена. СКС за виразністю простатопротекторної дії на різних моделях гіперплазії передміхурової залози різного генезу переважають препарат порівняння (супозиторії з олією насіння гарбуза).

*Ключові слова:* передміхурова залоза, ректальні супозиторії, індол-3-карбінол, мелоксикам, доброякісна гіперплазія.

## АННОТАЦІЯ

**Равшанов Т.Б. Фармакологическое исследование простатопротекторного действия суппозиторий комбинированного состава.** – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.05 – фармакология – Национальный фармацевтический университет, МОЗ Украины, Харьков, 2020.

Диссертация посвящена комплексному фармакологическому изучению простатопротекторной активности суппозиторий комбинированного состава с индол-3-карбинолом и мелоксикамом (СКС).

СКС проявляют простатопротекторное действие путем нормализации относительной массы предстательной железы, улучшения гистоструктуры, а также существенного уменьшения патологических изменений в железе на клеточном уровне с нормализацией активности  $5\alpha$ -редуктазы и содержания рецепторов половых гормонов, рецепторов андрогенов и рецепторов эстрогенов, что подтверждено на моделях сульпирид- и тестостерон индуцированной гиперплазии предстательной железы.

Коррекция патологических изменений у крыс с индуцированной гиперплазией простаты различного генеза при применении СКС происходит благодаря специфической способности индол-3-карбинол снижать активность  $5\alpha$ -редуктазы, ответственной за образование индуктора гиперплазии предстательной железы дигидротестостерона, уменьшать концентрацию рецепторов андрогенов и эстрогенов и соотношение между этими рецепторами. Не выявлено гонадотоксического эффекта при применении СКС у животных со сульпирид-индуцированной гиперплазией простаты, о чем свидетельствует отсутствие признаков органических изменений в гистологическом строении тканей семенников, положительное влияние на массовые коэффициенты половых желез, концентрацию фруктозы в семенных пузырьках, активность фосфатаз, гормональную функцию семенников (увеличение концентрации тестостерона и эстрадиола) с улучшением течения сперматогенеза по количественным и качественным параметрам спермограммы (уменьшение доли патологических и неподвижных гамет). Наличие токсического воздействия на другие органы и системы при исследовании острой токсичности СКС при ректальном и пероральном введении не выявлено. СКС по выраженности простатопротекторного действия на различных моделях гиперплазии предстательной железы различного генеза преобладают препарат сравнения (суппозитории с маслом семян тыквы).

*Ключевые слова:* предстательная железа, ректальные суппозитории, индол-3-карбинол, мелоксикам, доброкачественная гиперплазия.

## SUMMARY

**Ravshanov T.B. Pharmacological study of prostateprotective action of the combined composition suppositories.** – The manuscript.

The thesis for a Candidate of Medical Sciences Degree (PhD) by the specialty 14.03.05 – Pharmacology. – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2020.

Dissertation dedicated to the complex pharmacological study prostatoprotective action of combined composition suppositories with indole-3-carbinol and meloxicam.

In rats with prostatic hyperplasia due to the development of hyperprolactinemia induced by the introduction of sulphiride, an increase in iron mass (approximately 30%) was detected. Light-optical studies of the sections of the gland showed clear signs of focal hyperplasia of the prostatic and duct epithelium with inflammatory processes in the stroma. There was a twofold decrease in androgenization of the organism with a decrease in the concentration of fructose (by 43.7 %), impaired spermatogenesis (a decrease in the concentration of spermatozoa by 31.2%, among which almost doubled the proportion of abnormal forms), changes in acid-base balance of suspension, gonadotoxic effects on the morphostructure of the testes. The enzyme-linked immunosorbent assay established hormonal balance disorders. Thus, the concentration of total testosterone and its free form decreased statistically significantly (by 44.8 and 11.7%, respectively). The E<sub>2</sub> concentration was only 15.8 % of the control level. Significant prostate disorders were detected at the cellular level using the ELISA method. Thus, the activity of 5 $\alpha$  reductase ( $p < 0.05$ ) increased by 2.5 times, the content of ER and AR in the PC homogenate significantly increased ( $p < 0.05$ ). A significant, statistically probable decrease in the T / AR and E / ER ratio was found in the prostatic tissue, which corresponds to the detected decrease in the concentration of sex hormones. Increasing AR / ER ratio indicates impaired intracellular metabolism of testosterone, in particular, in the path of its aromatization. That is, the data obtained indicate the development of a number of functional, morphological and biochemical disorders of the gland in a state of benign hyperplasia. The use of CCS normalized the relative mass of the prostatic gland, markedly reduced the manifestations of epithelial hyperplasia, restored the orderliness of single-layered epithelial cells in the epithelial lining of the prostatic glands and excretory ducts, prevented the inflammatory process in the stroma. Marked improvement androgen status of the organism: massive growth factors gonads, the level of fructose in the seminal vesicles (45%), normalization of activity of phosphatases, improving quality indicators gametes (the reduction of percentage of immotile and abnormal sperm) and shift of acid-base balance epididymal cells suspension in the acidic side, which corresponds to the physiological state of the system, as well as the absence of gonadotoxic effect in the optical analysis of histological preparations of the testes. These results were consistent with the ELISA method of the concentration of sex hormones in the blood, which showed a complete restoration of testosterone levels, its free androgen fraction and estradiol to control values. The use of CCS in rats with sulphiride-induced prostate hyperplasia significantly reduces pathological changes in the gland at the cellular level. There was a significant decrease in the activity of 5 $\alpha$ -reductase, the content of sex hormone androgen receptors, although the content of estrogen receptors increased by

almost 6 times and the  $E_2$  / ER ratio decreased. CCS suppositories by the severity of prostatotrophic action in this experimental model are to some extent dominated by the preparation of the comparison of suppositories with pumpkin seed oil, and their activity at the cellular level is the result of the specific corrective activity of the component of CCS – indole-3-carbinol.

Another experimental model of pathology was chosen testosterone-induced prostate hyperplasia. Daily subcutaneous administration of testosterone propionate to castrated male rats was accompanied by the following changes: an almost twofold increase in testosterone concentration, a 13.4- fold increase in free testosterone concentration, an 84 % decrease in estradiol concentration. It is also marked by an increase in the relative mass of the prostate and seminal vesicles, a decrease in the activity of acid and a violation of the ratio of activity of acid and alkaline phosphatases. Androgenic stimulation caused in castrated rats a distinct hypertrophy of the prostatic glands of all prostate glands with signs of glandular epithelial hyperplasia, with a partial change in the type of secretion in the acini, corresponding to signs of benign prostatic hyperplasia. Separately observed for changes in gland at the cellular level, which are in increasing  $5\alpha$ -reductase activity (2.3 times), estrogen receptor concentration (3.5 times), androgen receptors concentration (34 times) and AR/ER ratio (7.6 times) in prostate gland homogenate compared to the Intact group. These results demonstrate changes that are directly responsible for the development of prostate hyperplasia.

Correction with the help of the proposed CCS reduced the relative mass of the gland and morphological features of the pathology, in particular, hypertrophy of the acini of prostatic glands, minimization of the manifestations of hyperplasia of the glandular epithelium, normalization of phosphatase activity was observed. The effect of correction therapy with CCS was to reduce the concentration of all hormones: total T, the absolute amount and proportion of free T and  $E_2$  in comparison with the data of model pathology. According to these results, the CCS suppositories were dominated by the effect of the reference drug with pumpkin seed oil. The decrease in the activity of  $5\alpha$ -reductase (34.4 %) and the content of androgen receptors (76.0 %), in our opinion, is the result of the specific corrective activity of indole-3-carbinol. By the effect of a positive effect on the morphological manifestations of testosterone propionate induced prostate hyperplasia, metabolic indicators and integral indicators of cellular changes of the prostate gland, suppositories of the combined composition are dominated by the comparator –suppositories with pumpkin seed oil.

The use of these models of pathology made it possible to evaluate qualitatively the mechanism of action of suppositories of the combined composition. The results of the study confirm the presence of hormone-modulating activity and the positive effect of the proposed the CCS suppositories on the important pathogenetic links of prostatic hyperplasia. The successful combination of pharmacological and technological properties of CCS suppositories with I3C meets current requirements for the medicinal products of this therapeutic group.

*Keywords:* prostate gland, rectal suppository, indole-3-carbinol, meloxicam, benign hyperplasia, chronic prostatitis.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

АН – андрогенна насиченість;  
вТ – вільний тестостерон;  
ДГПЗ – доброякісна гіперплазія передміхурової залози;  
ДГТ – дигідротестостерон;  
ДЛЧ – середня ділянка дорсолатеральної частки;  
ІЗК – індол-3-карбінол;  
ІК – група інтактного контролю;  
КП – група контрольної патології;  
КФ – кислота фосфатаза;  
ЛЗ – лікарський засіб;  
ЛФ – лужна фосфатаза;  
ОНГ – олія насіння гарбуза;  
ПЗ – передміхурова залоза;  
СПП – сульпірид-індукована гіперплазія передміхурової залози;  
СКС – супозиторії комбінованого складу;  
ТІПП – тестостерон-індукована гіперплазія передміхурової залози;  
Т – тестостерон;  
ТсП – тестостерону пропіонат;  
AR – рецептори до андрогенів;  
ER – рецептори до естрогенів;  
E<sub>2</sub> – естрадіол.

---

Підписано до друку 04.09.2020 р. Формат 60×84/16.

Папір офсетний. Гарнітура Times New Roman. Друк цифровий.

Ум. друк. арк. 0,9. Наклад 100 пр. Зам. № б/н.

Надруковано СПД ФО Степанов В. В., м. Харків, вул. Ак. Павлова, 311

Свідоцтво про державну реєстрацію В00 № 941249 від 28.01.2003 р.



