

УДК 661.123;613.98;612.67.68

© Л.В. Яковлева, О.О. Егорова, О.Ю. Кошова, 2013.

ВИВЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ПРЕПАРАТУ «ЕЛГАЦИН» НА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ МОДЕЛІ ПРОСТАТИТУ, ВИКЛИКАНОГО ПРОШИВАННЯМ ПРОСТАТИ

¹Л.В. Яковлева,²О.О. Егорова,¹О.Ю. Кошова

¹ Національний фармацевтичний університет, м. Харків;

²Кафедра клінічної фармакології та фармакотерапії, Державна установа «Кримський державний медичний університет ім. С.І. Георгієвського», м. Сімферополь.

STUDY OF EFFICACY OF «ELGACIN» ON EXPERIMENTAL MODEL OF PROSTATITIS, PROVOKED BY STITCHING OF PROSTATE

L.V. Yakovleva, E.A. Egorova, E.Y. Koshevaya

SUMMARY

Prostatitis takes first place among diseases in male sex area. Its social meaningfulness is caused by significant deterioration of a young (able-bodied) and old age men's quality of life. The quality of life declines as a result of urogenital, reproductive functions and psycho-emotional condition disorders. Despite the fact that there is a big variety of therapeutic activities, their efficacy remains low. This makes the search and creation of a new prostatoprotectors very urgent. The aim of the work is the study of a new prostatoprotective action of Elgacin in terms of experimental prostatitis, provoked by stitching of prostate in rats. Elgacin is an antioxidant medicine on basis of ellagotannins. These ellagotannins are isolated from collective fruits of hoary alder and black alder. The administration of Elgacin eliminated inflammatory processes almost entirely and restored the balance in rats system of lipid peroxidation and antioxidative system.

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА «ЭЛГАЦИН» НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ПРОСТАТИТА, ВЫЗВАННОГО ПРОШИВАНИЕМ ПРОСТАТЫ

Л.В. Яковлева, Е.А. Егорова, Е.Ю. Кошова

РЕЗЮМЕ

Среди заболеваний мужской половой сферы простатит занимает первое место. Его социальная значимость обусловлена значительным ухудшением качества жизни мужчин и молодого (трудоспособного), и старческого возраста вследствие нарушений мочеполовой, репродуктивной функций и психоэмоционального состояния. Несмотря на многообразие терапевтических мероприятий, их эффективность остается низкой, что обуславливает актуальность поиска и создания новых простатопротекторов. Целью работы стало исследование простатопротекторного действия нового антиоксидантного препарата на основе эллаготанинов, выделенных из соплодий ольхи серой и ольхи клейкой, таблеток «Элгацин» в условиях экспериментального простатита, вызванного прошиванием простаты крыс. Результаты исследований показали выраженную эффективность эллагацина, введение которого практически полностью устраняло воспалительные процессы и восстанавливало баланс в системе перекисное окисление/антиоксидантная система крыс.

Ключові слова: простатит, антиоксидантний препарат, простатопротектори, антиоксидантні властивості, елаготаніни, елгацин, пепонен.

Простатит займає перше місце серед захворювань чоловічої статеві сфери і однією з найбільш частих причин чоловічого безпліддя. За даними епідеміологічних досліджень в Україні та Росії на хронічний простатит страждає 30-45% чоловіків працездатного віку, а в регіонах з низькими сезонними температурами у поєднанні зі значними перепадами температур і високою вологістю, поширеність захворювання складає 72%. З віком частота захворювання збільшується і досягає 30-73% [14]. Хронічний простатит є найпоширенішим урологічним захворюванням у чоловіків молодше 50 років і третім по частоті – у чоловіків старше 50 років (після доброякісної гіперплазії і раку простати).

Простатит найчастіше характеризується хронічним перебігом, що обумовлює його тривале лікування, яке має бути спрямоване на усунення інфекц-

ійного агента, нормалізацію імунного статусу, регресію запальних змін і відновлення функціональної активності простати. Це вимагає необхідності застосування комплексу медикаментозних і фізіотерапевтичних дій. Сучасні схеми лікування включають різні групи лікарських засобів, основними з яких є антибактеріальні препарати, альфа-адреноблокатори, нестероїдні протизапальні засоби та простатопротектори природного походження. Останні виявляють широкий спектр фармакологічної дії (протизапальну, антимікробну, спазмолітичну, антиоксидантну дію, покращують сперматогенез, мікроциркуляцію тканин, нормалізують гормональний баланс та сексуальну активність) [5]. Висока ефективність простатопротекторів природного походження супроводжується мінімальними проявами побічної дії.

Незважаючи на розмаїття терапевтичних засобів,

які застосовуються при простатиті, їх ефективність залишається недостатньою. Тому, лікування хворих на хронічний простатит залишається складною медичною проблемою, що обумовлює актуальність пошуку та створення нових простатопротекторів. Метою даної роботи стало дослідження простатопротекторної дії таблеток «Елгацин» за умови експериментального простатиту, викликаного прошиванням простати щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Таблетки елгацину є антиоксидантним засобом поліфенольного походження на основі елаготанінів, вилучених з супліддя вільхи сірої та вільхи клейкої за допомогою методу латентного гідролізу. До складу субстанції входять елагова кислота (не менше за 70%), валонієва кислота (не більше 10%), продукти їх взаємодії (решта до 100%).

В експерименті використовували білих нелінійних щурів самців масою 250-310г, вік яких (18 місяців) відповідає передстаречому віку людини (45-55 років), коли захворюваність на простатит у чоловіків невинно зростає. Хронічне асептичне запалення передміхурової залози (ПМЗ) викликали шляхом прошивання її шовковою ниткою на межі між вентральною та дорсолатеральною частинами простати [11].

Елгацин вводили внутрішньошлунково один раз на добу в дозі 1 мг/кг протягом 21 доби у вигляді водної суспензії. Як препарат порівняння було обрано простатопротекторний препарат на основі олії гарбузового насіння - капсули «Пепонен», який застосовували в аналогічному режимі у дозі 108 мг/кг. Капсули «Пепонен» активізують імунну систему, виявляють протизапальну та анальгезуючу дію, сприяють підвищенню потенції у чоловіків [1]. Введення засобів починали через 24 години після прошивання простати.

Дизайн дослідження. Було сформовано 4 групи по 8 тварин у кожній: 1 група – інтактні щури (ІК), яких не піддавали будь-якому впливу; 2 група – контрольна патологія (КП), тварини з модельованою патологією, яким замість препаратів вводили дистильовану воду в еквівалентному об'ємі; 3 і 4 групи – тварини, яким через добу після моделювання простатиту відповідно вводили таблетки елгацину або капсули пепонену.

Щурів виводили з експерименту під ефірним наркозом на 22 добу досліду. Виразність розвитку запальних процесів за умов простатиту та ефективність засобів оцінювали за кількістю лейкоцитів у крові щурів та показником швидкості зсідання еритроцитів (ШЗЕ) за активністю лужної (ЛФ) і кислій фосфатаз (КФ) та концентрацією циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у сироватці крові [4]. Як інтегральний показник функціонального стану ПМЗ використовували масовий коефіцієнт органу (МК), який розраховували за формулою:

$$MK = \frac{M_{орган,г}}{M_{тварин,г}} \times 100$$

Для оцінки антиоксидантного статусу тварин у сироватці крові визначали вміст продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-реаканти, ТБК-Р), та відновленого глутатіону (ВГ) [13]. Тканину ПМЗ піддавали гістологічному дослідженню за допомогою світлової мікроскопії. Вивчали гістоструктуру різних відділів передміхурової залози: на зрізах дорсолатеральної частки разом з кінцевими відділами сім'явидних протоків та початковими ділянками сім'яних міхурців і передньої долі простати, зрізаних на рівні шийки сечового міхура; вільної вентральної частки залози, а також області перешийка вентральних часток; окремих зон шийки сечового міхура. Тканину простати фіксували у 10% розчині формаліну, проводили по спиртах зростаючої міцності, заливали у целоїдин-парафін. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином [2]. Мікроскопічне вивчення мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400 (Австрія). Зображення мікрофотографували цифровим фотоапаратом Nikon Col Pix 4500.

Отримані експериментальні дані обробляли за допомогою стандартного пакету статистичних програм „Statistica, v. 6,0”: Для отримання статистичних висновків застосовували однофакторний дисперсійний аналіз (або критерій Крускала-Уоліса для непараметричних даних), критерій Ньюмана-Кейлса або Мана-Уїтні [9]. Відмінності між групами вважали значущими при $p < 0,05$.

Під час експерименту тварини знаходилися у температурі $20 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, вологості 50-60%, природному світловому режимі “день-ніч”, на збалансованому харчовому раціоні. Дослідження проведені з дотриманням правил “Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей” (Страсбург, 1986 р.) [3].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як видно з даних, наведених у таблиці 1, травмування простати прошиванням призводило до розвитку запалення, на що вказувало достовірне, у порівнянні з ІК, зниження в 1,5 разу МК ПМЗ, підвищення загального рівня лейкоцитів та збільшення швидкості зсідання еритроцитів у крові тварин. Перебіг патології характеризувався достовірним, відносно значень ІК, підвищенням рівня ЛФ та КФ у 2,2 та в 1,6 рази (табл.2). За даними літератури збільшення активності цих ферментів, особливо кислій фосфатази, яка є простатоспецифічним ферментом, вказує на посилення проліферативних процесів та гіперплазії у органі [10].

Розвиток патології супроводжувався посиленням вільно радикальних процесів. Так, у сироватці крові щурів з групи контрольної патології спостерігали підвищення рівня

ТБК-Р у 1,4 рази, що викликало адекватну відповідь антиоксидантної системи щурів – підвищення рівня відновленого глутатіону в 1,3 рази (табл.2). Всі зафіксовані зміни були статистично значущими. Отримані

нами результати співвідносяться з даними інших дослідників, які показують важливу роль дисбалансу в процесах ліпопероксидації ліпідів у патогенезі хронічного простатиту [15]. Активація перекисного окислен-

ня ліпідів (ПОЛ) на тлі зниженого антиоксидантного захисту викликає порушення проникності біологічних мембран, що призводить до загибелі клітини та посилення деструктивно-дистрофічних процесів в органі.

Таблиця 1

Вплив елгацину на показники крові та масовий коефіцієнт передміхурової залози щурів за умов експериментального простатиту (n=8).

Показник	Групи тварин			
	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Таблетки елгацину, 1 мг/кг	Капсули пепонену, 108 мг/кг
Лейкоцити, 10 ⁹ /л (Me (LQ; UpQ))	10,5 (9; 11,6)	13,5 (10,5; 16,75)*	12,5 (10,75; 16,5)*	14,0 (11,0; 14,75)*
ШОЕ, мм/год (Me (LQ; UpQ))	2,0 (1,5; 2,0)	3,5 (2,5; 7,0)*	2,0 (1,0; 3,0)**	2,5 (2,0; 4,0)*
МКГПМЗ (M±m)	0,21±0,02	0,14±0,01*	0,19±0,01**	0,19±0,007**

Примітки:

1. * – відмінності достовірні щодо групи ІК, p<0,05;
2. ** – відмінності достовірні щодо групи КП, p<0,05.
3. n – кількість тварин у групі.

Таблиця 2

Вплив елгацину на біохімічні показники у сироватці крові щурів з простатитом, модельованим прошиванням простати 18-місячних щурів (n=7-8)

Показники	Групи тварин			
	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Таблетки елгацину, 1 мг/кг	Капсули пепонену, 108 мг/кг
ЛФ, ммоль/г-л (M±m)	1,95±0,27	4,28±0,0,68*	2,43±0,26**	2,94±0,35**
КФ, ммоль/г-л (M±m)	0,71±0,06	1,07±0,08*	0,58±0,03**	0,71±0,06**
ТБК-Р, мкмоль/л (M±m)	0,55±0,04	0,75±0,05*	0,54±0,0,03**	0,52±0,02**
GSH, мкмоль/л (M±m)	1,86±0,07	2,46±0,17*	2,13±0,05	2,20±0,07
ЦІК, ум. од. (Me (LQ; UpQ))	0,095 (0,07; 0,11)	0,13 (0,08; 0,15)*	0,08 (0,03;0,11)**	0,040 (0,02; 0,06)**

Примітки:

1. * – відмінності достовірні щодо значень інтактного контролю, p< 0,05;
2. ** – відмінності достовірні щодо значень контрольної патології, p< 0,05;
3. n – кількість тварин у групі.

В нашому досліді за умови патології спостерігали достовірне, у порівнянні з ІК, підвищення рівня ЦІК, які складаються з антигену й антитіла (табл.2). Підвищене утворення ЦІК у крові одночасно з активацією процесів ПОЛ, внаслідок підвищеної судинної проникності, може призводити до їх накопичення у тканині простати та спричиняти розвиток імунопатологічних реакцій. Комплекси антиген-антитіло активують комплемент, посилюють хемотаксис нейтрофілів, вивільнюють кініни, простагландини та інші

медіатори, які індукують запальну реакцію [7].

Наведені запально-деструктивні зміни функціонального стану простати підтверджувались даними патоморфологічного дослідження. Через 22 доби у тканині простати відмічені зміни структурно-функціональних одиниць і стромі. Стінка частини ацинусів (більш виразно у вентральній частці) розтягнута, епітеліальна вистілка потоншена, контури ацинусів набули звивистий вигляд. В окремих ацинусах видно злушення пластів епітелію, деякі ацинуси у

стані спадання. У міжацинарній стромі місцями спостерігали помірні вогнищеві запальні інфільтрати, не різко виразне ущільнення сполучної тканини, плазмодіапедез. До складу інфільтратів переважно входили плазматичні, лімфоцитарні, гладкі клітини. Відмічено ділянки з розширенням, набряком та розволокненням стромы. У частини щурів у парапростатичній тканині мало місце не різко виразне продуктивне запалення.

ВИСНОВКИ

Результати дослідження впливу елгацину на перебіг експериментального простатиту показали його виразну ефективність. Профілактично-лікувальне введення елгацину у дозі 1 мг/кг практично повністю усувало загальнозапальні процеси (реєстрували достовірне зниження показника ШЗЕ, ЦІК, нормалізацію рівня ЛФ і КФ у сироватці крові та сприяло відновленню МК передміхурової залози, що свідчить про зниження запально-деструктивних та гемодинамічних розладів у простаті. Проте, загальна кількість лейкоцитів залишалася підвищеною (табл. 1).

Під впливом елгацину знижувалася активність процесів ліпопероксидації: значення ТБК-Р були достовірно меншими за значення у тварин з групи контрольної патології та досягали значень інтактного контролю. Зниження рівня ВГ мало виразну тенденцію до фізіологічних рівней ($p=0,061$, табл. 2).

Під впливом препарату порівняння капсул пепонену спостерігали аналогічну динаміку змін більшості досліджуваних показників, але загальна кількість лейкоцитів у крові та показник ШЗЕ залишалися підвищеними стосовно значень інтактного контролю.

На підставі отриманих даних, фармакологічну дію елгацину можна пояснити його антиоксидантними властивостями, які добре досліджені раніше. Діючою речовиною елгацину є елагова кислота, яка є продуктом гідролізу елаготанінів, та містить у своєму складі чотири ОН-групи, атоми водню яких здатні зв'язувати вільні радикали. В досліджах *in vitro* на моделях ферментативного і аскорбатзалежного ПОЛ мікросом із печінки щурів доведена виражена пряма антиоксидантна активність елгацину, яка лежить в основі антиоксидантного механізму дії засобу [8]. Показано, що елгацину притаманна виражена тропність до захисту ферментів, які беруть участь у рециркуванні внутрішньоклітинного пулу глутатіону – глутатіонредуктази та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази [12]. Також встановлено, що елгацин справляє мембранопротекторну дію на рівні плазматичної та мікросомальної мембран [6].

Простатопротекторна дія капсул пепонену забезпечується багатогранним складом біологічно активних речовин, що входять до складу основної діючої речовини препарату порівняння – олії насіння гарбуза: жирних кислот, стеринів, фосфоліпідів, каротиноїдів, вітамінів та мікроелементів. За рахунок цих компонентів капсули "Пепонен" виявляють загаль-

ностимульовальну, протизапальну та знеболювальну активність.

Отже, на моделі простатиту, викликаного прошиванням простати 18-місячних щурів, елгацин справляє виразну простатопротекторну дію, знижуючи виразність запалення та нормалізуючи баланс у системі ПОЛ/АОС. Враховуючи поліфенольний склад нового антиоксидантного засобу можна заключити, що простатопротекторний ефект елгацину реалізується перш за все за рахунок антиоксидантних та мембраностабілізуючих властивостей. Отримані результати обґрунтовують доцільність застосування антиоксидантного засобу поліфенольного походження при запаленнях простати.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бомко Т.В. Фармакологическое изучение суппозиторий с маслом семян тыквы на модели экспериментального простатита / Т.В. Бомко, Н.Ф. Маслова, Н.Г. Козлова, И.Н. Долгая и др. // Вісник фармації. – 2002. – Т.30., № 2. – С.90-92
2. Волкова О.В. Основы гистологии и гистологической техники / Волкова О.В., Елецкий Ю.К. – М., 1982. – 304 с.
3. Директива Совета ЕС о сближении законов, постановлений и администрирование положений государств ЕС по вопросам защиты животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (86/609/ЕЕС) // В кн.: Надлежащая производственная практика лекарственных средств. // Под ред. Н.А. Ляпунова, В.А. Загория, В.П.Георгиевского, Е.П.Безуглой. – Киев:»Морион». – 1999. – С. 508-545.
4. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике/ В.С. Камышников; В 2 т. Т.1. – Мн.: Беларусь, 2000. – 495 с.
5. Крылов А.А. Фитотерапия в комплексном лечении заболеваний внутренних органов / Крылов А.А., Марченко В.А., Максютин Н.П. – К.: Здоров'я, 1991. – 240 с.
6. Нардід О.А. Дослідження впливу елаготаніновміщуючих препаратів на структурно-динамічний стан плазматичної мембрани еритроцитів / О.А. Нардід, Л.В. Цимбал, Т.С. Сахарова // Фізіологічно активні речовини. – 2002. – № 1 (33). – С. 81-83.
7. Никулин Б.А. Оценка и коррекция иммунного статуса / Б.А.Никулин. – М: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 376 с.
8. Сахарова Т.С. Экспериментальное исследование влияния растительных препаратов поли фенольного состава на функционирование антипероксидной ферментативной системы печени / Т.С. Сахарова, Ю.В. Нікітченко, В.М. Дзюба // Медична хімія. – 2003. – Т. 5, № 2. – С. 52-55.
9. Халафян А.А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных. 3-е изд. Учебник / А.А. Халафян. – М.: ООО «Бином-Пресс», 2007. – 512 с.
10. Юнда И.Ф. Простатиты / И.Ф. Юнда. – Киев: Здоров'я, 1987. – 192 с.
11. Яковлева Л.В. Доклінічне вивчення лікарських

засобів, призначених для лікування простатитів. Метод рекомендації. / Л.В. Яковлева, Ю.Б. Лар'яновська, О.Я. Міщенко, Н.В. Котелевець та ін. – Київ, 2005. – с. 35

12. Яковлева Л.В. Порівняльне дослідження впливу препаратів на основі рослинних поліфенолів на активність деяких глутатіонзалежних ферментів / Л.В. Яковлева, Т.С. Сахарова // Український біохімічний журнал. – 2002. – Т. 74, № 4а. – С. 93-94.

13. Bentler E.D. Colormetric method for the determination of serum glutamic oxalatic glutaminic-pyruvic transaminases / E.D. Bentler, Q. Duron, B.M.

Kelly // J. Laboratories Clinical Medicine. – 1963. – Vol. 61, № 5. – P. 882.

14. Habermacher G.M. Prostatitis. Chronic Pelvic Pain Syndrome / G.M. Habermacher, J.T. Chason, A.J. Schaeffer // Annual Review of Medicine. – 2006. – Vol. 57. – P.195-206.

15. Zajchenko A. V. A positive influence of glucosamine hydrochloride on reproductive functions of male rats / I.V. Diakonova, A.V. Zajchenko, L.V. Yakovleva, A.V. Andriyanenkov // PHYTOFARM 2009: 13th Intern. congress, 29–31 July, 2009, Bonn, Germany: abstracts – Bonn. – P. 30