

© В. Я. ХОРОШ, А. І. МИСАК, І. М. КЛИЩ

ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського”

Зміни секрету передміхурової залози і лейкоцитів периферійної крові при експериментальному хронічному простатиті та доброякісній гіперплазії передміхурової залози

V. YA. KHOROSH, A. I. MYSAK, I. M. KLISHCH

SHEI “Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky”

CHANGES OF THE PROSTATIC SECRETION AND PERIPHERAL BLOOD LEUKOCYTES AT THE EXPERIMENTAL CHRONIC PROSTATITIS AND BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA

В експерименті на нелінійних білих щурах із хронічним простатитом та доброякісною гіперплазією передміхурової залози досліджено зміни секрету залози і лейкоцитів периферійної крові. Встановлено, що нативний сік передміхурової залози містить оптично активні компоненти, розміри яких і характер поляризованої флуоресценції відображають особливості динаміки патологічного процесу, його фазний характер. Результати аналізу вторинної люмінесценції лейкоцитів периферійної крові підослідних тварин підтвердили існування прямої залежності розвитку патологічного процесу в передміхуровій залозі від характеру цитопатичних змін лейкоцитів. Зроблено висновок про можливість використання цих ознак як принципово нового критерію діагностики патології передміхурової залози.

In the experiment on nonlinear white rats with chronic prostatitis with benign prostatic hyperplasia the changes of the secretion of the prostate gland and peripheral blood leukocytes were investigated. It was established that native juice of the prostate gland contains optically active components, which measurement and character of polarized fluorescence reflect the peculiarities of the pathological process dynamics, its phase character. The analysis results of the secondary luminescence of the peripheral blood leukocytes in laboratory animals showed the direct dependence of the pathological process development in the prostate gland on the character of cytopathic changes of leukocytes. It was concluded that these signs could be used as the fundamentally new criterion in the diagnostics of the prostate gland pathology.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій. Доброякісну гіперплазію передміхурової залози (ДГПЗ), яку ще називають аденома простати, на даний час відносять до одного з найчастіших захворювань у чоловіків похилого і старечого віку [4, 6, 8, 13, 15, 16]. На актуальність проблеми вказує також недостатній рівень раннього виявлення ДГПЗ при проведенні профілактичних оглядів. До того ж, за останні роки ДГПЗ “помолодшала”, що, на думку дослідників, пов’язано не тільки з поліпшенням діагностики [1, 2, 9, 11], але й із збуренням сечостатевої інфекції, особливо вірусної [3].

Тому своєчасне виявлення патологічних змін структури і функції передміхурової залози є актуальною проблемою [7, 13, 14]. З одного боку, такі порушення зазвичай розглядають як прояв складних фазових відносин, сформованих на клітинно-молекулярному рівні патологічних змін у тканині залози з їх клінічними проявами, а з іншого – не-

своєчасне виявлення патологічних змін може виникати внаслідок суттєвого відставання методологічної бази рутинного діагностичного процесу від завдань сучасної практики, яке проявляється недостатньою опорою на досягнення фундаментальних наук, зокрема, у сфері біофізики і фізики рідких кристалів, фотобіології тощо.

Особливо перспективними слід вважати методичні підходи до діагностики ранніх порушень структури і функції передміхурової залози, які базуються на виявленні ранніх біоенергетичних змін на квантово-молекулярному рівні, що передують змінам на системному рівні організму як цілого. Так, вказані порушення супроводжуються певними змінами флуоресценції оптично активних компонентів соку передміхурової залози в поляризованому світлі. Оскільки саме сполукам із рідкокристалічними властивостями – лецитиновим зернам соку простати – характерна властивість до подвійного заломлення світла, а отже, висвічува-

ти на принципових засадах методу поляризованої флуоресценції, то інформація про структуральні особливості нативних мікрогранул соку залози і якісно-кількісні параметри їх світіння набувають особливої ваги у вирішенні завдань оптимізації клініко-діагностичного процесу.

Матеріали і методи. Досліди проведено на білих статевозрілих нелінійних щурах-самцях масою 190–245 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей” [12].

Усі лабораторні тварини умовно поділено на IV групи. До I групи увійшло 6 інтактних щурів (I контрольна група), II дослідну групу склали 6 щурів з експериментальним хронічним простатитом (ХП) із ДГПЗ без додаткового впливу токсичного чинника, до III дослідної групи увійшло 18 тварин із експериментальним ХП із ДГПЗ на тлі додаткового впливу токсичного чинника.

ХП із ДГПЗ ініціювали кастрацією самців щурів з одночасним підшкірним введенням упродовж 21-ї доби ампульного тестостерону в дозі 0,1 мг/кг маси із додатковим підшкірним введенням стандартизованої токсичної субстанції у вигляді водного екстракту ксеногенного субстрату кріоліофілізованої шкіри свині тваринам III дослідної групи. Останній, з метою надання йому токсичних властивостей, витримували у сухожаровій шафі при 350 °C впродовж 90 хв, після чого до 10 г термічно обробленого субстрату у колбі вносили 60 мл дистильованої води і витримували при 20 °C впродовж 4 год, після чого центрифугували при 1500 об·хв⁻¹ упродовж 30 хв. Отриманий надосад стандартизували за вмістом амінів до рівня 10 г/л. Додатково двічі з інтервалом у 3 дні підшкірно вводили стандартизований водний екстракт токсичної субстанції термічно обробленої ксеношкіри в дозі 1 мл/кг.

Дослідження біологічних об'єктів за методом люмінесцентного аналізу проводили на принципових засадах вторинної люмінесценції з забарвленням живих клітин флуорохромом акридином оранжевим, а також поляризованої флуоресценції з висвічуванням у оптично активних анізотропних біооб'єктів у поляризованому світлі [5].

Дослідження здійснювали з використанням люмінесцентного мікроскопа ЛЮМАМ 8-3М та поляризаційного мікроскопа МС-200, оснащеного відеосистемою з програмним забезпеченням від

розробника — виробничо-комерційної фірми “Sumy Electron Optics” (м. Суми, Україна). Світіння нативних біооб'єктів на предметному столику збуджували потоком поляризованого світла з наступним контрастуванням картини флуоресценції шляхом обертання аналізатора. Результати дослідження фотодокументували, а кількісну інформацію про інтенсивність світіння і спектральний склад випромінювання представляли у вигляді діаграм і графіків.

Одержані результати статистично обробляли, обчислювали середню арифметичну варіаційного ряду (M), стандартну похибку середньої арифметичної (m) та достовірність відмінностей (p).

На моделі хронічного простатиту з гіперплазією передміхурової залози у самців щурів, індукованої кастрацією з одночасним підшкірним введенням упродовж 21 доби ампульного тестостерону в дозі 0,1 мг/кг маси із додатковим підшкірним введенням токсичного водного екстракту ксеногенного субстрату кріоліофілізованої шкіри свині, досліджували зв'язок формування оптично активних кристалічних мікроструктур соку залози з динамікою експериментальних патологічних змін.

Процес відтворення хронічного простатиту з гіперплазією тканини передміхурової залози підтверджували у тварин на 21-шу добу патогістологічним дослідженням. Додатково на предметному склі готували відбитки зрізу передміхурової залози і спостерігали особливості їх світіння методом поляризованої флуоресценції, звертаючи увагу на розміри мікрогранул соку залози, їх форму, колір, яскравість та інтенсивність світіння. Одночасно досліджували спектральний склад поляризованої флуоресценції відбитків програмними засобами.

Результати досліджень та їх обговорення. Із наведених у таблиці 1 даних видно, що вміст лейкоцитів у секреті залози в контрольній групі тварин, як і вміст еритроцитів, визначено на рівні одиничних клітин. Фактична відсутність у секреті залози тварин макрофагів, клітин циліндричного епітелію, амілоїдних тілець і атипових клітин відповідає морфофункціональному стану залози у здорових — інтактних тварин.

На відміну від показників здорових тварин, при експериментальній патології, а саме ХП із ДГПЗ, відтвореній шляхом кастрації самців тварин з одночасним підвищенням концентрації в крові тестостерону, мало місце збільшення вмісту лейкоцитів (у 7 разів), макрофагів і еритроцитів (приблизно у 3 рази), беручи за точку відліку 2 клітини в полі зору як рівень норми. Необхідно вказати на збільшення

Таблиця 1. Показники мікроскопічного аналізу секрету передміхурової залози щурів-самців контрольної і дослідних груп ($X \pm m$)

Показник	Група спостереження				
	контроль, інтактні тварини, n=6	ХП із ДГПЗ без додаткового токсичного впливу, n=6	ХП із ДГПЗ із додатковим токсичним впливом		
			2 доба, n=6	8 доба, n=6	15 доба, n=6
Лейкоцити, п/з	Поодинокі	14,4±2,7	8,6 ±2,1	15,1±2,3	19,5±2,6
Еритроцити, п/з	Поодинокі	6,1±1,6	8,3±1,7	9,9±1,7	12,3±2,0
Клітини перехідного епітелію, п/з	5,8±1,5	10,3±4,6	9,8±4,9	11,2±5,1	12,0±4,6
Клітини циліндричного епітелію, п/з	4,5±1,3	24,2±3,2	29,4±3,6	38,6±4,7	53,2±4,7
Макрофаги, п/з	2,7±1,2	8,1±1,3	6,8±1,0	10,0±1,3	11,7±1,4
Амілоїдні тілця, п/з	3,3±0,6	18,1±2,6	15,7±2,7	21,4±2,9	25,4±3,0
Лецитинові зерна, п/з	64,9±5,6	18,4±3,2	14,8±2,2	11,1±1,8	7,3±2,5
Клітинна анаплазія	Відсутня	Виражена	Помітна	Помірна	Виражена

притаманного пухлинному процесу вмісту клітин циліндричного епітелію та амілоїдних тілець (відповідно, у 5,4 і 5,5 раза) на тлі одночасного зменшення на 71,6 % кількості лецитинових зерен ($p < 0,05$).

Відтворення ХП із ДГПЗ на тлі введення тваринам токсичного екстракту термічно обробленої ксеношкіри супроводжувалося змінами мікроскопічної картини секрету простати, основний напрям яких повністю збігався у тварин обох груп.

У кількісному вираженні вказані зміни переважали аналогічні показники в попередній групі тварин (ХП із ДГПЗ без введення токсичного екстракту) вже на 8-шу добу спостереження. Як видно із наведених у таблиці 1 даних, вміст клітин у секреті передміхурової залози на 8-му і 15-ту доби за умов додаткового впливу токсичного екстракту термічно обробленої ксеношкіри переважав аналогічні показники у тварин без токсичного впливу на 4,9 і 29,1 % – при дослідженні лейкоцитів, на 62,3 і 24,2 % – еритроцитів, та на 23,5 і 13,6 % – макрофагів ($p < 0,05$). Наведена тенденція стосується зростання вмісту клітин циліндричного епітелію на 59, і 119,8 % на 8-му і 15-ту доби, а також амілоїдних тілець – відповідно, на 18,2 і 40,3 %. Типову ситуацію спостерігали при аналізі вмісту лецитинових зерен у секреті залози вказаної групи лабораторних тварин: відповідно, на 39,7 і 60,3 % на 8-му і 15-ту доби ($p < 0,05$).

Зважаючи на високу інформативність методичних підходів до діагностики ранніх порушень структури і функції передміхурової залози, що базуються на виявленні ранніх біоенергетичних змін на квантово-молекулярному рівні, останні проявляються різним характером світіння оптично активних компонентів секрету залози в поляризованому світлі.

На моделі хронічного простатиту з гіперплазією передміхурової залози, індукованої кастрацією з одночасним внутрішньом'язовим введенням тестостерону і підшкірною ін'єкцією токсичного водного екстракту ксеношкіри (свині), встановлено зв'язок між динамікою експериментальних патологічних змін у залозі та утворенням в її секреті оптично активних кристалічних мікроструктур.

За результатами дослідження процесу формування ХП із ДГПЗ у тварин, а саме характеру їх світіння у поляризованому світлі на 15-ту добу, формою, кольором і яскравістю (інтенсивністю), а також за даними аналізу спектрального складу поляризованої флуоресценції відбитків програмними засобами встановлено, що нативний сік передміхурової залози містить оптично активні компоненти. На мікрофотографії (рис. 1) видно, що для секрету простати інтактної тварини характерні зерна при-

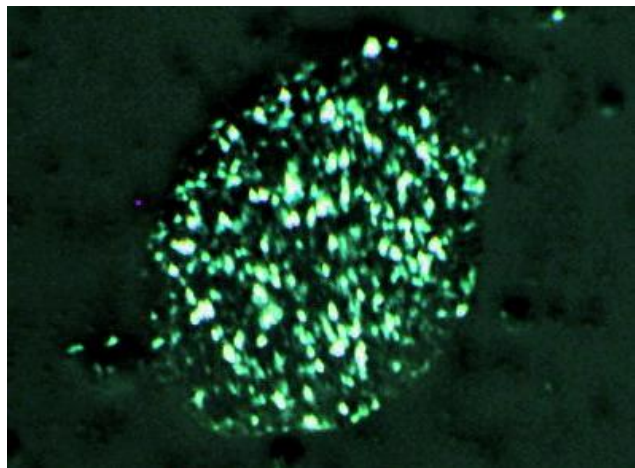


Рис. 1. Флуоресценція лецитинових зерен у вигляді мікроструктур секрету простати інтактного щура. Поляризаційний мікроскоп. МС-200. $\times 300$.

близно однакового розміру, зокрема в межах 1–3 мкм, тоді як за умов хронічного запалення і доброякісної гіперплазії залози лецитинові зерна у вигляді оптично активних утворів (мікрогранул) збільшуються у розмірах до 5–6 мкм (рис. 2). Характерних для явищ застою або пухлинного переродження амілоїдних зерен і тілець Труссо-Лалемана у секреті простати тварин не виявлено.

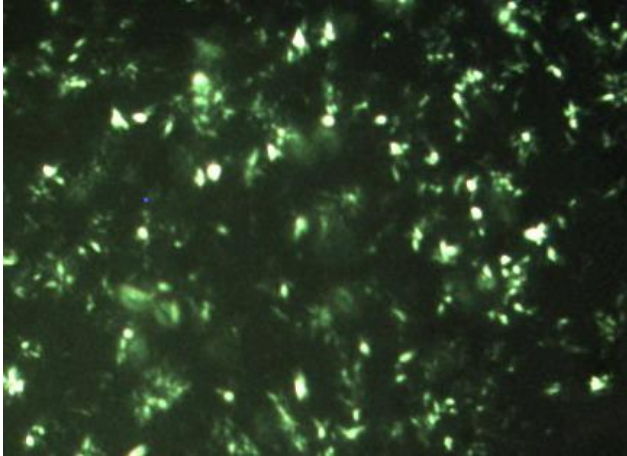


Рис. 2. Флуоресценція мікрокристалів лецитинових зерен у секреті простати щура на тлі експериментального ХП і ДГПЗ без впливу токсичного екстракту ксеношкіри. Поляризаційний мікроскоп МС-200. $\times 300$.

Заслугує на особливу увагу встановлений у ході дослідження феномен інтенсифікації процесу утворення кристалів соку передміхурової залози на тлі впливу токсичного екстракту ксеношкіри на 8-му і 15-ту доби, що проявляється збільшенням розмірів кристалічних утворів до 6–8 мкм (рис. 3). Це вказує на глибокі структуральні зміни залозистого секрету на молекулярному рівні, що відбуваються при ХП та ДГПЗ.

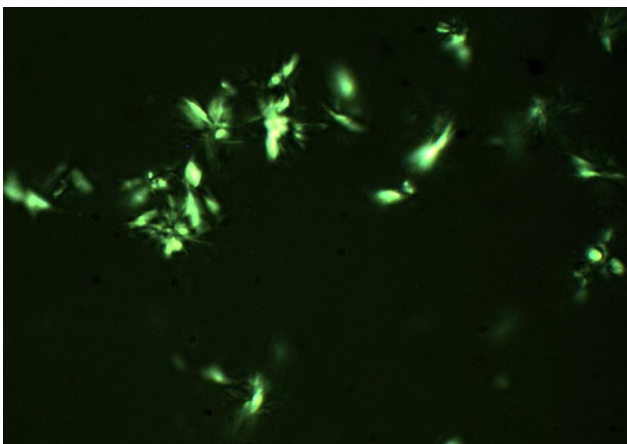


Рис. 3. Флуоресценція мікрокристалів лецитинових зерен у секреті простати щура при ХП і ДГПЗ на тлі впливу токсичного екстракту ксеношкіри. Поляризаційний мікроскоп МС-200. $\times 300$.

Наведену ознаку можна розглядати як принципово важливий клініко-діагностичний критерій, оскільки стосується певних функціональних змін у передміхуровій залозі, і може набувати у такий спосіб значення високоінформативного прогностичного тесту.

Отже, здатність компонентів соку залози взаємодіяти із поляризованим світлом, що базується на принципі двопробеневого світлозаломлення, свідчить про наявність їх високої оптичної активності. Феномен двопробеневого світлозаломлення кристалічних компонентів соку залози як прояв їх оптичної анізотропії вказує на їх належність до структур із рідкокристалічними властивостями. Характер їх флуоресцентного світіння коректно відображає особливості динаміки патологічного процесу, його фазний характер.

Результати аналізу вторинної люмінесценції лейкоцитів периферійної крові піддослідних тварин засвідчили існування прямої залежності розвитку патологічного процесу в передміхуровій залозі від характеру цитопатичних змін на рівні клітин імунної системи, якими й є лейкоцити. Так, на відміну від представлених на рисунку 4 неушкоджених

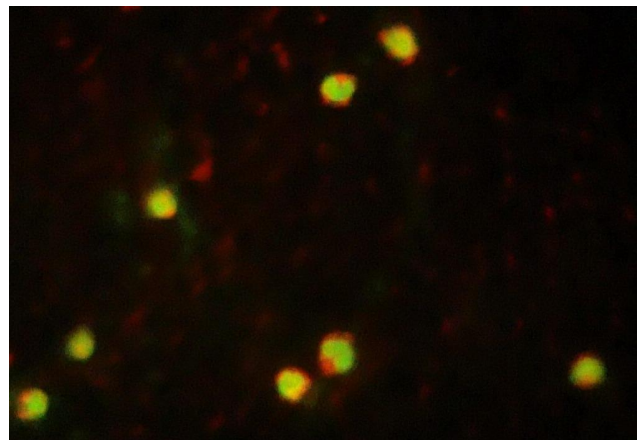


Рис. 4. Вторинна люмінесценція ізольованих лейкоцитів периферійної крові інтактної тварини – контроль. ЛЮМАМ 8 - 3М. $\times 600$.

клітин, ядра яких висвічують переважно (>90 %) зеленим, а також оранжевим (7–9 %) та червоним (0–3 %) – відповідно, при інкубації ізольованих лейкоцитів із токсичним екстрактом термічно обробленої ксеношкіри спостерігали виражений зсув спектра світіння в бік довгохвильової (червоносвітної) люмінесценції з одночасною цитодеструкцією клітин (рис. 5).

Аналогічну картину спостерігали при дослідженні нативної крові піддослідних тварин із відтвореними в експерименті ХП і ДГПЗ (рис. 5):

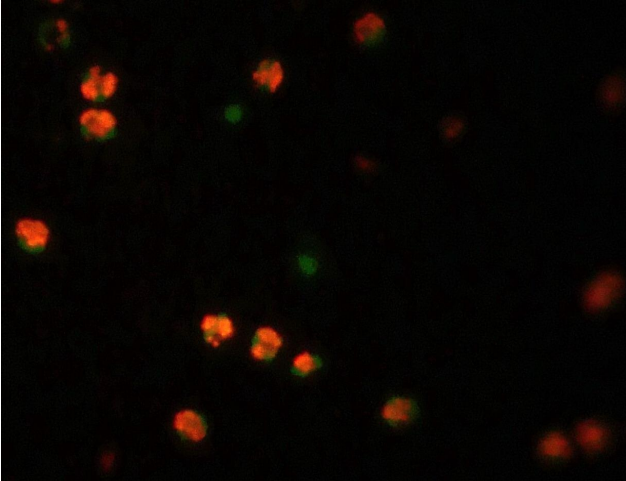


Рис. 5. Довгохвильовий зсув спектра вторинної люмінесценції лейкоцитів периферійної крові під впливом токсичного екстракту ксеношкіри в реакції *in vitro*. ЛЮМАМ 8 - 3М. $\times 600$.

зсув спектра вторинної люмінесценції лейкоцитів у довгохвильовий бік був ще помітнішим.

Так, якщо однакові за рівнем деструкції лейкоцити на 8-му добу висвічували в мікропрепараті зеленим світлом (рис. 6), то на 15-ту добу спостерігали зсув спектра їх світіння у довгохвильову спектральну ділянку (рис. 7). Це супроводжувалося явищами набряку, каріолізису лімфоцитів та фрагментації ядер нейтрофілів.

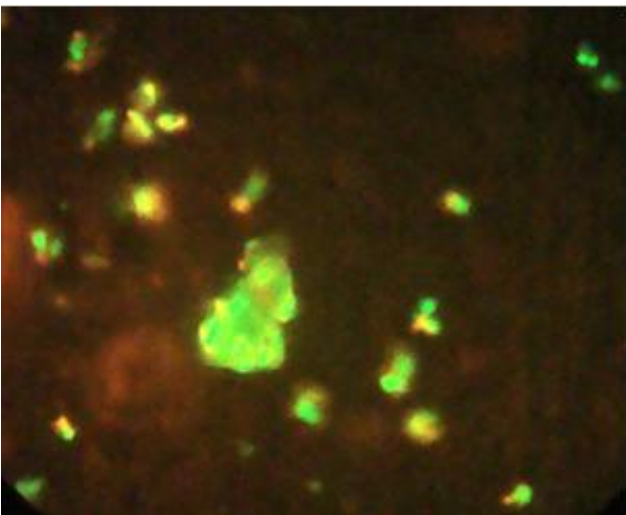


Рис. 6. Вторинна люмінесценція лейкоцитів периферійної крові піддослідних тварин на тлі ХП і ДГПЗ на 8-му добу. Акридиновий оранжевий 1:10000. ЛЮМАМ 8 - 3М. $\times 600$.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Иванов А. О. К вопросу о психофизиологических особенностях больных хроническим простатитом // Матер. Всесоюзной науч. конф. / А. О. Иванов, А. Г. Кочетов. – Москва, 2000. – С. 134–136.

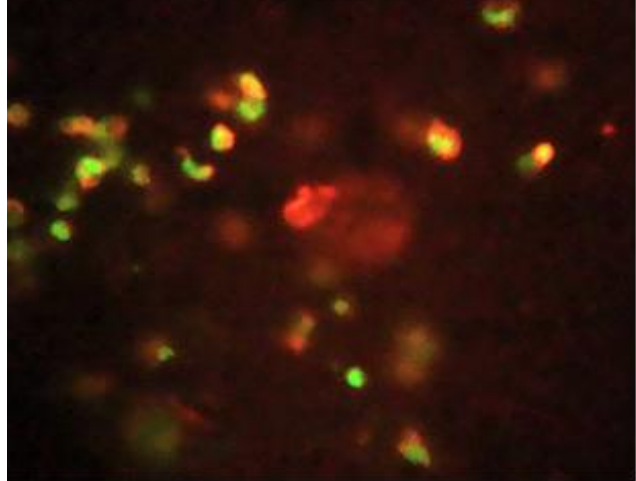


Рис. 7. Вторинна люмінесценція лейкоцитів периферійної крові піддослідних тварин на тлі ХП і ДГПЗ на 15-ту добу. Акридиновий оранжевий 1:10000. ЛЮМАМ 8 - 3М. $\times 600$.

На наш погляд, це достатньо переконливо відображає зростання рівня інтоксикації організму внаслідок токсичної дії сполук ксенодермального субстрату і відповідного обтяження експериментального патологічного процесу у передміхуровій залозі.

Привертає увагу виявлений за допомогою цитолюмінесцентного аналізу фазний характер реакції *in vivo* лейкоцитів периферійної крові у тварин із відтвореним в експерименті ХП з ДГПЗ. Найінформативнішим при цьому виявився спектр люмінесцентного світіння пошкоджених клітин. Додатковим підтвердженням цього може слугувати картина патоморфологічних змін у передміхуровій залозі і нирках при ХП і ДГПЗ.

Висновки. 1. Нативний сік передміхурової залози містить оптично активні компоненти, розміри яких і характер поляризованої флуоресценції відображають особливості динаміки патологічного процесу, його фазний характер.

2. За результатами люмінесценції лейкоцитів периферійної крові піддослідних тварин можна встановити пряму залежність розвитку патологічного процесу в передміхуровій залозі від характеру цитопатичних змін лейкоцитів.

3. Виявлені ознаки можна розглядати як принципово нові критерії клініко-діагностичного значення, оскільки вони стосуються певних функціональних змін у передміхуровій залозі і можуть мати прогностичне значення.

2. Игнашин Н. С. Ультрасонография в диагностике и лечении урологических заболеваний / Н. С. Игнашин. – М. : Видар, 1997. – С. 80–82.

3. Иммунотерапия бактериальных и вирусных инфекций в

- урологической практике / О. А. Троицкий, В. В. Хоробрых, Р. Я. Войлокова [и др.] // International Journal on Immunorehabilitation. – 1999. – № 12. – P. 109.
4. Лоран О. Б. Хронический простатит / О. Б. Лоран, А. С. Сегал // Материалы X Рос. съезда урологов. – М., 2002. – С. 209–222.
5. Пат. 57466 U Спосіб люмінесцентного аналізу / Хорош В. Я. – № u201010471; заявл. 30.08.2010; опубл. 25.02.2011. Бюл. № 4.
6. Переверзев А. С. Заболевания предстательной железы / А. С. Переверзев, Н. Ф. Сергиенко. – Харьков, 2005. – 260 с.
7. Сивков А. В. Терапия хронического абактериального простатита / А. В. Сивков, В. Н. Ощепков, А. А. Егоров // Материалы пленума Правления Российского общества урологов. – Саратов, 2004. – С. 42.
8. Яковлева Л. В. Доброякісна гіперплазія передміхурової залози, діагностика і лікування (огляд літератури) / Л. В. Яковлева, Н. Я. Музика // Клінічна фармація. – 2009. – Т. 13, № 4. – С. 66-70.
9. Androgen regulation programmed cell death of normal malignant prostate cells / J. T. Isaacs, P. I. Lundmo, R. Berges [et al.] // J. Andrology. – 1992. – Vol. 13. – P. 457-464.
10. Barry M. J. For the Measurement Committee of the American Urological Association. The American Urological Association symptom index for index prostatic hyperplasia / M. J. Barry, M. P. O'Leary // J. Urol. (Baltimore). – 1992. – Vol. 148. – P. 1549–1564.
11. Doxazosin treatment in patients with prostatic obstruction. Scand / M. Christensen, J. Bendix Holme, P. Rasmussen [et al.] // J. Urol. Nephrol. – 2003. – Vol. 27. – P. 39-44.
12. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe. Strasbourg. – 1986. – № 123. – 52 p.
13. Lefaucheur J. P. Assessment of penile small nerve fiber damage after I transurethral resection of the prostate by measurement of penile thermal sensation / J. P. Lefaucheur, R. Yiou, L. Salamon / J. Urol. (Baltimore). – 2000. – Vol. 164, № 4. – P. 1416-1419.
14. Riehmman M. Transurethral resection versus incision of the prostate; a randomized, prospective study / J. M. Knes, D. Heisey // Urology. – 1995. – Vol. 45. – P. 768-775.
15. Pharmacological effects of the lipidosterolic extract of *Serenoa repens* (Permixon) on rat prostate hyperplasia induced by hyperprolactinemia: comparison with finasteride / F. Van Coppenole, X. Le Bourhis, F. Carpentier [et al.] // Prostate. – 2000. – Vol. 43, № 1. – P. 49-58.
16. Truss M. Steroid hormone receptors/ interaction with disoxyribonucleic acid and transcription factors / M. Truss, M. Beato // Endocr Rev. – 1993. – Vol. 14. – P. 459-479.

Отримано 25.04.13