

УДК 615.322:616.697:616.65 – 002.
© Гевоян С.Р., Зайченко Г.В., 2012

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ СУПОЗИТОРІЙ З ЛІПОФІЛЬНИМ ЕКСТРАКТОМ ПИЛКА КВІТКОВОГО НА ПЕРЕБІГ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТРАВМАТИЧНОГО ПРОСТАТИТУ

Гевоян С.Р., Зайченко Г.В.

Національний фармацевтичний університет, Харків

Вступ. Хронічний простатит (ХП) – найбільш розповсюджене захворювання, прояви якого відрізняються великим різноманіттям симптомів. За впливом на якість життя чоловіків хронічний простатит порівнюють зі стенокардією, хворобою Крона або інфарктом міокарда [14]. Аналіз сучасних експериментальних і клінічних даних свідчить, що для ефективної патогенетичної терапії ХП необхідні нові фармакотерапевтичні підходи та розширення арсеналу відповідних лікарських засобів [13]. Для вирішення даної проблеми все більше уваги приділяють природним сполукам, зокрема, продуктам бджільництва [11]. Серед останніх перспективною лікарською субстанцією є квітковий, в тому числі, поліфлерний пилок (обніжка бджолина), який виявляє протизапальний, репаративний, вазопротекторний, імуностимулюючий, анаболічний, протипухлинний та антимікробний види дії [4,8]. Науковцями кафедри аптечної технології ліків ім. Д. П. Сало НФаУ під керівництвом академіка О. І. Тихонова з поліфлерного пилка був виділений ліпофільний екстракт (ЛЕПК), який у попередніх дослідженнях виявив широкий спектр біологічної активності і низьку токсичність. На основі ЛЕПК розроблено ректальні супозиторії, первинний фармакологічний скринінг яких показав їх високу антиексудативну та простатопротекторну активність.

Метою даної роботи було поглиблене вивчення простатопротекторної дії супозиторіїв з ЛЕПК на моделі травматичного простатиту.

Дослідження виконані у рамках науково-дослідної програми Національного фармацевтичного університету з проблем МОЗ України “Фармакологічне дослідження біологічно активних речовин та лікарських засобів синтетичного та рослинного походження та їх застосування в медичній практиці” (№ Державної реєстрації 0103U000478).

Матеріали та методи. Досліди проводили згідно з методичними рекомендаціями [3]. В експерименті використано 24 білих нелінійних щурів-самців масою 280-310 г. Механічну травму передміхурової залози викликали прошиванням вентральної її частини шовковою ниткою в асептичних умовах під наркозом. Альтерація передміхурової залози і парапростатичних тканин є пусковим моментом розвитку запально-деструктивних змін в органі, що призводить до вивільнення прозапальних медіаторів, локальному порушенню мікроциркуляції. Ця модель, у певній мірі, відповідає змінам, які виникають в передміхуровій залозі після оперативного втручання [12].

Щури – самці були розділені на 4 експериментальні групи: здорові не оперовані щури (інтактний контроль); неліковані самці з механічною травмою (контрольна патологія); тварини, яким після меха-

нічної травми ректально вводили супозиторії з ліпофільним комплексом пилка квіткового (супозиторії з ЛЕПК) в дозі 25 мг/кг та препарат порівняння – супозиторії з олією гарбуза в дозі 60 мг/кг, яка була перерахована за допомогою коефіцієнту виводової стійкості Риболовлева Ю.Р., виходячи з добових доз для людини [9]. Тестування проводили у всіх експериментальних групах тварин на 22-й день після прошивання. Кожна експериментальна група налічувала по 6 тварин.

Оцінку розвитку патології та ефективності препаратів проводили за клінічними показниками периферійної крові; біохімічними показниками сироватки крові та гомогенату простати; масовим коефіцієнтом простати; результатами морфологічного дослідження тканини передміхурової залози. В периферійній крові визначали маркери запалення (кількість лейкоцитів та швидкість зсідання еритроцитів) уніфікованими методами [6]. В сироватці крові та гомогенаті простати визначали активність кислої фосфатази (КФ) методом Боданського [5] та інтенсивність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) за вмістом ТБК-активних продуктів [10], в сироватці крові – рівень відновленого глутатіону [1]. Гістоморфологічну будову простати вивчали за допомогою методів світлооптичної мікроскопії. Зрізи тканини для оглядової мікроскопії фарбували гематоксиліном та еозином [7]. Огляд мікропрепаратів проводили за допомогою мікроскопу Micros 400. Мікрофотографування зображень здійснювали цифровим фотоапаратом Nikon Cool Pix 4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Nikon View 5.

Цифрові дані опрацьовували методами варіаційної статистики за допомогою стандартного пакету статистичних програм «Statistica 6,0» [2]. Для отримання статистичних висновків при порівнянні вибірок експериментальних даних застосовували критерій Стьюдента з поправкою Бонфероні, або непараметричний критерій Манна-Уїтні з поправкою Бонфероні. Відмінності між контрольними та дослідними групами вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Одержані експериментальні дані вказують на те, що механічне травмування тканини простати призводило до розвитку загальнозапального процесу: на 22 добу експерименту у нелікованих тварин спостерігалось вірогідне збільшення кількості лейкоцитів та підвищення швидкості зсідання еритроцитів (ШЗЕ) в середньому в 2 рази. При цьому масовий коефіцієнт простати вірогідно знижувався в 1,3 рази, що свідчило про негативні наслідки хронічного запального процесу в органі (табл. 1).

Таблиця 1. Вплив супозиторіїв з ЛЕПК на показники периферійної крові та коефіцієнт маси передміхурової залози (КМПЗ) щурів в умовах травматичного простатиту

Показники	Експериментальні групи			
	Інтактний контроль	Позитивний контроль	Супозиторії з ЛЕПК, 25 мг/кг	Супозиторії з олією насіння гарбуза, 60 мг/кг
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	7,80±0,60	14,50±1,06*	8,30±0,40**	9,80±0,50**
ШЗЕ, мм/год	3,20±0,31	6,80±0,48*	3,50±0,43**	4,00±0,47**
КМПЗ	0,55±0,01	0,44±0,03*	0,55±0,03**	0,43±0,04*

Примітки: 1. * - відхилення вірогідне відносно показника тварин групи інтактного контролю, P < 0,05; 2. ** - відхилення вірогідне відносно позитивного контролю, відносно показника тварин групи контрольної патології, P < 0,05

Про розвиток простатиту також свідчило вірогідне підвищення активності кислої фосфатази в сироватці крові тварин групи контрольної патології в 1,7 рази та зниження активності ферменту в гомогенаті простати в 1,3 рази (табл. 2). Розвиток патологічного процесу супроводжувався інтенсифікацією процесів ПОЛ: відмічалось вірогідне збі-

льшення вмісту ТБК-активних продуктів як в сироватці крові (в 3 рази), так і в гомогенаті простати (в 1,8 рази). Разом з тим, спостерігалось зниження антиоксидантного захисту: у тварин групи контрольної патології вірогідне зменшувався рівень відновленого глутатіону в сироватці крові і гомогенаті простати в середньому в 2 рази (табл.2).

Таблиця 2. Вплив супозиторіїв з ЛЕПК на біохімічні показники сироватки крові та гомогенату простати щурів в умовах травматичного простатиту

Показники	Експериментальні групи			
	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Супозиторії з ЛЕПК, 25 мг/кг	Супозиторії з олією насіння гарбуза, 60 мг/кг
Сироватка крові				
Кисла фосфатаза, ммоль/г·л	0,75±0,03	1,27±0,05*	0,72±0,04**	0,80±0,03**
ТБК-активні продукти, ммоль/л	0,32±0,06	0,96±0,18*	0,37±0,06**	0,35±0,05**
Відновлений глутатіон, мкмоль/л	4,70±0,62	2,11±0,14*	3,65±0,70**	2,95±0,30**
Гомогенат простати				
Кисла фосфатаза, ммоль/г	3,10±0,27	2,34±0,10*	3,24±0,13**	2,97±0,05**
ТБК-активні продукти, ммоль/г	40,80±4,18	72,80±5,83*	39,70±5,15**	54,10±4,32**
Відновлений глутатіон, мкмоль/г	3,27±0,23	1,50±0,24*	2,84±0,18**	3,07±0,31**

Примітки: 1. * - відхилення вірогідне відносно показника тварин групи інтактного контролю, P < 0,05; 2. ** - відхилення вірогідне відносно позитивного контролю, відносно показника тварин групи контрольної патології, P < 0,05

Введення тваринам на фоні патології супозиторіїв з ЛЕПК та препарату порівняння супроводжувалося зниженням ШЗЕ та кількості лейкоцитів до рівня інтактного контролю, що свідчило про гальмування загальнозапальної реакції. В групі тварин, лікованих супозиторіями з ЛЕПК, масовий коефіцієнт простати відповідав показнику інтактних тварин, тоді як препарат порівняння не чинив позитивного впливу на цей показник (табл 1).

Супозиторії з ЛЕПК і препарат порівняння сприяли стабілізації мембран простатичних ацинусів: активність кислої фосфатази в сироватці крові та гомогенаті простати в цих групах не мала вірогідних відмінностей відносно показника тварин групи інтактного контролю (табл.2).

Введення як супозиторіїв з ЛЕПК, так і препарату порівняння гальмувало процеси ПОЛ, про що свідчить вірогідне зниження вмісту ТБК-реактивних в сироватці крові і гомогенаті простати до рівня інтактного контролю (табл. 2).

Під впливом супозиторіїв з ЛЕПК спостерігалось підвищення антиоксидантного захисту: вміст відновленого глутатіону в сироватці крові та гомогенаті простати збільшувався порівняно з контрольною патологією і не мав вірогідних відмінностей від інтактного контролю. При введенні препарату порівняння вміст відновленого глутатіону в сироватці крові вірогідно збільшувався у порівнянні з контрольною патологією, але залишався вірогідно

нижчим ніж у щурів групи інтактного контролю (табл. 2).

Таким чином, результати проведеного дослідження свідчать, що супозиторії з ЛЕПК у дозі 25 мг/кг в умовах травматичного простатиту виявляли виражений терапевтичний ефект, та не поступалися препарату порівняння за виразністю протатопротекторної дії.

Як показали результати гістологічного дослідження тканини вентральної частки передміхурової залози інтактних щурів відповідала фізіологічній нормі.

Прошивання передміхурової залози викликало у щурів з групи контрольної патології на 22-й день після операції зміни гістоархітекtonіки як залозистої частини, так і міжацинарної стромі. Спостереження показали, що приблизно у 30% тварин домінують деструктивно-запальні процеси, які повністю змінюють структуру тканини (рис.1). У решти тварин у вентральній частці ацинуса залоз передміхурової залози значно відрізнялися за розміром та будовою. Частина з них була розтягнута, інші ацинуси знаходилися у стані спадіння, їхні контури мали кручений вигляд. Епітеліальні клітини, що вистилали велику кількість ацинусів, були сплюснені, аж до потоншення, секрет у просвіті згущений. Кровоносні судини стромі були розширені та повнокровні. Міжацинарна пухка волокниста тканина була розпушеною (рис.2).

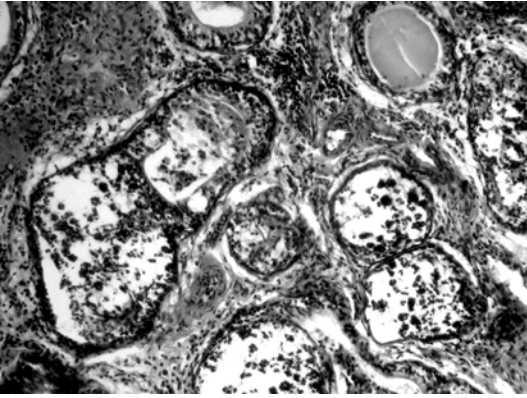


Рис. 1. Вентральна частка передміхурової залози щура після прошивання шовковою ниткою на 22-у добу досліді. Повна деструкція ацинусів залоз, масивна запальна реакція у стромі. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$.

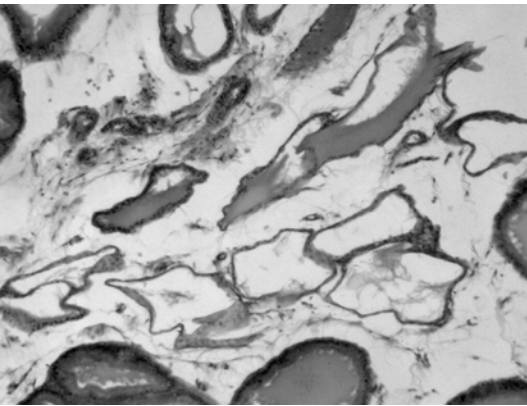


Рис. 2. Вентральна частка передміхурової залози щура після прошивання шовковою ниткою на 22-у добу досліді. Порушення стану ацинусів залоз, зменшення їх кількості, набряк стромі. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$

На ділянках, що розташовані на межі з дорсолатеральною частиною, в окремих ацинусах простежувалися порушення цілості епітеліальної вистилки, злущування клітин у просвіт, вогнищева дистрофія клітин. У міжацинарній тканині трохі посилювалася насиченість круглоклітинними елементами та плазматичними клітинами (рис.3).



Рис. 3. Межинна зона між вентральною та дорсолатеральною частками передміхурової залози щура після прошивання шовковою ниткою на 22-у добу досліді. Вогнищева деструкція стінки ацинусів, посилення інфільтрації стромі. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 250$.

На окремих ділянках вентральної частки спостерігалися невеликі гранульми чужорідного тіла, що склалися з дрібних фрагментованих залишків шовних ниток, які були інкапсульовані по периметру макрофагами та нечисленними гігантськими клітинами. Характерною особливістю була відсутність будь-якої запальної реакції поблизу гранульом. Спостерігалось лише механічне руйнування ацинусів, що прилягали до зони прошивання.

У дорсолатеральній частині залози ацинуси різних типів передміхурових залоз, що локалізувалися біля сім'яносних протоків та шийки сечового міхура, також спостерігалася варіабельність розмірів ацинусів, порушення епітеліальної вистилки у частини з них: епітеліальні клітини були вакуолізовані, зникла однорядність їх розташування, ядра зміщувалися у центральну область клітин. У ряді ацинусів епітелій злущувався та вогнищево поліферував. У міжацинарній стромі виявлялися незначний набряк, судинна реакція, і поодинокі плазматичні та мононуклеарні клітини (рис. 4).

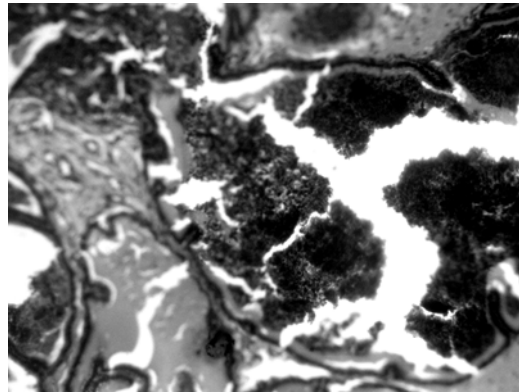


Рис. 4. Дорсолатеральна частка передміхурової залози щура після прошивання шовковою ниткою на 22-у добу досліді. Деструкція стінки ацинуса, у просвіті злущені клітини та численні мононуклеарні клітини. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 250$.

Лікування супозиторіями з ЛЕПК сприяло відновленню нормальної структури ацинусів простатичних залоз у 50% щурів. У решти самців залишалися варіабельність розмірів ацинусів залоз у вентральній частці залози, з потоншенням епітеліальної вистилки, але без порушення цілості, незначним збільшенням клітинного вмісту в міжацинарній стромі (рис. 5). У дорсолатеральній частці залози у 33 % щурів на ділянках, що локалізовані поблизу шийки сечового міхура, навколо окремих ацинусів відмічалася клітинна вогнищева реакція, дрібновогнещеві порушення цілості епітеліальної вистилки поодиноких ацинусів (рис.6).

Після введення тваринам препарату порівняння – супозиторіїв з олією насіння гарбуза, загальний стан секреторних залоз вентральної частки передміхурової залози дещо поліпшувався порівняно з тваринами групи контрольної патології. У той же час спостерігалось достатня варіабельність у розмірах та формі епітеліальних клітин, що вистилали стінку ацинусів. Подекуди у міжацинарній стромі у незначній мірі зберігалися ознаки запалення у вигляді збільшення вмісту плазматичних та лімфоїдних клітин. Кровонаповнення капілярного русла було зниженим (рис.7).

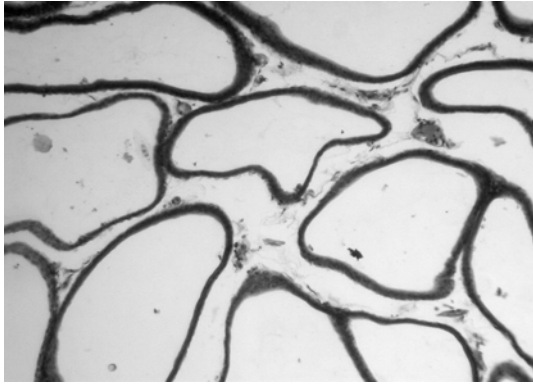


Рис. 5. Вентральна частина передміхурової залози щура після лікування супозиторіями з ЛЕПК, в дозі 25 мг/кг. Помірна варіабельність ацинусів за розмірами без порушення цілісності епітеліальної вистилки. Забарвлення гематоксиліном та еозином x 250.

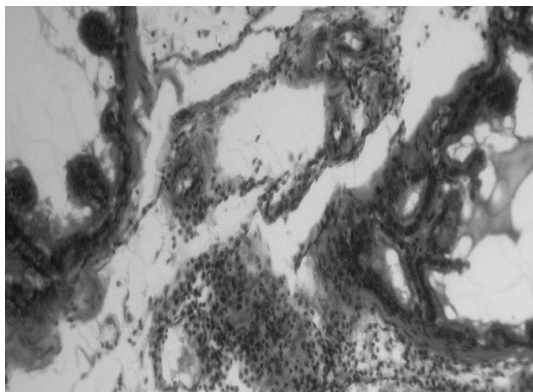


Рис.6. Дорсолатеральна частина передміхурової залози щура після лікування супозиторіями з ЛЕПК, в дозі 25 мг/кг. Клітинна реакція в міжацинарній стромі, порушення цілісності епітеліальної вистилки окремих ацинусів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 250.

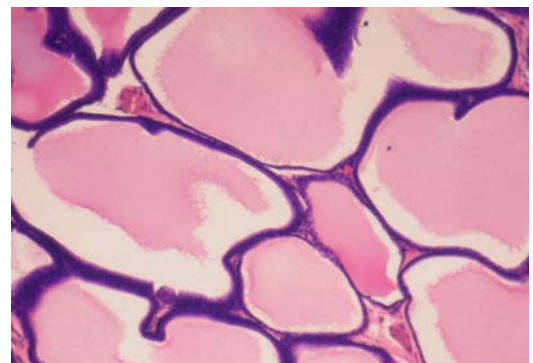


Рис. 7. Вентральна частина передміхурової залози щура, який отримував супозиторії з олією насіння гарбуза, після прошивання шовковою ниткою на 22-у добу дослідження. Помірна варіабельність розмірів ацинусів залоз. Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 250.

У дорсолатеральній частці залози як правило відсутні порушення цілісності епітеліальної

вистілки ацинусів, але спостерігалася вогнищева запальна клітинна реакція та набряк строми у частини шурів (рис.8).

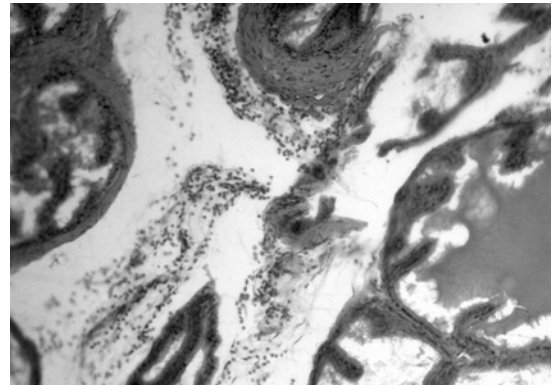


Рис. 8. Дорсолатеральна частина передміхурової залози щура, який отримував супозиторії з олією насіння гарбуза, на 22-у добу дослідження після прошивання шовковою ниткою. Вогнищева запальна клітинна реакція в стромі. Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 250.

Таким чином, результати морфологічних досліджень свідчили про те, що травмування вентральної частки передміхурової залози (прошивання шовковою ниткою) викликало морфологічні зміни паренхіми простати. Встановлено, що у залежності від наявності на ділянці простати залозистої або стромальної складової домінували або деструктивно-функціональні порушення секреторних одиниць, або клітинно-судинна запальна реакція строми. Супозиторії з ЛЕПК в умовах травматичного простатиту виявляли захисний вплив як на залозистий так і на стромальний компоненти простати у щурів. Простатопротекторна дія супозиторіїв з ЛЕПК за даними морфологічного дослідження простати дещо перевищувала лікувальну дію препарату порівняння – супозиторіїв з олією насіння гарбуза.

Висновки:

1. На моделі простатиту у щурів, викликаного прошиванням вентральної частини простати, супозиторії з ліпофільним екстрактом пилка квіткового у дозі 25 мг/кг виявляли простатопротекторну дію.
2. Терапевтична дія супозиторіїв з ліпофільним екстрактом пилка квіткового в дозі 25 мг/кг, дещо перевищувала дію препарату порівняння – супозиторіїв з олією насіння гарбуза, що вводили в дозі 60 мг/кг.
3. Результати проведеного дослідження відкривають перспективи для поглиблених фармакологічних досліджень ліпофільного екстракту пилка квіткового для лікування андрологічних захворювань.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Арутюнян А.В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. Методические рекомендации / А.В.Арутюнян, Е.Е.Дубинина, Н.Н.Зыбина – СПб.:Фолиант, 2000. – 104 с.
2. Боровиков В. STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере: Для профессионалов. 2-е изд. / В.Боровиков – СПб.:Питер, 2003. – 688 с.
3. Доклінічне вивчення лікарських засобів, призначених для лікування простатитів. Методичні рекомендації. – Київ, 2005. - 35 с.
4. Калинина И.Г. Роль пыльцы (обножки) в

апитерапії/ Апітерапія: досягнення та перспективи розвитку // Матеріали III з'їзду апітерапевтів України. – Харків, 2006.

5. **Камышников В.С.** Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2-х томах. Т.1. / В.С.Камышников – Минск: Беларусь, 2000. – 495 с.

6. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник / **В.В.Меньшиков, Л.Н. Делекторская, Р.П. Золотницкая и др.** – М.: Медицина, 1987. – 368 с.

7. **Меркулов Г.А.** Курс патологистологической техники. / Г.А.Меркулов - М.: Медицина, Ленингр. отд. – 1969. – 424 с.

8. Пилок квітковий (бджолина обніжка): клініко-експериментальні аспекти застосування у медицині / **О.І.Волошин, О.В.Пішак, Б.П.Сенюк та інш.** // Ліки. - 1998.- №3.- С.31-38.

9. **Рыболовлев Ю.Р.** Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю.Р.Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Докл. АН СССР. – 1979. – Т.247, №6. – С.1513-1516.

10. **Стальная И.Д., Гариашвили Т.Г.** Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н.Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С.66-68.

11. Сучасний стан розробки та впровадження в медичну практику лікарських препаратів на основі продуктів бджільництва / **О.І.Тихонов, Т.Г.Ярних, І.Н.Курченко, та ін.** // Вісник фармації, 1996, № 1-2.- С. 75-81.

12. Экспериментальные модели хронического простатита / **В.Х.Хейфец, М.А.Забезинский, А.Б.Фролович, В.Х.Хавинсон** // Урология. – 1999. – №5. – С.48-53.

13. **Lu M., Zhao S.T., Wang S.M. et al.** Alpha-blockers and bioflavonoids in men with chronic non-bacterial prostatitis (NIH-IIIa): a prospective, placebo-controlled trial // Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.- 2004. -Vol. 25.- P. 169-172.

14. **Wenninger K.** Sickness impact of chronic non-bacterial prostatitis and its correlates / Wenninger K., Helman J., Rothman I., Berghois J., Berger R. // J. Urology. — 1996. — V.155. — P. 965–968.

Гевоян С.Р., Зайченко Г.В. Дослідження впливу супозиторіїв з ліпофільним екстрактом пилка квіткового на перебіг експериментального травматичного простатиту // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, № 3. – С. 58-62.

Проведено дослідження простатопротекторної активності супозиторіїв з ліпофільним екстрактом пилка квіткового (ЛЕПК) в дозі 25 мг/кг на моделі простатиту, викликаного прошиванням вентральної частини простати у щурів. Препарат виявляв протизапальну активність: відновлював функціональну активність передміхурової залози, гальмував процеси ПОЛ, сприяв підвищенню активності антиоксидантної системи, запобігав розвитку запальних порушень секреторних залозистих одиниць і клітинно-судинної запальної реакції в стромі. Терапевтична дія супозиторіїв з ЛЕПК в дозі 25 мг/кг за даними вивчення гістоархитектоники простати дещо перевищувала дію препарату порівняння- супозиторіїв з олією насіння гарбуза в дозі 60 мг/кг.

Ключові слова: передміхурова залоза, експериментальний травматичний простатит, супозиторії з ліпофільним екстрактом пилка квіткового, щури

Гевоян С.Р., Зайченко А.В. Исследование влияния суппозиторий с липофильным экстрактом пыльцы цветочной на течение экспериментального травматического простатита // Украинский медицинский альманах. – 2012. – Том 15, № 3. – С. 58-62.

Проведено исследование простатопротекторной активности суппозиторий с липофильным экстрактом пыльцы цветочной (ЛЭПЦ) в дозе 25 мг/кг на модели простатита, вызванного у крыс прошиванием вентральной части простаты. Препарат проявлял противовоспалительную активность: восстанавливал функциональную активность предстательной железы, тормозил активность ПОЛ, способствовал повышению активности антиоксидантной системы, предотвращал развитие деструктивно-воспалительных нарушений секреторных железистых единиц и клеточно-сосудистой реакции в строме. Терапевтическое действие суппозиторий с ЛЭПЦ в дозе 25 мг/кг по данным изучения гистоархитектоники простаты несколько превышало действие препарата сравнения – суппозиторий с маслом семян тыквы в дозе 60 мг/кг.

Ключевые слова: предстательная железа, скипидарный простатит, суппозитории с липофильным экстрактом пыльцы цветочной, крысы.

Gevoyan S.R., Zaychenko A.V. The study of suppositories with the lipophilic extract of bee pollen influence on the course of the experimental traumatic prostatitis // Украинский медицинский альманах. – 2012. – Том 15, № 3. – С. 58-62.

The study of the prostatehrotective activity of suppositories with the bee pollen lipophilic extract in the dose of 25 mg/kg in the model of prostatitis in rats, caused by rats starting to sew the ventral part of the prostate, was carried out. The investigated drug showed prostatoprotective activity, that manifested oppression activity of the lipideperoxidation, increasing in the activity of antioxidant system, prevention the development of destructive functional violations functional units and cellular-vascular reactions in fibromuscular stroma of the prostate. The therapeutic effect of suppositories with lipophilic extract of bee pollen in the dose of 25 mg/kg slightly above the effects of the drug comparison – suppositories with pumpkin seed oil in the dose of 60 mg/kg.

Key words: prostate, experimental traumatic prostatitis, suppositories with the lipophilic extract of bee pollen, rats.

Надійшла 19.03.2012 р.
Рецензент: проф. В.І.Лузін