УДК 616.-006.55:582.998.2

**Е.Г. Щекина, Н.Е. Караковская, С.Д. Смеречук**

# ИЗУЧЕНИЕ ПРОСТАТОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ГУСТЫХ ЭКСТРАКТОВ ЛОПУХА НА МОДЕЛИ СУЛЬПИРИДОВОЙ ДГПЖ У КРЫС

*Национальный фармацевтический университет*
*кафедра фармакологии*
*Украина, 61002, г. Харьков, ул. Мельникова, 12. E-mail: acya@ukr.net*

Цель: изучение простатопротекторных свойств густых экстрактов лопуха.

Материалы и методы. Модельную доброкачественную гиперплазию предстательной железы (ДГПЖ) воспроизводили внутрибрюшинным введением крысам-самцам сульпирида, 40 мг/кг в течение 30 дней. Густые экстракты лопуха в дозе 75 мг/кг и референс-препарат простаплант форте, 35 мг/кг вводили внутрижелудочно в лечебном режиме с 31 по 52 день исследования.

Результаты: механизм действия густых экстрактов лопуха при ДГПЖ заключается в их способности тормозить процессы ПОЛ, нормализовать соотношение андрогенов и эстрогенов, тормозить переход тестостерона в дигидротестостерон, восстанавливать функциональную активность и снижать воспалительные процессы в ПЖ.

Выводы. По выраженности простатопротекторного действия густые экстракты корней и листьев лопуха в дозе 75 мг/кг не уступают референс-препарату простатопланту форте.

*Ключевые слова:* густые экстракты лопуха, простатопротекторное действие.

**K.G. Shchokina, N.E. Karakovskaya, S.D. Smerechuk**

# STUDY OF PROSTATOPROTECTIVE ACTIVITY OF BURDOCK THICK EXTRACTS ON THE MODEL OF SULPIRID BPH IN RATS

*National pharmaceutical university*
*Pharmacology Department*
*12 Melnikova st., Kharkov, 61002, Ukraine. E-mail: acya@ukr.net*

Purpose: To study prostatoprotective activity of burdock thick extracts.

Methods. BPH model reproduced the intraperitoneal administration of male rats sulpiride, 40 mg / kg for 30 days. Thick Burdock extract at a dose of 75 mg / kg and reference drug prostaplant forte, 35 mg / kg was administered intraperitoneally in a medical mode 31 to day 52 of the study.

Results. Mechanism of burdock thick extracts action on BPH is their ability to inhibit lipid peroxidation, normalization ratio of androgens and estrogens inhibit the transition of testosterone to dihydrotestosterone, restore functional capacity and reduce inflammation in the prostate.

Summary. On the severity of prostatoprotective action the thick extracts of roots and leaves of burdock in a dose of 75 mg / kg did not yield to the reference drug prostatoplantu forte.

*Keywords:* thick burdock extracts, prostatoprotective action.

## Введение

Доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ) является одним из наиболее распространенных заболеваний у мужчин среднего и пожилого возраста. По данным литературы, признаки ДГПЖ обнаруживаются в среднем у 40% мужчин в возрасте 50 лет и у более чем 90% мужчин старше 80 лет [1]. В Украине терапия ДГПЖ представляет важную медицинскую и социальную проблему, так как уровень заболеваемости в последние годы постоянно возрастает. Так, в 2008 году в Украине количество случаев ДГПЖ составило 728,9 на 100 000 населения [2]. В связи с этим поиск и изучение новых эффективных и безопасных простатопротекторов, обладающих комплексной фармакодинамикой, является важным и актуальным.

В последние годы возрос интерес к препаратам растительного происхождения. Фитотерапевтические препараты обладают выраженной фармакологической активностью и меньшим количеством побочных эффектов, чем синтетические препараты (гормонозависимость, импотенция, уменьшение либидо, изменения артериального давления и другие) [3]. Низкая токсичность позволяет применять фитопрепараты длительное время без риска серьезных осложнений с учетом возраста больных ДГПЖ и сопутствующих патологий. К тому же фитопрепараты обладают богатой фармакодинамикой, что позволяет одновременно влиять на несколько патогенетических звеньев заболевания [2, 3].

Одним из лекарственных растений с потенциальными простатопротекторными свойствами является лопух большой. Об этом свидетельствует фитохимический состав данного лекарственного сырья. Известно, что корни лопуха большого содержат фитостерин, который эффективен при лечении ДГПЖ [4, 5]. Также препараты лопуха обладают противовоспалительным, антиоксидантным та цитотоксическим действием, которые являются составляющими простатопротекторной активности. С учетом вышеизложенного, целью работы стало изучение простатопротекторных свойств густых экстрактов корней (ГЭКЛ) и листьев (ГЭЛЛ) лопуха большого, полученных на кафедре ботаники НФаУ.

## Материалы и методы

В эксперименте использованы 30 белых нелинейных крыс-самцов массой 280-320 г. Модельную ДГПЖ воспроизводили внутрибрюшинным введением крысам-самцам сульпирида (эглонил, «Sanofi-Aventis», Франция) в дозе 40 мг/кг в течение 30 дней [6]. ГЭКЛ и ГЭЛЛ в дозе 75 мг/кг, которая была определена в предыдущих скрининговых исследованиях, и референс-препарат простаплант форте («Schwabe», Швейцария) в дозе 35 мг/кг [6] вводили внутрижелудочно в лечебном режиме с 31 по 52 день исследования. На 53 день проводили эвтаназию животных летальной дозой тиопенталового наркоза. На исследование брали кровь и предстательную железу (ПЖ).

В сыворотке крови определяли содержание эстрадиола, тестостерона, дигидротестостерона, интерлейкина-1 (ИЛ-1), ТБК-активных продуктов (ТБК-АП), восстановленного глутатиона (ВГ), диеновых конъюгатов (ДК), активность кислой фосфатазы (КФ); в гомогенате ПЖ - активность КФ, содержание ТБК-АП, ВГ и ДК. Активность КФ определяли по методу А. Боданского, содержание ТБК-АП - спектрофотометрически по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой по методу И.Д. Стальной, Т.Г. Гаришвили при помощи биохимических наборов «Реагент» отечественного производства, уровень ВГ - по методу Beutler E.D. et al. [7, 8], содержание ИЛ-1 - методом иммуноферментного анализа при помощи набора производства «Биоконтур» (Санкт-Петербург, Россия) на анализаторе STATE FAX (США).

Образцы предстательной железы крыс всех групп фиксировали в10% растворе формалина, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации, заливали в целлоидин-парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопическое исследование микропрепаратов проводили под микроскопом Mikros 400 (Австрия), микрофотографирование изображений - цифровым фотоаппаратом Nicon Cool Pix 4500. Фотоснимки обрабатывали на компьютере Pentium 4GHz с помощью программы Nicon View 5.

При учете результатов в виде средняя±стандартная ошибка статистическую достоверность межгрупповых отличий рассчитывали по критерию t Стьюдента, внутригрупповых – по парному критерию Вилкоксона; в случае регистрации результатов в альтернативной форме – по угловому превращению Фишера.

## Результаты и обсуждение

Достоверное повышение активности КФ (в 1,2 раза, $p<0.05$) в сыворотке крови экспериментальных животных группы контроля в сравнении с аналогичным показателем у интактных животных является свидетельством нарушения функциональной активности ПЖ и указывает на развитие в ней мощных воспалительных процессов. При этом активность КФ в гомогенате ПЖ не изменилась, что свидетельствует о том, что проницаемость мембран ацинусов ПЖ пока не изменилась.

Развитие патологического процесса сопровождалось нарушением баланса антиоксидантной и прооксидантной систем. Уровень ТБК-АП и ДК в сыворотке крови контрольной группы патологии достоверно возросли в 1,4 и 5,9 раза, а уровень ВГ снизился в 1,9 раза (табл. 1).

Введение ГЭКЛ способствовало достоверной нормализации активности КФ ($p<0.05$) в сыворотке крови животных, о чем свидетельствует отсутствие достоверных отличий показателя леченных животных от аналогичного показателя животных контрольной группы. Применение ГЭКЛ способствовало достоверному торможению процессов ПОЛ, нормализации показателей ВГ и ДК в сыворотке крови, уровней ТБК-АП и ВГ – в гомогенате ПЖ (табл. 2). По влиянию на вышеуказанные показатели ГЭКЛ достоверно не уступал действию препарата сравнения простатопланта форте. ГЭЛЛ уступал ГЭКЛ и референс-препарату по нормализующему влиянию на активность КФ, уровень ВГ и ДК в сыворотке крови экспериментальных животных.

Важными маркерами фертильности самцов является изменение содержания эстрадиола и тестостерона в сыворотке крови. Повышение уровня дигидротестостерона свидетельствует о развитии пролиферативных процессов в простате. Длительное введение блокатора дофаминовых рецепторов сульпирида способствовало увеличению уровня пролактина и снижало высвобождение гонадотропных гормонов. А пролактин как андроген-независимый супрессор апоптоза простатического эпителия способствовал гиперплазии ПЖ. Повышение уровня пролактина также активировало ароматазу и ускоряло превращение тестостерона в эстрадиол, также способствующий пролиферации клеток ПЖ [9, 10].

Таблица 1

**Влияние густых экстрактов лопуха на активность кислой фосфатазы и показатели антиоксидантного/прооксидантного баланса в сыроватке крови крыс на модели ДГПЖ**

| Группы животных, n=6 | КФ, нмоль/с*л | ТБК-АП, кмоль/г | ВГ, мг% | ДК, кмоль/г |
|---|---|---|---|---|
| Контрольная патология | 229,00± 8,00* | 0,44±0,02* | 15,32±0,40* | 0,218±0,002* |
| Интактный контроль | 191,00±2,00 | 0,32±0,02 | 28,80±0,73 | 0,037±0,004 |
| ГЭКЛ, 75 мг/кг | 195,00±3,00** | 0,42±0,02* | 25,43±1,39** | 0,049±0,006** |
| ГЭЛЛ, 75 мг/кг | 220,00±3,00*#& | 0,38±0,01*/** | 29,54±1,13**# | 0,058±0,006*/**& |
| Простаплант форте, 35 мг/кг | 202,00±2,00*/** | 0,37±0,02** | 27,53±0,48** | 0,041±0,004** |

Примечание: Статистически значимые отличия (p < 0,05): * - с группой интактного контроля, ** - с группой контрольной патологии; # - с группой ГЭКЛ, & - с группой простаплантa форте.

Таблица 2

**Влияние густых экстрактов лопуха на активность кислой фосфатазы и показатели антиоксидантного/прооксидантного баланса в гомогенате простаты крыс на модели ДГПЖ**

| Группы животных, n=6 | КФ, нмоль/с*л | ТБК-АП, кмоль/г | ВГ, мг% | ДК, кмоль/г |
|---|---|---|---|---|
| Контрольная патология | 601,00±15,11 | 68,59±1,65* | 13,68±0,84 | 2,54±0,52 |
| Интактный контроль | 599,00±3,81 | 30,98±2,28 | 22,06±1,24 | 0,97±0,62 |
| ГЭКЛ, 75 мг/кг | 587,00±7,63 | 35,90±3,66** | 20,79±1,26** | 0,96±0,58 |
| ГЭЛЛ, 75 мг/кг | 629,00±4,71*#& | 35,26±1,84** | 21,88±1,29** | 1,00±0,58 |
| Простаплант форте, 35 мг/кг | 530,00±7,99*/** | 32,05±2,71** | 23,34±0,73** | 0,94±0,59 |

Примечание: Статистически значимые отличия (p < 0,05): * - с группой интактного контроля, ** - с группой контрольной патологии; # - с группой ГЭКЛ, & - с группой простаплантa форте.

Введение ГЭКЛ, ГЭЛЛ и простаплантa форте способствовало достоверному повышению (p<0.05) уровня маркера андрогенного статуса крыс - тестостерона в 2,0, 2,3 и 2,5 раза соответственно и снижению уровня эстрадиола в периферической крови животных в среднем 1,7 раза. Соотношение тестостерон / эстрадиол достоверно возросло до уровня интактных животных (табл. 3).

Оба экстракта лопуха и референс-препарат достоверно снижали уровень дигидротестостерона в сыворотке крови крыс в 1,7, 1,9 и 1,9 раза соответственно, т.е. все исследуемые препараты тормозили переход тестостерона в его активную форму – дигидротестостерон, что препятствовало увеличению объема предстательной железы. Таким образом, исследуемые препараты восстанавливали функциональную активность ПЖ. Достоверных отличий во влиянии экстрактов лопуха и простаплантa форте на уровень гормонов не отмечено.

Развитие ДГПЖ сопровождалось развитием воспалительных процессов в ПЖ и мочевыводящих путях, что подтверждалось достоверным повышением содержания одного из основных маркеров воспаления - ИЛ-1 в сыворотке крови экспериментальных животных в 3,2 раза по сравнению с показателем животных интактного контроля. Применение исследуемых препаратов способствовало достоверному снижению уровня ИЛ-1: под действием ГЭКЛ – до показателя интактных животных, под влиянием ГЭЛЛ и простаплантa форте – до значений, достоверно отличающихся как от показателя у животных контрольной группы, так и у интактных крыс.

Таблица 3

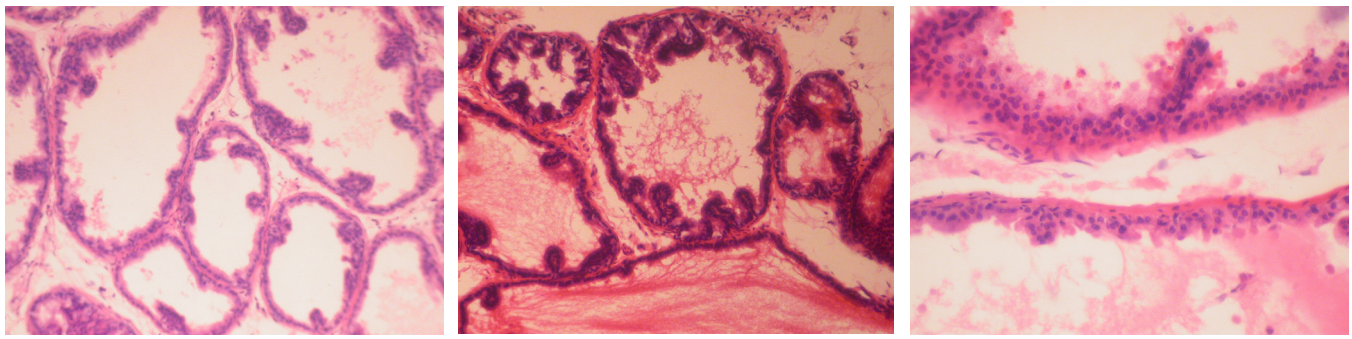
**Влияние густых экстрактов лопуха на содержание эстрадиола, тестостерона, дигидротестостерона и интерлейкина-1 в сыворотки крови крыс на модели ДГПЖ**

| Группы животных, n=6 | Уровень эстрадиола (Е2), нмоль/л | Уровень тестостерона (Тс), нмоль/л | Соотношение Тс / Е2 | Уровень дигидротестостерона, нмоль/л | Уровень интерлейкина-1, пкг/мл |
|---|---|---|---|---|---|
| Контрольная патология | 0,365±0,022* | 9,93±1,41 | 27,21± | 1247,23±137,43* | 35,88±1,42* |
| Интактный контроль | 0,218± 0,011 | 27,59±3,14 | 126,56± | 604,28±91,15 | 11,23± 1,61 |
| ГЭКЛ, 75 мг/кг | 0,220± 0,011** | 20,18±1,612** | 91,73± | 723,37±96,75** | 16,69± 2,26** |
| ГЭЛЛ, 75 мг/кг | 0,215± 0,008** | 22,68±1,37** | 105,49± | 657,25±69,61** | 17,95± 2,23*/** |
| Простаплант форте, 35 мг/кг | 0,221± 0,010** | 24,65±2,90** | 111,54± | 672,09±40,89** | 17,21± **1,94***/** |

Примечание: Статистически значимые отличия (p < 0,05): * - с группой интактного контроля, ** - с группой контрольной патологии; # - с группой ГЭКЛ, & - с группой простапланта форте.

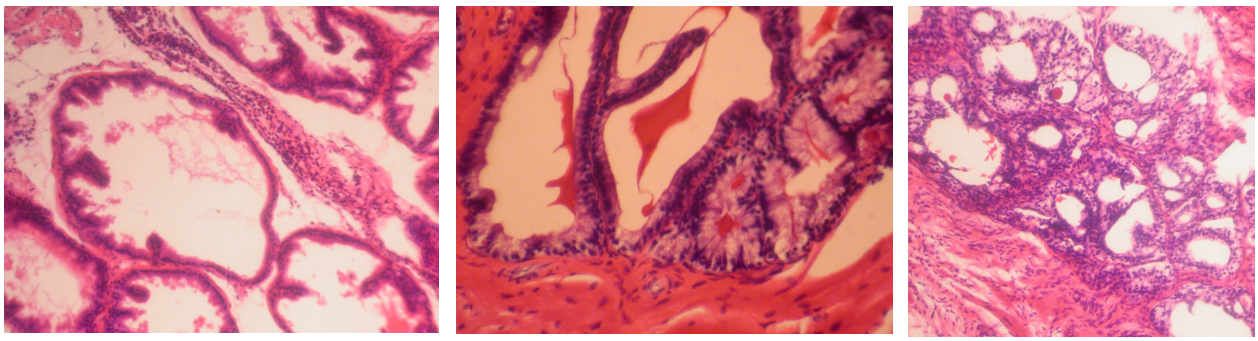
Результаты биохимических исследований подтверждались данными микроскопических исследований. В средней зоне дорсолатеральной части предстательной железы животных группы интактного контроля ацинусы простатических железок выстелены эпителиальными клетками высококубической формы, складки эпителия длинные (рис. 1а). После введения сульпирида в передней части предстательной железы крыс контрольной группы в ряде ацинусов разных простатических железок обнаружены признаки гиперплазии эпителия (рис. 1б). В строме разных зон дорсолатеральной части встречались варьирующие по интенсивности воспалительные инфильтраты (рис. 1в).

После введения крысам с ДГПЖ ГЭКЛ выраженно уменшилось количество ацинусов с увеличенным размером и признаки воспаления в строме, которые к тому же зафиксированы не у всех крыс (рис. 2а). После введения крысам с ДГПЖ ГЭЛЛ проявления очаговой пролиферации эпителия варьировали. У четырех животных зафиксировано нормальное состояние протокового эпителия (рис. 2б), у двух было обнаружено воспаление межацинарной стромы и парапростатической ткани. Практически у всех крыс, получавших простаплант форте, в дорсолатеральной части желези наблюдалась выраженная воспалительная реакция межацинарной стромы и парапростатической ткани (рис. 2в).



а б в

**Рис. 1. Средняя часть дорсолатеральной части предстательной железы интактных крыс: нормальный эпителий стенки ацинусов разных простатических железок, межацинарной стромы (а, х 200). Предстательная железа крыс после введения сульпирида: увеличение численности и плотности размещения складок в середине дорсолатеральной части (б, х100); пролиферация эпителия ацинусов простатических железок в середине дорсолатеральной части (в, х 250). Гематоксилин-эозин.**



а б в

**Рис. 2. Предстательная железа крыс после введения экстракта корней лопуха: выраженность воспаления в межацинарной строме снижена (а). Предстательная железа крыс после введения экстракта листьев лопуха: нормальное состояние протокового эпителия (б). Средняя область дорсолатеральной части предстательной железы крыс, которым вводили простаплант форте: выраженная пролиферация и дистрофия эпителия выводящей протоки простатических желез (в). Гематоксилин-эозин х100.**

После введения крысам с ДГПЖ ГЭКЛ выраженно уменьшилось количество ацинусов с увеличенным размером и признаки воспаления в строме, которые к тому же зафиксированы не у всех крыс (рис. 2а). После введения крысам с ДГПЖ ГЭЛЛ проявления очаговой пролиферации эпителия варьировали. У четырех животных зафиксировано нормальное состояние протокового эпителия (рис. 2б), у двух было обнаружено воспаление межацинарной стромы и парапростатической ткани. Практически у всех крыс, получавших простаплант форте, в дорсолатеральной части желези наблюдалась выраженная воспалительная реакция межацинарной стромы и парапростатической ткани (рис. 2в).

Таким образом, по результатам микроскопических исследований густые экстракты лопуха превышают простаплант форте по противовоспалительному действию, но несколько уступают ему по антипролиферативной активности.

Анализируя полученные результаты, можно утверждать, что механизм действия густых экстрактов лопуха при доброкачественной гиперплазии ПЖ заключается в их способности тормозить процессы ПОЛ, нормализовать соотношение андрогенов и эстрогенов, тормозить переход тестостерона в дигидротестостерон, восстанавливать функциональную активность и снижать воспалительные процессы в ПЖ.

**Выводы.**

1. Густые экстракты корней и листьев лопуха на модели сульпирид-зависимой доброкачественной гиперплазии предстательной железы у крыс уменьшают развитие воспалительных процессов, тормозят процессы ПОЛ, нормализуют антиоксидантный / прооксидантный баланс в организме животных.
2. Под влиянием исследуемых экстрактов увеличивается продукция андрогенов, возрастает уровень андрогенной насыщенности и соотношение тестостерон / эстрадиол, что свидетельствует об положительном влиянии препаратов на сперматогенез.
3. Густые экстракты корней и листьев лопуха снижают уровень эстрадиола и дигидротестостерона в сыворотке крови экспериментальных животных, что препятствует развитию пролиферативных процессов в предстательной железе и тормозит развитие заболевания.
4. Густые экстракты корней и листьев лопуха понижают содержание интерлейкина-1 в сыворотке крови животных, что подтверждает их противовоспалительные свойства. Противовоспалительная активность исследуемых препаратов подтверждена также результатами микроскопических исследований.
5. По выраженности простатопротекторного действия густые экстракты корней и листьев лопуха в дозе 75 мг/кг не уступают референс-препарату простатопланту форте в дозе 35 мг/кг.

**ЛИТЕРАТУРА**


1. Кузьменко В.В., Кочетов М.В., Семенов Б.В. Доброкачественная гиперплазия предстательной железы. – Воронеж, 2008. – 1144 с.
2. Ринок простатопротекторів в україні: реалії та перспективи / Г. В. Зайченко, І. М. Риженко, О. Г. Чистяков та ін. // Провізор. – 2008. – № 16. – С. 39.
3. Простатопротекторы / С. М. Дроговоз, Т. А. Бухтиарова, В. В. Россихин и др. – Х.: ООО Производственное предприятие «Плеяда», 2005. – 184 с.
4. A review of the pharmacological effects of Arctium lappa (burdock) / Y.S. Chan, L.N. Cheng, J.H. Wu et al. // Inflammopharmacology. – 2011. - 19(5). – P. 245-254.
5. Antioxidative and in vitro antiproliferative activity of Arctium lappa root extracts / F.S. Predes, A.L. Ruiz, J.E. Carvalho et al. // BMC Complement Altern. Med. – 2011. - №23. – P. 11-25.
6. Фармакологічна ефективність густого екстракту талабану польового на моделі доброякісної гіперплазії залози у щурів / О.В. Андріяненков, Г.В. Зайченко, Г.С. Тартинська // Вісник фармації. – 2012. - №3 (71). – С. 79-82.
7. Артюнян А. В. Методы оценки свободно-радикального окисления и антиоксидантной системы организма: метод. реком. / А. В. Артюнян, Е. Е. Дубина. – СПб. : ИКФ «Фолиант», 2000. – 104 с.
8. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2-х томах. Т.1. – Минск: Беларусь, 2000. – 495 с.
9. Тиктинский О.Л., Калинина С.Н., Михайличенко В.В. Андрология. – М.: ООО «МедИнформАгенство», 2010. – 576 с.
10. Benign prostatic hyperplasia / ed. P.Narayan. - London etc. : Livingstone, 2000. – XII. - 402 p.


*ПОСТУПИЛА 07.04.2013*