

A NEW APPROACH TO MODELING EXPERIMENTAL CHRONIC PROSTATITIS

Savitsky I. V., Mizevich Yu. V., Myastkovskaya I. V., Dvoretzky R. I.

**Department of General and Clinical Pathological Physiology,
Odessa National Medical University**

Summary

In the basis of the pathology of the male reproductive system, for the most part, there are chronic inflammatory processes, and in the first place chronic prostatitis (CP). According to various literary sources, 20-43% of men of reproductive age suffer from CP. Therefore, the development of new models of experimental prostatitis is very relevant for the further study of pathogenetically substantiated therapy of this disease.

Goal. Search for an optimal model of experimental chronic prostatitis for rats.

In the experiment, white male rats of the Wistar line were used. According to the tasks, the animals were divided into 2 groups: the 1st group - 20 intact animals; the 2nd group - 56 animals, which during the experiment the chronic prostatitis was modeled.

The pathological process was reproduced by a single injection of 0.5% solution of turpentine with 5% solution of dimethoxide with subsequent reproduction of hypokinetic stress during 10 days (16 hours a day). The rats were withdrawn from the experiment for the first day after the end of the simulation of chronic prostatitis (on the 12th day of the study), the 7th day (at the 18th day after the beginning of the study), 14th (25th day from the beginning research) and the 21st day of the development of experimental chronic prostatitis (at the 32nd day after the beginning of the simulation).

Nowadays, more and more researchers have focused on the role of venous congestive processes in the development of chronic prostatitis. The model developed by us allows to fully investigate the aforementioned pathogenetic links of the disease by combining hypokinetic stress and venous congestion caused by the introduction of a mixture of turpentine and dimethoxide in small doses.

Key words: prostatitis, rats, modeling

НОВИЙ ПІДХІД ДО МОДЕЛЮВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХРОНІЧНОГО ПРОСТАТИТУ

Савицький І. В., Мізевич Ю. В., М'ястківська І. В., Дворецький Р. І.

**Кафедра загальної та клінічної патологічної фізіології,
Одеський національний медичний університет**

Резюме

В основі патології чоловічої репродуктивної системи здебільшого знаходяться хронічні запальні процеси, і в першу чергу хронічні простатити (ХП). За різними літературними джерелами на ХП страждають 20-43% чоловіків репродуктивного віку. Тому розробка нових моделей експериментальних простатитів є дуже актуальною для подальшого дослідження патогенетично обґрунтованої терапії даного захворювання.

Мета. Пошук оптимальної моделі експериментального хронічного простатиту для щурів

В експерименті були використані білі щурі самці лінії Вістар. Відповідно до поставлених задач тварини були розподілені на 2 групи: 1-а група – 20 інтактних тварин; 2-а група – 56 тварин, на яких в ході експерименту моделювали хронічний простатит.

Патологічний процес відтворювали одноразовим введенням 0,5% розчину скипидару з 5 % розчином димексиду із подальшим відтворенням гіпокінетичного стресу протягом 10 днів (16 годин на добу). Щурів виводили з експерименту на 1-у добу після закінчення моделювання хронічного простатиту (на 12-у добу дослідження), 7-у добу (на 18-у добу від початку всього дослідження) , 14-у (на 25-у добу від початку дослідження) та 21-у добу розвитку експериментального хронічного простатиту (на 32 -у добу від початку моделювання).

На сьогоднішній день все більше дослідників акцентують увагу на ролі венозних застійних процесів у розвитку хронічного простатиту. Розроблена нами

модель дозволяє повною мірою дослідити вищезазначені патогенетичні ланки захворювання за рахунок комбінуванням гіпокінетичного стресу та венозної гіперемії викликаной введенням суміші скипидару та димексиду у малих дозах.

Ключові слова: простатит, щури, моделювання

НОВЫЙ ПОДХОД К МОДЕЛИРОВАНИЮ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ХРОНИЧЕСКОГО ПРОСТАТИТА

Савицкий И. В., Мизевич Ю. В., Мьястківська И. В., Дворецкий Р. И.

**Кафедра общей и клинической патологической физиологии,
Одесский национальный медицинский университет**

Резюме

В основе патологии мужской репродуктивной системы в основном находятся хронические воспалительные процессы, и в первую очередь хронические простатиты (ХП). По разным литературным источникам на ХП страдают 20-43% мужчин репродуктивного возраста. Поэтому разработка новых моделей экспериментальных простатитов является очень актуальной для последующего исследования патогенетически обоснованной терапии данного заболевания.

Цель. Поиск оптимальной модели экспериментального хронического простатита для крыс.

В эксперименте были использованы белые крысы самцы линии Вистар. В соответствии с поставленными задачами животные были распределены на 2 группы: 1-я группа – 20 интактных животных; 2-я группа – 56 животных, у которых в ходе эксперимента моделировали хронический простатит. Патологический процесс воспроизводили одноразовым введением 0,5% раствора скипидара с 5 % раствором димексиду с последующим воссозданием гипокинетичного стресса в течение 10 дней (16 часов в сутки). Крыс выводили из эксперимента на 1-е сутки по завершении моделирования хронического простатита (на 12-е сутки исследования), 7-е сутки (на 18-е сутки от начала

исследования), 14-е (на 25-е сутки от начала исследования) и 21-е сутки после развития экспериментального хронического простатита (на 32 -е сутки от начала моделирования). На сегодняшний день все больше исследователей акцентируют внимание на роли венозных застойных процессов в развитии хронического простатита. Разработана нами модель позволяет в полной мере исследовать вышеупомянутые патогенетические звенья заболевания за счет комбинирования гипокинетического стресса и венозной гиперемии, вызванной введением смеси скипидара и димексида в малых дозах.

Ключевые слова: простатит, крысы, моделирование

Вступ

Проблема репродуктивного здоров'я чоловіків є не тільки медичною, а і медико-соціальною. В основі патології чоловічої репродуктивної системи здебільшого знаходяться хронічні запальні процеси, і в першу чергу хронічні простатити (ХП) [1-3]. За різними літературними джерелами на ХП страждають 20-43% чоловіків репродуктивного віку [4, 5]. Незважаючи на широкий спектр лікувально-профілактичних заходів, кількість пацієнтів, які страждають на дану патологію, продовжує зростати.

Тому розробка нових моделей експериментальних простатитів є дуже актуальною для подальшого дослідження патогенетично обґрунтованої терапії даного захворювання.

Мета дослідження - пошук оптимальної моделі експериментального хронічного простатиту для щурів

Матеріали та методи дослідження

В експерименті були використані білі щурі самці лінії Вістар. Відповідно до поставлених задач тварини були розподілені на 2 групи:

1-а група – 20 інтактних тварин;

2-а група – 56 тварин, на яких в ході експерименту моделювали хронічний простатит.

Патологічний процес відтворювали одноразовим введенням 0,5% розчину скипидару з 5 % розчином димексиду із подальшим відтворенням гіпокінетичного стресу протягом 10 днів (16 годин на добу). Щурів виводили з експерименту на 1-у добу після закінчення моделювання хронічного простатиту (на 12-у добу дослідження), 7-у добу (на 18-у добу від початку всього дослідження) , 14-у (на 25-у добу від початку дослідження) та 21-у добу розвитку експериментального хронічного простатиту (на 32 -у добу від початку моделювання).

Після виведення тварин із експерименту проводилися гістологічне дослідження передміхурової залози, гематологічне дослідження (аналіз кількості лейкоцитів у крові експериментальних тварин та динаміки ШОЕ), дослідження кількості лейкоцитів у секреті передміхурової залози щурів.

Дослідження динаміки лейкоцитів та ШОЕ при проведенні загального аналізу крові здійснювали за допомогою автоматизованого гематологічного аналізатора BC-2800Vet (КНР) з використанням реактивів фірми MINDRAY (Південна Корея). Для дослідження кількості лейкоцитів в секреті передміхурової залози його використовували біологічний мікроскоп. Аналіз проводили при середньому збільшенні (x40) [6].

Також проводилося гістологічне/морфологічне дослідження передміхурової залози піддослідних тварин (Фарб. гематоксилін-еозин та по Ван-Гізону).

Результати дослідження та їх обговорення

При морфологічному дослідженні передміхурової залози у експериментальних тварин на 1-у добу були виявлені зміни, характерні для даної патології. Одержані результати співпадають з даними літературних джерел щодо розвитку хронічного простатиту [3, 7].

На 1-у, 7-у, 14-у та 21-у доби дослідження були одержані наступні результати зміни кількості лейкоцитів та ШОЕ (Табл.1).

Табл. 1. Динаміка лейкоцитів та ШОЕ під час розвитку експериментального хронічного простатиту

	1-а група	1-а доба	7-а доба	14-а доба	21-а доба
	1	2-а група 2	2-а група 3	2-а група 4	2-а група 5
Лейкоцити в крові	6,43±0,08	22,75±0,40 ***p ₂₁ =8,9·10 ⁻¹⁶	21,48±0,61 ***p ₃₁ =1,7·10 ⁻¹² p ₃₂ =0,15	19,33±0,66 ***p ₄₁ =4,6·10 ⁻¹³ *p ₄₃ =0,048	14,54±0,30 ***p ₅₁ =8,9·10 ⁻¹⁴ ***p ₅₄ =1,3·10 ⁻⁵
Лейкоцити в секреті передміхурової залози	7,42±0,19	28,03±1,02 ***p ₂₁ =1,3·10 ⁻¹¹	26,17±0,84 ***p ₃₁ =2,1·10 ⁻¹² p ₃₂ =0,23	22,45±0,76 ***p ₄₁ =8,3·10 ⁻¹² *p ₄₃ =0,014	13,87±0,28 ***p ₅₁ =2,8·10 ⁻¹⁶ ***p ₅₄ =6,9·10 ⁻⁸
ШОЕ	6,11±0,15	35,45±0,44 ***p ₂₁ =1,4·10 ⁻²⁰	33,24±1,05 ***p ₃₁ =7,3·10 ⁻¹³ p ₃₂ =0,11	30,15±0,42 ***p ₄₁ =1,3·10 ⁻¹⁹ *p ₄₃ =0,012	26,17±0,65 ***p ₅₁ =2,5·10 ⁻¹⁴ **p ₅₄ =0,0011

Примітки:

1-а група – інтактні щури;

2-а група – тварини зі змодельованим хронічним простатитом.

* – p < 0,05; ** – p < 0,01; *** – p < 0,001.

p₂₁ – статистична значущість відмінностей показника у 1-й групі та та 2-й групі на 1-у добу дослідження;

p₃₁ – статистична значущість відмінностей показника у 1-й групі та та 2-й групі на 7-у добу дослідження;

p₄₁ – статистична значущість відмінностей показника у 1-й групі та та 2-й групі на 14-у добу дослідження;

p₅₁ – статистична значущість відмінностей показника у 1-й групі та та 2-й групі на 21-у добу дослідження;

p₃₂ – статистична значущість відмінностей показника у 2-й групі на 7-у та на 1-у добу дослідження;

p₄₃ – статистична значущість відмінностей показника у 2-й групі на 14-у та на 7-у добу дослідження;

p₅₄ – статистична значущість відмінностей показника у 2-й групі на 21-у та на 14-у добу дослідження.

Обговорення результатів досліджень

Серед експериментальних моделей хронічного простатиту у щурів найбільш часто застосовують наступні:

1. Прошивання правої передньої долі передміхурової залози шовковою ниткою. Оперативне втручання виконувалося під тіопенталовим наркозом. В

даній моделі автори створювали у піддослідних тварин гостре асептичне запалення передміхурової залози, основною патогенетичною ланкою якого був розвиток конгесивного (застійного) фактору [8].

Недоліком моделей хронічного простатиту, для реалізації яких необхідним є хірургічне втручання є важкість відтворення, що потребує високоточних хірургічних навичок, а також додаткове навантаження на організм, викликане наявністю ранової поверхні.

2. Введення експериментальним тваринам розчину динітробензосульфонової кислоти 100 мг/мл у 50% розчині етанолу у фосфатному буфері. Спосіб введення – через стерильний поліетиленовий катетер, введений в сечовипускальний канал. Через нього вводили 0,2 мл динітросульфонової кислоти в 50% розчині етанолу таким чином, щоб розчин досягав вентральної частини передміхурової залози. Захворювання виникає через дві доби від початку експерименту. Дана методика запропонована M.D. Lang та співавторами [9]. Як зазначається, на думку вчених найбільші патологічні зміни при використанні цієї експериментальної моделі виникають в слизових залозах, які відіграють ключову роль у виникненні набряку, гіперплазії та розвитку запальних змін передміхурової залози [9, 10].

3. Третій спосіб включає в себе індукцію першої фази запалення – пошкодження (альтерації) тканин та клітин з виділенням медіаторів. Даний результат досягається тим, що у експериментальних тварин викликали патологічну венозну гіперемію передміхурової залози [3]. Прилив венозної крові викликали одноразовим введенням у пряму кишку 1 мл суміші, яка складалася із скипидару та димексиду. Суміш вливали через катетер. Через 10 днів після маніпуляції стан передміхурової залози оцінювали як розвиток гострого запалення, а через 35 діб – хронічного [3].

Дана модель частково стала прототипом нашої експериментальної моделі. Але для виконання поставлених задач необхідно було відтворити більш фізіологічну та покрокову форму розвитку хронічного простатиту. Виходячи із вищезазначеного, ми використовували меншу дозу скипидару та димексиду, компенсуючи її зниження гіпокінетичним навантаженням.

Важливим фактором розвитку хронічного простатиту є стан судинної системи. Як відомо, порушення гемодинаміки судини мікроциркуляторного руслу передміхурової залози займають ключове місце у розвитку патологічних змін при зрушеннях системи тканинного гомеостазу і при гіпокінетичному стресі [7].

Як вважає ряд науковців, саме такий є стрес найбільшою мірою відтворює малорухомий спосіб життєдіяльності, які є вагомими причинами розвитку хронічного простатиту [11].

Існує дослідження, в якому хронічний простатит моделювали за допомогою створення піддослідним тваринам гіпокінетичного стресу. Імобілізацію проводили 22 години на добу протягом 9-ти та 14-ти днів (Лугін І.А., 2012). Та при такій експериментальній моделі зміни більшою мірою виражені на периферії і менше проявляються в центральних структурах передміхурової залози, також виражені явища некрозу та паранекрозу ендотелію судин [7]. Це певним чином ускладнює подальше дослідження ефективності коригуючих препаратів. В нашій роботі дане ускладнення було компенсовано комбінуванням гіпокінетичного стресу та венозної гіперемії викликаної введенням суміші скипидару та димексиду у малих дозах.

Стосовно бактеріальних моделей – то доцільнішим є експериментальне відтворення абактеріального хронічного простатиту, враховуючи те, що по частоті захворюваності переважає ця форма патологічного процесу [1, 12]. До того ж набуває популярності тенденція, направлена на первинне лікування патогенетичних ланок простатиту і, в меншій мірі, на нейтралізацію збудника.

Також варто відзначити, що запропонована нами модель дозволяє прослідкувати динаміку патогенезу хронічного простатиту. Це підтверджується при аналізі досліджуваних показників. Так на 1-у добу в другій групі при дослідженні лейкоцитів у секреті передміхурової залози виявлено значно виражене збільшення їх кількості, що свідчить про розвиток хронічного простатиту. На сьому добу дана тенденція зберігається. На 14-у добу після закінчення моделювання патології у щурів починають з'являтися елементи адаптації, про що свідчить зменшення кількості лейкоцитів у секреті

передміхурової залози у порівнянні з попереднім етапом ($p < 0,05$). На 21-у добу, хоча і спостерігається зменшення кількості лейкоцитів, але наближення їх рівня до значень норми не спостерігається (відмінності між 1-ю та 2-ю групами на кожному із етапів дослідження є дуже високо значущими – $p < 0,001$).

Аналіз кількості лейкоцитів у крові експериментальних тварин показав таку ж направленість динаміки, що й дослідження лейкоцитів в секреті передміхурової залози. Отримані дані свідчать, що комбінована експериментальна модель ХП спричиняє розвиток хронічного запального процесу. При цьому не лише підтверджується виникнення локального запалення у передміхуровій залозі, а також спостерігається системна реакція усього організму, що є характерним для патогенезу досліджуваного захворювання. Результати, отримані при визначенні ШОЕ підтверджують вищезазначене і також свідчать про ефективність комбінованої моделі хронічного абактеріального простатиту.

Висновки:

1. Враховуючи високу частоту захворюваності простатитом, розробка експериментальних моделей не втратила своєї актуальності.
2. Моделювання за допомогою фармакологічних чинників є більш доступним, враховуючи легкість відтворення і не потребує додаткових хірургічних навичок.
3. Під час моделювання доведена роль венозних застійних процесів у розвитку хронічного простатиту.
4. Розроблена комбінована експериментальна модель хронічного простатиту, що складається з гіпокінетичного стресу та венозної гіперемії, яка викликала введенням суміші скипидару та димексиду у малих дозах.
5. Ефективність розробленої моделі підтверджується підвищенням кількості лейкоцитів у крові та секреті передміхурової залози експериментальних тварин, а також динамікою ШОЕ.

Література

1. Каприн А.Д. Нестероидные противовоспалительные препараты в лечении хронического абактериального простатита/ синдрома хронической

тазовой боли / А.Д. Каприн, А.А. Костин, С.В. Попов // Медицинский совет. – №17. – 2016. – С.133 – 137.

2. Чернух А.М. Микроциркуляция / А.М. Чернух, П.Н. Александров, О.В. Алексеев. – Медицина, М. – 1984. – 429.

3. Князькин И.В. Патогенетическая модель простатита в эксперименте на мелких лабораторных животных / И.В.Князькин, А.Г.Горбачев, С.Х.Аль-Шукри, С.Ю.Боровец, А.Г.Тюрин // Нефрология. – 2012. – Т.16. – №3. – С. 109 – 113.

4. Pontari M.A. Chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome / M.A. Pontari // Urol Clin North Am. – 2008. – № 35(1). – P. 81 – 9.

5. Интегративная урология. Под ред. Глыбочко П.В., Аляева Ю.Г. – М.: Медфорум. – 2014. – 432 с.

6. Мантатов В.В. Влияние комплексного средства «Фитопрост» на течение экспериментального хронического простатита: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Улан-Удэ, 1999. – 23 с.

7. Лугин И.А. Экспериментальное моделирование простатита у крыс на основе гипокинетического стресса / И.А. Лугин // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т. 15. – № 3. – С.191 – 194.

8. Простатотропный эффект Бетамида в модели абактериального простатита у крыс / С.А. Низомов, Н.А. Жукова, И.В. Сорокина // Урологические ведомости. 2017 том 7. С.78-79.

9. Rat model of experimentally induced a bacterial prostatites/ M.D. Lang, J.C. Nickel, E. Olson Merle et al. // The Prostate. – 2000. – Vol. 45. – P.201– 206.

10. Применение свечей «Тамбуил» у крыс с интерстициальным простатитом (Экспериментальное исследование) / Э.Ф. Степанова, М.М. Евсеева, Х.Г. Карагулов // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. 2011. № 22 (117). Выпуск 16/2. С.35-38.

11. Арнольди Э.К. Хронический простатит/ Э.К. Арнольди – Ростов - на-Дону: Феникс, 1999. – 80 с.

12. Комяков Б.К., Назаров Т.Х., Ризоев Х.Х. Хронический обструктивный простатит. – СПб.: Русская коллекция. – 2016. – 111 с.

References

1. Caprin A.D. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the treatment of chronic abacterial prostatitis / chronic pelvic pain syndrome. Kaprin, A.A. Kostin, S.V. Popov // Medical advice. - №17. - 2016. - P.133 - 137.
2. Chernukh A.M. Microcirculation / A.M. Chernukh, P.N. Alexandrov, O.V. Alekseev. - Medicine, M. - 1984. - 429.
3. Kniazkin I.V. Pathogenetic model of prostatitis in the experiment on small laboratory animals / IVKnyazkin, AGGorbachev, S.Kh.Al-Shukri, S.Y.Borovets, A.G. Tyurin // Nephrology. - 2012. - T.16. - No. 3. - P. 109 - 113.
4. Pontari M.A. Chronic prostatitis / chronic pelvic pain syndrome Pontari // Urol Clin North Am. - 2008. - No. 35 (1). - P. 81 - 9.
5. Integrative urology. Ed. Glybochko PV, Alyaeva Yu.G. - M.:Medforum. - 2014. - 432 p.
6. Mantatov VV Effect of the complex agent "Phytoprost" on the course of experimental chronic prostatitis: the author's abstract. dis. ... cand. honey. sciences. - Ulan-Ude, 1999. - 23 p.
7. Lugin I.A. Experimental modeling of prostatitis in rats on the basis of hypokinetic stress / IA. Lugin // Tavrichesky medico-biological bulletin. - 2012. - T. 15. - No. 3. - P.191 - 194.
8. Prostatotropic effect of Betamid in the model of abacterial prostatitis in rats. Nizomov, N.A. Zhukova, I.V. Sorokina // Urological statements. 2017 vol. 7. P.78-79.
9. Rat model of experimentally induced a bacterial prostatites / M.D. Lang, J.C. Nickel, E. Olson Merle et al. // The Prostate. - 2000. - Vol. 45. - P.201- 206.
10. The use of Tambuil suppositories in rats with interstitial prostatitis (Experimental study) / EF. Stepanova, M.M. Evseeva, H.G. Karagulov // Scientific statements. Series Medicine. Pharmacy. 2011. № 22 (117). Issue 16/2. P.35-38.
11. Arnoldi E.K. Chronic prostatitis / EK Arnoldi - Rostov-on-Don: Phoenix, 1999. - 80 p.

12. Komyakov BK, Nazarov TH, Rizoev Kh.H. Chronic obstructive prostatitis. - SPb .: Russian collection. - 2016. - 111 p.