

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**ЮНУСОВА САИДАБОНУ ІЛХОМЖОН КИЗИ**

УДК: 615.035.4:615.25:582.635.38

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**ФАРМАКОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕКСТРАКТУ ТРАВИ ЯКІРЦІВ  
СЛАНКИХ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПРОСТАТИТІ**

226 – “Фармація, промислова фармація”

22 – “Охорона здоров'я”

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне  
джерело \_\_\_\_\_ Юнусова Саидабону Ілхлмжон кизи

**Науковий керівник:** Рожковський Ярослав Володимирович, доктор  
медичних наук, професор

Одеса - 2024

## АНОТАЦІЯ

*Юнусова Саидабону Ілхомжон кизи.* Фармакологічні властивості екстракту трави якірців сланких при експериментальному простатиті. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 “Охорона здоров’я” за спеціальністю 226 “Фармація, промислова фармація”. – Одеський національний медичний університет, МОЗ України, Одеса, 2024.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню фармакологічних властивостей та експериментальному обґрунтуванню доцільності застосування густого екстракту трави якірців сланких при експериментальному хронічному простатиті.

Густий екстракт одержували екстракцією 50 % етанолом у співвідношенні сировина : екстрагент 1:10 та проводили його стандартизацію за вмістом стероїдних та фенольних сполук. Скринінгові дослідження з визначення найбільш ефективної дози фітозасобу проведені на моделях карагінінового, зимозанового, формалінового набряку у щурів та оцтовокислих корчів у щурів з використанням доз ГЕЯС 50 мг/кг, 100 мг/кг, 150 мг/кг і 200 мг/кг.

На моделі гострого ексудативного карагінінового запалення у щурів була виявлена виразна протизапальна дія ГЕЯС, яка збільшується в діапазоні доз від 50 мг/кг до 150 мг/кг. Подальше підвищення дози до 200 мг/кг суттєво не посилює протизапальні властивості цього фітозасобу. Антифлогістична активність ГЕЯС в дозах від 100 мг/кг до 200 мг/кг була співставна з аналогічним ефектом диклофенаку натрію в дозі 8,0 мг/кг, що вказує на високу здатність ГЕЯС в зазначених дозах пригнічувати активність циклооксиганази передусім за рахунок негативного впливу на виділення ранніх медіаторів запалення - біогенних амінів, таких як гістамін і серотонін,

а також в меншій мірі, за рахунок пригнічення синтезу прозапальних простагландинів на більш пізніх етапах експерименту.

Також встановлена здатність ГЕЯС в дозах від 50 до 200 мг/кг до пригнічення зимозанового запалення, яка максимально фіксується на початкових етапах (1 година) після уведення цього флогогену, що вказує на його здатність гальмувати ліпоксигеназний шлях метаболізму арахідонової кислоти. За виразністю цього гальмуючого впливу у першу годину запалення ГЕЯС не поступається перед класичним блокатором 5-ЛЮ корвітином в дозі 10 мг/кг і переважає аналогічний ефект диклофенаку натрію в дозі 8 мг/кг.

На моделі формалінового запалення, яка відображає деструкцію мембранних білків, ГЕЯС в дозах від 100 до 200 мг/кг виявив значну антиексудативну та мембраностабілізуючу активність, яка за своєю виразністю фактично не поступається перед диклофенаком натрію (8 мг/кг) і переважає корвітин (10 мг/кг).

На моделі оцтовокислих корчів у мишей ГЕЯС в найбільш ефективній дозі 150 мг/кг за анальгетичною активністю дещо поступався перед відповідним ефектом диклофенака натрію, але більш ніж удвічі перевершував за цим критерієм фітозасіб порівняння пепонен в дозі 100 мг/кг, що вказує на периферичні механізми його знеболювальної дії.

Таким чином підтверджено, що ГЕЯС в різних дозах – від 50 мг/кг до 200 мг/кг володіє виразними антиексудативними властивостями, які пов'язані у першу чергу з їхнім гальмівним впливом на вивільнення біогенних амінів, пригніченням ліпоксигенази та зменшенням деструкції мембранних білків, а також у меншій мірі – з пригніченням активності циклооксигенази. Збільшення дози ГЕЯС в діапазоні від 100 мг/кг до 200 мг/кг не супроводжується більш значним зростанням протизапальної активності фітозасобу, проте найбільш виразна анальгетична дія ГЕЯС на моделі оцтовокислих корчів була зафіксована саме в дозі 150 мг/кг. Очевидно, що ця доза й була обрана для подальших досліджень, оскільки забезпечувала максимальний протизапальний і анальгетичний ефект.

Встановлено, що ГЕЯС в дозі 150 мг/кг спричиняє антиальтеративну і ранозагоювальну дію на площинні асептичні рани шкіри у щурів. За виразністю антиальтеративної дії, яка оцінювалась за показником повного закриття ранового дефекту, ГЕЯС в дозі 150 мг/кг переважає препарат порівняння корвітин в дозі 10 мг/кг в 1,5 раза і скорочує удвічі термін епітелізації рани порівняно з нелікованими тваринами. Диклофенак натрію антиальтеративною дією не володіє і уповільнює загоєння дерматомної асептичної рани. Водночас, за час лікування різаних асептичних ран було встановлено, що більш повноцінне їх загоєння відбувалося у тварин, які отримували ГЕЯС в дозі 150 мг/кг.

Дослідження антипроліферативної активності фітозасобів на моделі ватної гранульоми у щурів виявило здатність ГЕЯС і корвітину знижувати відповідно у 1,36 раза ( $P < 0,05$ ) і 1,39 раза ( $P < 0,05$ ) утворення фіброзно-грануляційної тканини, проте за вказаним критерієм ці фітозасоби поступались перед диклофенаком натрію в дозі 8 мг/кг, що свідчить про помірний характер їхньої антипроліферативної дії.

Окисний стрес і запалення – фактори, які нерозривно пов'язані між собою та є невід'ємною частиною у патогенезі простатиту різної етіології. Встановлено, що ГЕЯС в умовах *in vitro* на моделі гальмування ПОЛ в системі жовткових ліпопротеїдів виявляє антиоксидантні властивості, виразність яких зростає при збільшенні дози фітозасобу. В еквівалентних дозах (8 мкг/мл) цей фітозасіб поступається перед  $\alpha$ -токоферолом, в дозі 15 мкг/мл антиоксидантна активність ГЕЯС і  $\alpha$ -токоферолу (8 мкг/мл) є співзмірною, а в дозі 20 мкг/мл ГЕЯС має потужніший антиокиснювальний потенціал, ніж у  $\alpha$ -токоферолу у 1,51 раза ( $P < 0,05$ ). Це вказує на наявність у ГЕЯС прямої дозозалежної антиоксидантної дії в умовах *in vitro*.

Антиоксидантні властивості ГЕЯС також оцінювались за інгібуванням в умовах *in vitro* окисної модифікації білка в цитозольній фракції печінки, викликаній реактивом Фентона. ГЕЯС виявив високу здатність пригнічувати

процес карбонілування білків в умовах окислювального стресу. При цьому збільшення у середовищі концентрації ГЕЯС з 5 мкг/мл до 10 мкг/мл і 20 мкг/мл супроводжується поступовим зростанням здатності гальмувати утворення продуктів ОМБ. Найвища здатність знижувати загальний рівень карбонільних похідних за умов *in vitro* була зафіксована в дозі ГЕЯС 20 мкг/мл: рівень АФГ знижувався на 39,5 % ( $P < 0,05$ ), КФГ – на 54,8 % ( $P < 0,05$ ). Збільшення в інкубаційному середовищі дози ГЕЯС до 50 мкг/мл не супроводжується подальшим зростанням його гальмівного впливу стосовно утворення продуктів ОМБ. Це вказує на непряму дозозалежність антиоксидантних ефектів ГЕЯС стосовно ОМБ в умовах *in vitro*.

Дослідження антиоксидантної активності ГЕЯС в умовах *in vivo* на моделі токсичного тетрахлорметанового гепатиту показало, що у щурів, які отримували ГЕЯС активність СОД перевершувала відповідний показник нелікованої групи у 1,90 раза ( $P < 0,05$ ), каталази – у 1,66 раза ( $P < 0,05$ ), глутатіонредуктази – у 1,89 раза ( $P < 0,05$ ), вміст відновленого глутатіону – у 1,84 раза ( $P < 0,05$ ), а рівень  $\alpha$ -токоферолу залишався практично на фізіологічному рівні. ГЕЯС більш ефективно, ніж препарати порівняння – карсил в дозі 100 мг/кг і пепонен в дозі 106 мг/кг, стабілізував показники ферментемії, зменшуючи активність маркерних ферментів цитолізу - АсАТ і АлАТ, збільшував швидкість секреції жовчі більш ніж у 7,5 раза ( $P < 0,05$ ) та зберігав на високому рівні вміст жовчних кислот і холестерину, що може свідчити про високі антиоксидантні, цитопротекторні властивості фітозасобу та його відновлючий вплив на жовчоутворювальну та жовчовидільну функцію печінки в умовах патології.

Наявність у ГЕЯС мембранопротекторних властивостей підтверджується дослідженнями його впливу на перекисну резистентність еритроцитів у щурів. Встановлено, що поступове збільшення дози ГЕЯС з 25 мг/кг до 150 мг/кг супроводжувалось зменшенням гемолізу та зростанням мембранопротекторних властивостей цього фітозасобу. В зазначеній дозі ГЕЯС за мембранопротекторною дією перевершує аналогічний ефект

препаратів порівняння карсилу в дозі 100 мг/кг і пепонену в дозі 106 мг/кг.

Антимікробна дія ГЕЯС досліджувалась в умовах *in vitro* класичним методом «колодязів». Встановлено, що до ГЕЯС мають високу чутливість *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris* та *Escherichia coli*, діаметр зони затримки росту яких перевищував 25 мм. При цьому з боку *Proteus vulgaris* зона затримки росту склала  $(28,0 \pm 1,2)$  мм, що вказує на наявність у екстракту як антимікробної, так і протигрибкової дії.

Імунотропна активність ГЕЯС оцінювалась в діапазоні доз від 10 мкг/мл до 100 мкг/мл за впливом на трансформаційну і функціональну активність макрофагів периферичної крові в умовах *in vitro* при внесенні в інкубаційне середовище референтного штаму *Staphylococcus aureus-209P*. Встановлено, що ГЕЯС в умовах *in vitro* в діапазоні доз 10 - 100 мкг/мл проявляє пряму імуностимулюючу дію, підвищуючи в інкубаційному середовищі у 1,19 – 1,94 раза ( $P < 0,05$ ) трансформаційну і фагоцитарну активність (ФІ, ФЧ) макрофагів периферичної крові. Зі збільшенням дози ГЕЯС в інкубаційному середовищі стимулюючий ефект на функціональну активність макрофагів периферичної крові посилюється.

Отже, вивчення фармакодинаміки ГЕЯС дозволило встановити наявність у нього виразної протизапальної, анальгетичної, антиоксидантної, мембранопротекторної, гепатопротекторної, репаративної, ранозагоювальної, антимікробної та імуностимулюючої дії, що потенційно могло б забезпечити позитивну динаміку при лікуванні ХП. Це стало підставою для вивчення специфічної фармакологічної активності цього фітозасобу на моделях кріотравматичного і скипидарного простатиту, які традиційно використовують для виявлення у препаратів простатопротекторної дії.

Встановлено, що в умовах експериментального кріотравматичного простатиту у щурів ГЕЯС та фітозасоби порівняння трібестан в дозі 60 мг/кг, та пепонен в дозі 106 мг/кг проявляють протизапальну дію (зменшується лейкоцитоз, анемія, рівень С-реактивного білка в сироватці крові тварин).

При цьому фітокорекція, у першу чергу при застосуванні ГЕЯС і трібестану, суттєво пригнічує активацію окиснювальних процесів в ПЗ (зменшує вміст ТБК-активних продуктів), ефективно коригує баланс ПОЛ/АОС шляхом активації ферментної (активність СОД, каталази, глутатіонредуктази) і неферментної (вміст  $\alpha$ -токоферолу, відновленого глутатіону) складової САЗ, а також знижує концентрацію оксиду азоту в сироватці крові та пригнічує накопичення в вогнищі запалення продуктів перекисної модифікації білка.

Досліджувані фітозасоби в умовах простатиту сприяють відновленню масового коефіцієнту ПЗ і СП та запобігають зниженню андрогенної насиченості організму: зменшують активність простатоспецифічної КФ в сироватці крові з одночасним підвищенням її вмісту в тканинах ПЗ, стабілізують співвідношення КФ/ЛФ, сприяють збереженню вмісту фруктози в гомогенаті СП та рівня тестостерону в сироватці крові. Як наслідок, фармакотерапія суттєво покращує порушені в умовах кріотравми показники сперматогенезу: фітозасоби з різною ефективністю стимулюють пригнічену в умовах кріотравми ПЗ продукцію сперматозоїдів, збільшують тривалість рухливості та зменшують відносну кількість патологічних форм сперматозоїдів. ГЕЯС в дозі 150 мг/кг за виразністю лікувальної дії не поступається перед закордонним аналогом на основі ЛРС якірців сланких трібестаном в дозі 60 мг/кг, а за позитивним впливом на окремі показники сперматогенезу переважає фітозасіб порівняння пепонен, який в умовах експерименту виявив помірну простато- і гонадопротекторну дію.

На моделі хронічного «скипидарного» простатиту у щурів фітозасоби також зменшують виразність запального процесу, що підтверджується зниженням рівня лейкоцитозу, ШОЕ, вмісту С-реактивного білка, анемії, протеїнурії та відновленням показників добового діурезу. При цьому ГЕЯС і трібестан виявили найбільш виразні антиоксидантні властивості: в тканинах ПЗ та сироватці крові піддослідних тварин знижувався надмірний рівень ТБК-активних продуктів, стабілізувалась активність каталази, СОД,

глутатіонредуктази, відновлювався вміст в тканинах ПЗ відновленого глутатіону та  $\alpha$ -токоферолу, в сироватці крові знижувалась концентрація  $\text{Nox}$  та вміст продуктів білкового катаболізму АФГ і КФГ.

Фітозасоби в умовах 30-денного застосування стабілізували масу ПЗ у тварин та з різною ефективністю відновлювали показники андрогенного статусу. ГЕЯС сприяв радикальному зменшенню активності КФ в сироватці крові з одночасним її підвищенням в тканинах ПЗ, відновлював коефіцієнт КФ/ЛФ, збільшував вміст фруктози в СП у 2,56 раза ( $P < 0,05$ ) та рівень тестостерону - відповідно у 1,79 раза ( $P < 0,05$ ). При застосуванні пепонену також зменшувалась активність лужної фосфатази, дещо покращувалось співвідношення КФ/ЛФ, вміст фруктози в СП зростав на 71,1 % ( $P < 0,05$ ), а рівень тестостерону в сироватці крові збільшувався на 32,1 % ( $P < 0,05$ ). Проте за ефективністю корекції цих специфічних маркерів рівня андрогенізації та фертильності організму в умовах ХП пепонен поступався перед ГЕЯС і трібестаном. Більш висока ефективність ГЕЯС і трібестану стосувалась також корекції порушень репродуктивної функції щурів.

Однією з ключових ланок у патогенезі ХП є порушення гемодинаміки та мікроциркуляції в ПЗ. Тому для оцінки механізмів простатопротекторної дії фітозасобів досліджувався їхній вплив на функціональний стан ендотелію судин в умовах скипидарного простатиту у щурів. З цією метою досліджували зміни вмісту S-нітрозотіолів (S-NO) та ендотеліну-1, які, як відомо, є фізіологічними маркерами відповідно вазодилатації та вазоконстрикції, а також оцінювали зміни активності ендотеліальної та індукційної синтази оксиду азоту. Нами підтверджено, що одним з патогенетичних механізмів простатопротекторної дії ГЕЯС в умовах ХП є нормалізація функціонального стану ендотелію судин шляхом стабілізації вмісту S-NO та ендотеліну-1, відновлення природного співвідношення вазодилатаційно - вазоконстрикторного потенціалу, необхідного для нормального функціонування ПЗ, а також корекція дисбалансу активності маркерів ендотеліальної дисфункції - ендотеліальної і індукційної NO-синтази. Застосування ГЕЯС у 1,86 раза ( $P < 0,05$ ) зменшує рівень продукції ендотеліну-1 та відновлює до фізіологічного рівня вміст S-NO, активність



eNO-синтази і iNO-синтази в сироватці крові хворих тварин. Дещо меншим за виразністю лікувальної дії виявився ефект трібестану. Водночас ефективність пепонену за аналогічних умов була мінімальною: вміст S-NO, ендотеліну-1, а також активність eNO-синтази і iNO-синтази в крові у тварин, що лікувались цим фітозасобом, залишався на рівні, який свідчить про збереження дисбалансу між вазодилатацією та вазоконстрикцією, пошкодження ендотелію судин, а отже про нездатність цього фітозасобу повністю усунути ендотеліальну дисфункцію при ХП.

Для з'ясування участі імунних механізмів у забезпеченні лікувальної дії досліджуваних фітозасобів у тварин з хронічним скипидарним простатитом досліджували їхній вплив на проліферативну активність лімфоцитів периферичної крові, функціональну активність нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові в спонтанному та індукованому НСТ-тесті, а також на фоні лікування оцінювали відповідні зміни цитокінового профілю в сироватці крові. Встановлено, що в умовах хронічного скипидарного простатиту ГЕЯС виявляє імунопротекторні властивості, які реалізуються шляхом підвищення проліферативної активності лімфоцитів периферичної крові в тесті з Кон-А, відновлення функціональної активності нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові в НСТ-тесті і сприяння завершеності фагоцитозу, корекції в сироватці крові у тварин вмісту імуноглобулінів (Ig A, Ig M, Ig G) та стабілізації порушеного в умовах патології балансу прозапальних (ФНП- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) та протизапальних (IL-4, IL-10) цитокінів.

Враховуючи тривалий перебіг ХП особливо важливим є нешкідливість препарату. Результати дослідження токсичності виявили, що ГЕЯС при внутрішньошлунковому введенні відноситься до групи практично нешкідливих речовин, яка відповідає V класу токсичності, (ЛД<sub>50</sub>>5000 мг/кг) та не має токсичних ефектів при тривалому застосуванні. На фоні 60-90 добового уведення ГЕЯС в дозі 150 мг/кг відповідно на 10,7 % - 17,8 % (P<0,05) знижує рівень сечовини та на 30,5 % – 37,7 % (P<0,05) - вміст холестерину в сироватці крові, виявляючи гіпохолестеринемічні властивості.

Отже ГЕЯС володіє протизапальною, аналгетичною, антиоксидантною, гепатопротекторною, ранозагоювальною, репаративною, антимікробною, мембранопротекторною, ендотелійпротекторною та імунопротекторною дією і при внутрішньошлунковому уведенні в дозі 150 мг/кг на моделях кріотравми ПЗ та скипидарного простатиту у щурів коригує провідні патогенетичні механізми ХП. За лікувальною ефективністю при ХП він переважає фітозасоби порівняння трібестан в дозі 60 мг/кг і пепонен в дозі 106 мг/кг, не володіє токсичними властивостями при тривалому застосуванні, що обґрунтовує доцільність створення на його основі сучасного вітчизняного фітопростатопротектора.

**Ключові слова:** густий екстракт якірців сланких, фітопрепарати, фармакологічний скринінг, фармакотерапія хронічного простатиту, аналгетична дія, протизапальна дія, антиоксидантна дія, гепатопротекторна дія, гіполіпідемічна дія, репаративна дія, імунотропна дія, гонадопротекторна дія, простатопротекторна дія, гостра та хронічна токсичність.

## ANNOTATION

*Yunusova Saidabonu Ilhomjon Kyzy*. Pharmacological properties of the extract of the grass of the slanky grass in experimental prostatitis. – Qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for the Doctor of Philosophy degree from branch 22 "Health care" by specialty 226 "Pharmacy, industrial pharmacy". – Odesa National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Odesa, 2024.

The dissertation is devoted to the study of pharmacological properties and experimental substantiation of the expediency of using a thick extract of the slanky grass in experimental chronic prostatitis.

The thick extract was obtained by extraction with 50 % ethanol in the ratio of raw material: extractant 1:10 and its standardization was carried out according to the content of steroid and phenolic compounds. Screening studies to determine the most effective dose of the phytopreparation were carried out on models of carrageenan, zymosan, formalin edema in rats and acetic acid cramps in mice using doses of a thick extract of *Tribulus terrestris L.* - 50 mg/kg, 100 mg/kg, 150 mg/kg and 200 mg/kg.

In the model of acute exudative carrageenan inflammation in rats, a pronounced anti-inflammatory effect of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* was found, which increases in the dose range from 50 mg/kg to 150 mg/kg. A further increase in the dose to 200 mg/kg does not significantly increase the anti-inflammatory properties of this phytonutrient. The antiphlogistic activity of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* in doses from 100 mg/kg to 200 mg/kg was comparable to the similar effect of sodium diclofenac in a dose of 8.0 mg/kg, which indicates the high ability of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* in the indicated doses suppress the activity of cyclooxygenase primarily due to the negative effect on the release of early mediators of inflammation - biogenic amines, such as histamine and serotonin, and to a lesser extent, due to the

inhibition of the synthesis of pro-inflammatory prostaglandins at later stages of the experiment.

The ability of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* in doses from 50 to 200 mg/kg to inhibit zymosan inflammation was also established, which is maximally fixed at the initial stages (1 hour) after the introduction of this phlogogen, which indicates its ability to inhibit the lipoxygenase pathway of arachidonic acid metabolism. In terms of the expressiveness of this inhibitory effect in the first hour of inflammation, the thick extract of *Tribulus terrestris L.* is not inferior to the classic 5-lipoxygenase blocker corvitin at a dose of 10 mg/kg and prevails over the similar effect of diclofenac sodium at a dose of 8 mg/kg.

On the model of formalin inflammation, which reflects the destruction of membrane proteins, the thick extract of *Tribulus terrestris L.* in doses from 100 to 200 mg/kg showed significant anti-exudative and membrane-stabilizing activity, which in its expressiveness is actually not inferior to diclofenac sodium (8 mg/kg) and Corvitin (10 mg/kg) prevails.

In the model of acetic acid cramps in mice, the thick extract of *Tribulus terrestris L.* in the most effective dose of 150 mg/kg was slightly inferior to the corresponding effect of diclofenac sodium in terms of analgesic activity, but it was more than twice superior in terms of this criterion to the comparative phyto remedial peponene in a dose of 100 mg/kg, which indicates the peripheral mechanisms of its analgesic action.

Thus, it was confirmed that the thick extract of *Tribulus terrestris L.* in different doses - from 50 mg/kg to 200 mg/kg has pronounced anti-exudative properties, which are primarily related to their inhibitory effect on the release of biogenic amines, inhibition of lipoxygenase and reduction destruction of membrane proteins, as well as, to a lesser extent, inhibition of cyclooxygenase activity. An increase in the dose of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* in the range from 100 mg/kg to 200 mg/kg is not accompanied by a more significant increase in the anti-inflammatory activity of the phytosanitary agent, however, the most pronounced analgesic effect of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* on

the model of acetic acid cramps was recorded precisely at a dose of 150 mg/kg. Obviously, this dose was chosen for further research, as it provided the maximum anti-inflammatory and analgesic effect.

It was established that the thick extract of *Tribulus terrestris L.* at a dose of 150 mg/kg has an anti-alterative and wound-healing effect on planar aseptic skin wounds in rats. According to the expressiveness of the antialterative action, which was evaluated by the indicator of complete closure of the wound defect, the thick extract of *Tribulus terrestris L.* at a dose of 150 mg/kg prevails over the comparative drug Corvitin at a dose of 10 mg/kg by 1.5 times and halves the period of epithelization of the wound compared to untreated animals Diclofenac sodium does not have an antialtering effect and slows down the healing of a dermatome aseptic wound. At the same time, during the treatment of cut aseptic wounds, it was established that their healing was more complete in animals that received a thick extract of *Tribulus terrestris L.* in a dose of 150 mg/kg.

The study of the antiproliferative activity of phyto remedies on the model of cotton wool granuloma in rats revealed the ability of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* and corvitin to reduce, respectively, by 1,36 times ( $P < 0,05$ ) and 1,39 times ( $P < 0,05$ ) the formation of fibrous-granulation tissue, however, according to the specified criterion, these phyto remedies were inferior to diclofenac sodium at a dose of 8 mg/kg, which indicates the moderate nature of their antiproliferative effect.

Oxidative stress and inflammation are factors that are inextricably linked and are an integral part in the pathogenesis of prostatitis of various etiologies. It was established that the thick extract of *Tribulus terrestris L.* under in vitro conditions on the model of LPO inhibition in the yolk lipoprotein system reveals antioxidant properties, the expressiveness of which increases with an increase in the dose of phytosan. In equivalent doses (8  $\mu\text{g/ml}$ ), this phyto remediant is inferior to  $\alpha$ -tocopherol, in a dose of 15  $\mu\text{g/ml}$  the antioxidant activity of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* and  $\alpha$ -tocopherol (8  $\mu\text{g/ml}$ ) is comparable, and in a dose of 20  $\mu\text{g/ml}$  ml of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* has a stronger antioxidant

potential than that of  $\alpha$ -tocopherol by 1,51 times ( $P < 0,05$ ). This indicates that the thick extract of *Tribulus terrestris L.* has a direct dose-dependent antioxidant effect in vitro. The antioxidant properties of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* were also evaluated by inhibition in vitro of oxidative protein modification in the cytosolic fraction of the liver caused by Fenton's reagent. The thick extract of *Tribulus terrestris L.* showed a high ability to suppress the process of carbonylation of proteins under conditions of oxidative stress. At the same time, an increase in the concentration of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* from 5  $\mu\text{g/ml}$  to 10  $\mu\text{g/ml}$  and 20  $\mu\text{g/ml}$  in the medium is accompanied by a gradual increase in the ability to inhibit the formation of products of oxidative protein modification. The highest ability to reduce the total level of carbonyl derivatives under in vitro conditions was recorded in the dose of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* 20  $\mu\text{g/ml}$ : the level of aldehyde phenylhydrazones decreased by 39,5 % ( $P < 0,05$ ), ketone phenylhydrazones by 54,8 % ( $P < 0,05$ ). An increase in the dose of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* to 50  $\mu\text{g/ml}$  in the incubation medium is not accompanied by a further increase in its inhibitory effect on the formation of products of oxidative protein modification. This indicates an indirect dose dependence of the antioxidant effects of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* in relation to the oxidative modification of the protein in vitro.

The study of the antioxidant activity of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* in vivo in the model of toxic tetrachloromethane hepatitis showed that in rats treated with the thick extract of *Tribulus terrestris L.* the activity of superoxide dismutase exceeded the corresponding indicator of the untreated group by 1,90 times ( $P < 0,05$ ), catalase – by 1,66 times ( $P < 0,05$ ), glutathione reductase – by 1,89 times ( $P < 0,05$ ), the content of reduced glutathione – by 1,84 times ( $P < 0,05$ ), and the level of  $\alpha$ -tocopherol remained practically at the physiological level. The thick extract of *Tribulus terrestris L.* is more effective than the comparison drugs - karsil at a dose of 100 mg/kg and peponene at a dose of 106 mg/kg, stabilized enzyme parameters, reducing the activity of marker enzymes of cytolysis - AST and ALT, increased the rate of bile secretion more than in 7,5 times ( $P < 0,05$ ) and kept the

content of bile acids and cholesterol at a high level, which can testify to the high antioxidant, cytoprotective properties of the phytonutrient and its restorative effect on the bile-forming and biliary function of the liver in conditions of pathology.

The presence of a thick extract of *Tribulus terrestris L.* membrane-protective properties is confirmed by studies of its effect on the peroxide resistance of erythrocytes in rats. It was established that a gradual increase in the dose of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* from 25 mg/kg to 150 mg/kg was accompanied by a decrease in hemolysis and an increase in the membrane-protective properties of this phytonutrient. In the specified dose, the thick extract of *Tribulus terrestris L.* in terms of its membrane-protective effect surpasses the similar effect of comparative drugs karsil in a dose of 100 mg/kg and peponene in a dose of 106 mg/kg.

The antimicrobial action of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* was studied in vitro using the classic "well" method. It was established that *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, and *Esherichia coli* are highly sensitive to the thick extract of *Tribulus terrestris L.*, the diameter of which growth retardation zone exceeded 25 mm. At the same time, from the side of *Proteus vulgaris*, the zone of growth retardation was  $(28,0 \pm 1,2)$  mm, which indicates the presence of both antimicrobial and antifungal effects in the extract.

The immunotropic activity of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* was evaluated in the range of doses from 10 µg/ml to 100 mg/ml according to the effect on the transformation and functional activity of peripheral blood macrophages in vitro when introduced into the incubation medium of the reference strain *Staphylococcus aureus-209P*. It was found that the thick extract of *Tribulus terrestris L.* in vitro in the dose range of (10 – 100) µg/ml has a direct immunostimulating effect, increasing in the incubation medium by 1,19 – 1,94 times ( $P < 0,05$ ) the transformation and phagocytic activity (phagocytic index, phagocytic number) of peripheral blood macrophages. With an increase in the dose of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* in the incubation medium, the stimulating effect on the functional activity of peripheral blood macrophages

increases.

Therefore, the study of the pharmacodynamics of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* made it possible to establish that it has distinct anti-inflammatory, analgesic, antioxidant, membrane-protective, hepatoprotective, reparative, wound-healing, antimicrobial, and immunostimulating effects, which could potentially provide positive dynamics in the treatment of chronic prostatitis. This became the basis for studying the specific pharmacological activity of this phytopreparation on models of cryo-traumatic and turpentine prostatitis, which are traditionally used to detect prostatoprotective activity in drugs.

It was established that in the conditions of experimental cryo-traumatic prostatitis in rats, the thick extract of *Tribulus terrestris L.* and the comparison phyto remedies tribestan at a dose of 60 mg/kg and peponene at a dose of 106 mg/kg have an anti-inflammatory effect (leukocytosis, anemia, the level of C-reactive protein in animal blood serum). At the same time, phytocorrection, primarily when using a thick extract of *Tribulus terrestris L.* and tribestan, significantly suppresses the activation of oxidative processes in the prostate gland (reduces the content of products active to thiobarbituric acid), effectively corrects the balance of POL/AOS by activating enzymatic (activity of SOD, catalase, glutathione reductase) and non-enzymatic (content of  $\alpha$ -tocopherol, reduced glutathione) component of the antioxidant defense system, as well as reduces the concentration of NOx in the blood serum and inhibits the accumulation of products of protein peroxidation modification in the focus of inflammation.

The investigated phyto remedies in conditions of prostatitis contribute to the restoration of the mass coefficient of the prostate and seminal vesicles and prevent a decrease in androgen saturation of the body: they reduce the activity of prostate-specific acid phosphatase in blood serum with a simultaneous increase in its content in prostate tissues, stabilize the ratio of acid phosphatase/alkaline phosphatase, contribute to the preservation of the content fructose in seminal vesicle homogenate and serum testosterone levels. As a result, pharmacotherapy significantly improves the indicators of spermatogenesis disturbed in cryotrauma



conditions: phytotherapies with varying effectiveness stimulate the production of spermatozoa suppressed in cryotrauma conditions of the prostate, increase the duration of motility and reduce the relative number of pathological forms of spermatozoa. The thick extract of *Tribulus terrestris L.* in a dose of 150 mg/kg is not inferior to the foreign analogue based on the medicinal plant material of *Tribulus terrestris L.* tribestan in a dose of 60 mg/kg in terms of expressiveness of the therapeutic effect, and in terms of a positive effect on certain indicators of spermatogenesis, the comparison phytotherapeutic peponene prevails, which in experimental conditions showed a moderate prostate and gonadoprotective effect.

In the model of chronic "turpentine" prostatitis in rats, herbal remedies also reduce the severity of the inflammatory process, which is confirmed by a decrease in the level of leukocytosis, the rate of erythrocyte sedimentation, the content of C-reactive protein, anemia, proteinuria, and the restoration of daily diuresis. At the same time, the thick extract of *Tribulus terrestris L.* and tribestan revealed the most pronounced antioxidant properties: in the prostate tissues and blood serum of experimental animals, the excessive level of products active to thiobarbituric acid was reduced, the activity of catalase, SOD, glutathione reductase was stabilized, the content of reduced glutathione in the prostate tissues was restored  $\alpha$ -tocopherol, the concentration of NOx and the content of the products of protein catabolism of AFG and CFG decreased in blood serum.

Phytotherapies under conditions of 30-day use stabilized the mass of the prostate gland in animals and with varying efficiency restored indicators of androgenic status. The thick extract of *Tribulus terrestris L.* contributed to a radical decrease in the activity of acid phosphatase in blood serum with a simultaneous increase in it in prostate tissues, restored the ratio of acid phosphatase/alkaline phosphatase, increased the fructose content in seminal vesicles by 2,56 times ( $P < 0,05$ ) and testosterone level – 1,79 times, respectively ( $P < 0,05$ ). When using peponene, the activity of alkaline phosphatase also decreased, the ratio of acid phosphatase/alkaline phosphatase improved slightly, the fructose content in the seminal vesicles increased by 71,1 % ( $P < 0,05$ ), and the

level of testosterone in the blood serum increased by 32,1 % ( $P < 0,05$ ). However, peponene was inferior to the thick extract of *Tribulus terrestris L.* and tribestan in terms of the effectiveness of correcting these specific markers of the level of androgenization and body fertility in chronic prostatitis. The higher efficiency of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* and tribestan was also related to the correction of violations of the reproductive function of rats.

One of the key links in the pathogenesis of chronic prostatitis is a violation of hemodynamics and microcirculation in prostate tissues. Therefore, to evaluate the mechanisms of prostatoprotective action of phyto remedies, their influence on the functional state of the vascular endothelium in conditions of turpentine prostatitis in rats was studied. For this purpose, we investigated changes in the content of S-nitrosothiols (S-NO) and endothelin-1, which are known to be physiological markers of vasodilation and vasoconstriction, respectively, and also evaluated changes in the activity of endothelial and inducible nitric oxide synthase. We have confirmed that one of the pathogenetic mechanisms of the prostatoprotective action of the thick extract of *Tribulus terrestris L.* in prostatitis is the normalization of the functional state of the vascular endothelium by stabilizing the content of S-NO and endothelin-1, restoring the natural ratio of vasodilation-vasoconstriction potential, necessary for the normal functioning of the prostate gland, as well as correction of the imbalance in the activity of markers of endothelial dysfunction - endothelial and inducible NO-synthase. The use of a thick extract of *Tribulus terrestris L.* reduces the level of endothelin-1 production by 1,86 times ( $P < 0,05$ ) and restores the content of S-NO, the activity of eNO-synthase and iNO-synthase in the blood serum of sick animals to the physiological level. The effect of Tribestan turned out to be somewhat less pronounced in terms of therapeutic effect. At the same time, the effectiveness of peponene under similar conditions was minimal: the content of S-NO, endothelin-1, as well as the activity of eNO-synthase and iNO-synthase in the blood of animals treated with this herbal remedy remained at a level that indicates the maintenance of an imbalance between vasodilation and vasoconstriction, preservation of vascular endothelium damage,

and therefore the inability of this phyto remedial agent to completely eliminate endothelial dysfunction in chronic prostatitis.

In order to find out the participation of immune mechanisms in ensuring the therapeutic effect of the studied phyto remedies in animals with chronic turpentine prostatitis, their influence on the proliferative activity of peripheral blood lymphocytes, the functional activity of peripheral blood neutrophil granulocytes in the spontaneous and induced test with nitro blue tetrazolium, as well as against the background of treatment was studied the corresponding changes in the cytokine profile in blood serum were evaluated. It was established that in conditions of chronic turpentine prostatitis, a thick extract of *Tribulus terrestris L.* exhibits immunoprotective properties, which are realized by increasing the proliferative activity of peripheral blood lymphocytes in the test with concanavalin-A, restoring the functional activity of neutrophil granulocytes in the peripheral blood in the test with nitro blue tetrazolium, and promoting completion phagocytosis, correction of the immunoglobulin content (Ig A, Ig M, Ig G) in the blood serum of animals and stabilization of the balance of pro-inflammatory (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) and anti-inflammatory (IL-4, IL-10) cytokines disturbed in pathological conditions.

Taking into account the long course of chronic prostatitis, the harmlessness of the drug is especially important. The results of the toxicity study revealed that the thick extract of *Tribulus terrestris L.* when administered intragastrically belongs to the group of practically harmless substances that corresponds to the V class of toxicity (LD<sub>50</sub>>5000 mg/kg) and has no toxic effects with long-term use. Against the background of 60-90 daily administration, the thick extract of *Tribulus terrestris L.* in a dose of 150 mg/kg, respectively, reduces the level of urea by 10,7 % - 17,8 % (P<0,05) and by 30,5 % - 37,7 % (P<0,05) - cholesterol content in blood serum, showing hypocholesterolemic properties.

Therefore, the thick extract of *Tribulus terrestris L.* has anti-inflammatory, analgesic, antioxidant, hepatoprotective, wound-healing, reparative, antimicrobial, membrane-protective, endothelium-protective and immunoprotective effects, and when administered intragastrically at a dose of 150 mg/kg in models of cryotrauma

of the prostate gland and turpentine prostatitis in rats, corrects the conduction pathogenetic mechanisms of chronic prostatitis. In terms of its therapeutic effectiveness in chronic prostatitis, it is superior to comparable phyto remedies tribestan at a dose of 60 mg/kg and peponene at a dose of 106 mg/kg, it does not have toxic properties with long-term use, which justifies the feasibility of creating a modern domestic phytoprostatoprotector based on it.

**Key words:** thick extract of *Tribulus terrestris* L., herbal preparations, pharmacological screening, pharmacotherapy of chronic prostatitis, analgesic effect, anti-inflammatory effect, antioxidant effect, hepatoprotective effect, hypolipidemic effect, reparative effect, immunotropic effect, gonadoprotective effect, prostatoprotective effect, acute and chronic toxicity.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

1. Юнусова С.І., Рожковський Я.В. Протизапальна активність густого екстракту обмолоченої від плодів трави якірців сланких. *Сучасна клінічна фармакологія в фармакотерапії та профілактиці захворювань з позицій доказової медицини*: матеріали Х Всеукр.наук.-практ. конф. за участю міжн. спеціалістів з клінічної фармакології, 7-8 листопада 2019 р, Вінниця, 2019 р. С.249-251. (Особистий внесок здобувача- експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

2. Юнусова С.І. Дослідження протизапальної та знеболювальної активності густого екстракту якірців сланких в умовах експерименту. *Modern approach of experimental and preclinical pharmacology*: матеріали Міжнар. дист. науково-практ. конф, 08 лютого 2021 р, Харків, НФАУ,2021. С.218.

3. Юнусова С.І., Рожковський Я.В. Протизапальна активність густого екстракту якірців сланких на моделі формалінового набряку у щурів. *Клінічні протоколи та персоналізована медицина: як знайти золоту середину*: матеріали ХІ Всеукр.наук.-практ. конф. за участю міжн. спеціалістів з клінічної фармакології, 12-13 листопада 2021 р, Вінниця, 2021 р. С.236-238. (Особистий внесок здобувача- експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

4. Юнусова С. І., Рожковський Я.В., Приступа Б.В., Богату С.В. Простатопротекторна дія густого екстракту якірців сланких на моделі кріотравми передміхурової залози у щурів. *Фітотерапія. Часопис*.2022.№3.С.78-85. DOI: 10.33617/2522-9680-2022-3-78. (Особистий внесок здобувача- експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

5. Юнусова С. І. Вивчення антиальтеративної, репаративної та антипроліферативної дії густого екстракту якірців сланких в експерименті. *Фітотерапія. Часопис*.2022.№4.С.97-103. DOI:10.33617/2522-9680-2022-4-97.

6. Юнусова С.І., Рожковський Я.В. Антиоксидантні властивості густогоекстракту якірців сланких за умов *in vitro* та *in vivo*. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2023.Т.17,№2.С.115-124. DOI: 10.33250/17.02.115 (Особистий внесок здобувача- експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

7. Yunusova, S., Rozhkovskiy, Ya., Pristupa, B., Bohatu, S. (2023) Study of the anti-inflammatory properties of the thick extract of *Tribulus terrestris*. *Ceska Slov. Farm.* 2023 Fall; 72(4):184-189. English. doi: <https://doi.org/10.5817/CSF2023-4-184> PMID: 37805264. (Scopus). (Особистий внесок здобувача- експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

8. Юнусова С.І. Вплив густого екстракту якірців сланких на фізіологічний стан ендотелію судин у щурів з хронічним скипидарним простатитом. *Запорізький фармацевтичний форум*: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, 23 - 24 листопада 2023 р., Запоріжжя, 2023. С.151.

9. Юнусова С.І., Рожковський Я.В. Імунотропні властивості густого екстракту якірців сланких в умовах експериментального хронічного простатиту. *Фармацевтична освіта, наука та практика: стан, проблеми, перспективи розвитку*: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 25-річчю фармацевтичного факультету Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, 19-20 грудня 2023 р., Київ,2023. С.48-50. (Особистий внесок здобувача- експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

10. Юнусова Саидабону Ілхомжон кизи. Дослідження гострої і хронічної токсичності густого екстракту якірців сланких. *Ліки – людині*: матеріали VII міжнародної науково-практичної конференції на базі кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації Національного фармацевтичного університету, 21-22 березня 2024 р., Харків,2024.С.306-308.

11. Юнусова С.І., Рожковський Я.В. Вплив густого екстракту якірців сланких на андрогенний статус та репродуктивну функцію самців щурів при експериментальному кріогенному простатиті. *Сучасна фармація: реалії сьогодення та перспективи розвитку*: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, 9-12 квітня 2024 р., Одеса, 2024. С.165-168. (Особистий внесок здобувача- експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

12. Юнусова С.І., Приступа Б.В., Богату С.І., Рожковський Я.В. Імунопротекторна дія густого екстракту *Tribulus terrestris L.* у щурів на моделі хронічного скипидарного простатиту. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: матеріали VI Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, 12 квітня 2024 р., Харків, 2024. С.198-199. (Особистий внесок здобувача- експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

## З М І С Т

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНІ ТЕРМІНІВ .....	27
ВСТУП .....	29
РОЗДІЛ 1 МІСЦЕ ПРЕПАРАТІВ ПРИРОДНОГО ПОХОДЖЕННЯ В ЛІКУВАННІ ХРОНІЧНОГО ПРОСТАТИТУ (Огляд літератури) .....	36
1.1. Етіологія і патогенез простатиту .....	36
1.2. Сучасні простатопротектори у фармакотерапії хронічного простатиту .....	39
1.3. Фармакологічні властивості ЛРС та фітозасобів на основі <i>Tribulus terrestris L.</i> .....	47
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ .....	62
РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ СПЕКТРУ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ГЕЯС .....	85
3.1. Скринінгові дослідження протизапальної активності ГЕЯС на моделі карагенінового набряку .....	85
3.2. Дослідження протизапальної активності ГЕЯС на моделі зимозанового набряку .....	89
3.3. Дослідження протизапальної активності ГЕЯС на моделі формалінового набряку у щурів .....	93
3.4. Дослідження анальгетичної дії ГЕЯС на моделі оцтовокислих корчів у мишей .....	95
3.5. Вивчення антиальтеративної дії ГЕЯС на моделі асептичної дерматомної рани шкіри та репаративної дії на моделі лінійної різаної рани у щурів .....	98
3.6. Дослідження антипроліферативної дії ГЕЯС на моделі ватної гранульоми у щурів .....	102
3.7. Вивчення антиоксидантних властивостей ГЕЯС за умов Fe <sup>2+</sup> -індукованого ПОЛ у системі жовткових ліпопротеїдів .....	103



3.8. Вивчення антиоксидантної активності ГЕЯС на моделі токсичного тетрахлорметанового гепатиту у щурів.....	105
3.9. Вивчення антиоксидантних властивостей ГЕЯС в умовах <i>in vitro</i> за інгібуванням окисної модифікації білка.....	110
3.10. Дослідження мембранопротекторних властивостей ГЕЯС на моделі перекисного гемолізу еритроцитів .....	111
3.11. Вивчення антимікробної активності ГЕЯС в умовах <i>in vitro</i> .....	116
3.12. Вивчення імуотропної активності ГЕЯС в умовах <i>in vitro</i> .....	118
РОЗДІЛ 4 ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОСТАТОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ГЕЯС НА МОДЕЛІ КРІОТРАВМИ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ... ..	124
РОЗДІЛ 5 ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОСТАТОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ГЕЯС НА МОДЕЛІ ПРОСТАТИТУ, ВИКЛИКАНОГО УВЕДЕННЯМ СКИПИДАРУ .....	140
5.1. Вплив ГЕЯС і фітозасобів порівняння на зміни гематологічних показників та діурезу у щурів з хронічним скипидарним простатитом... .	141
5.2. Вплив ГЕЯС і фітозасобів порівняння на показники оксидантно-антиоксидантного балансу у щурів з хронічним скипидарним простатитом .....	144
5.3. Вплив ГЕЯС і фітозасобів порівняння на зміну маси ПЗ та показників андрогенного статусу у щурів з хронічним скипидарним простатитом .....	148
5.4. Вплив ГЕЯС і фітозасобів порівняння на зміни показників сперматогенезу у щурів з хронічним простатитом.....	152
5.5. Вплив ГЕЯС і фітозасобів порівняння на фізіологічний стан ендотелію судин у щурів з хронічним простатитом.....	153
5.6. Вплив ГЕЯС на показники імунологічної резистентності щурів в умовах хронічного скипидарного простатиту .....	160
5.6.1. Порівняльний вплив фітозасобів на проліферативну активність лімфоцитів периферичної крові у щурів з хронічним скипидарним простатитом.....	161

5.6.2. Порівняльний вплив фітозасобів на функціональну активність нейтрофільних гранулоцитів в НСТ-тесті щурів з хронічним скипидарним простатитом..... 163

5.6.3. Вплив ГЕЯС та фітозасобів порівняння на зміни показників гуморального імунітету та цитокінового профілю у щурів в умовах експериментального хронічного простатиту.....166

РОЗДІЛ 6 ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ І ХРОНІЧНОЇ ТОКСИЧНОСТІ  
ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ ЯКІРЦІВ СЛАНКИХ .....176

6.1. Гостра токсичність ГЕЯС..... 176

6.2. Вивчення хронічної токсичності ГЕЯС..... 180

РОЗДІЛ 7 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ  
ДОСЛІДЖЕННЯ ..... 191

ВИСНОВКИ.....216

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ..... 220

ДОДАТОК А СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА .....245

ДОДАТОК Б АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ.....248

ДОДАТОК В АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ.....250

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ ТЕРМІНІВ

- АОА – антиоксидантна активність  
АОС – антиоксидантна система  
АЛАТ - аланінамінотрансфераза  
АПА – антипроліферативна активність  
АсАТ - аспартатамінотрансфераза  
АФГ – альдегіддинітрофенілгідрозони  
БАР – біологічно активні речовини  
ГЕЯС – густий екстракт ягідців сланких  
ДЕЦ МОЗ України – Державний експертний центр МОЗ України  
ДК – диєнові кон'югати вищих жирних кислот  
eNO-синтаза - ендотеліальна синтаза оксиду азоту  
iNO-синтаза - індукційна синтаза оксиду азоту  
ІІ-1 $\beta$  - інтерлейкін-1 $\beta$   
ІІ-4 – інтерлейкін -4  
ІІ-10 – інтерлейкін -10  
Кон-А – конканавалін А  
КФ – кисла фосфатаза  
КФГ – кетондинітрофенілгідрозони  
5-ЛО - 5-ліпоксигеназа  
ЛР – лікарська рослина  
ЛРС – лікарська рослинна сировина  
ЛФ – лужна фосфатаза  
ПЗ – передміхурова залоза  
МДА – малоновий диальдегід  
МКСП - масовий коефіцієнт сім'яних пухирців  
НПЛЗ – нестероїдні протизапальні лікарські засоби  
НСТ-тест - тест редукції нітросинього тетразолія  
ОМБ – окисна модифікація білків

ПГЕ<sub>2</sub> – простагландин E<sub>2</sub>

ПМТМ - показник макрофагальної трансформації мононуклеарів

ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів

СОД – супероксиддисмутаза

СП – сім'яні пухирці

СРБ – С-реактивний білок

СХТБ - синдром хронічного тазового болю

ТБК-активні продукти – продукти, які реагують з 2-тіобарбітуровою

кислотою

Тс - тестостерон

ФІ - фагоцитарний індекс

ФНП- $\alpha$  – фактор некрозу пухлин- $\alpha$

ФЧ - фагоцитарне число

ХП – хронічний простатит

ЦІК – циркулюючі імунні комплекси

ЦОГ - циклооксигеназа

ШОЕ – швидкість осідання еритроцитів

Ig A - імуноглобулін А

IgM - імуноглобулін М

Ig G – імуноглобулін G

NO<sub>x</sub> - метаболіти оксиду азоту

Нв - гемоглобін

S-NO - S-нітрозотіоли

САЗ – система анти радикального захисту

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Одним з найпоширеніших захворювань чоловічої статевої сфери є хронічний простатит (ХП), який призводить не лише до розвитку еректильної дисфункції, але й безпліддя [1-4]. На сучасному фармацевтичному ринку України вибір вітчизняних препаратів для лікування ХП вкрай обмежений, що обумовлює актуальність розробки нових лікарських засобів. Найбільш перспективним напрямком у лікуванні ХП є застосування лікарської рослинної сировини (ЛРС) та фітозасобів, які містять БАР з широким спектром фармакологічної активності: протизапальна, антимікробна, репаративна, імуномодулююча, гормонорегулююча, антисклеротична тощо, і здатні забезпечити комплексний лікувальний вплив на перебіг ХП [5 - 9]. Такою лікарською рослиною (ЛР) є якірці сланкі (*Tribulus terrestris L.*), фітопрепарати з якої традиційно використовуються у лікуванні еректильної дисфункції та атеросклерозу [10, 11]. До складу ЛРС якірців сланких входять у значній кількості поліфенольні сполуки, фітостероли, стероїдні сапоніни, комплекс макро- і мікроелементів зпотенційними протизапальними, антиоксидантними та антимікробними властивостями [12-16]. Серед існуючих показань у фітозасобів, представлених на фармацевтичному ринку України, до складу яких входить сировина якірців сланких, головними є еректильна дисфункція, деякі ендокринні форми безпліддя, клімактеричний синдром, порушення жирового балансу.

На кафедрі загальної і клінічної фармакології та фармакогнозії Одеського національного медичного університету у науковому співробітництві з кафедрою фармакогнозії та нутриціології Національного фармацевтичного університету (м. Харків) отримано і стандартизовано «Густий екстракт обмолоченої від плодів трави якірців сланких» (ГЕЯС) та попередньо підтверджена його протизапальна активність [17-19]. Отже, виходячи з провідної ролі запалення та мікробної контамінації в патогенезі

ХП, а також з огляду на широкий спектр загально метаболічних ефектів фітозасобів на основі сировини якірців сланких, які добре узгоджуються з патогенезом ХП і могли б позитивним чином вплинути на його перебіг, було доцільно дослідити можливості застосування ГЕЯС в умовах ХП та визначити перспективи створення на його основі нового вітчизняного простатопротектора.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Результати досліджень, наведені в дисертаційній роботі, є фрагментом міжкафедральної науково-дослідної роботи кафедри загальної і клінічної фармакології та фармакогнозії і кафедри фармацевтичної хімії і технології ліків Одеського національного медичного університету “Створення та дослідження препаратів протизапальної і репаративної дії на основі регіональної природної сировини” (№ державної реєстрації 0111U010177).

**Мета і завдання дослідження.** Мета роботи - дослідити фармакологічні властивості та експериментально обґрунтувати доцільність застосування густого екстракту трави якірців сланких при експериментальному хронічному простатиті.

У відповідності до мети було визначено наступні задачі:

1. Провести скринінгові дослідження та визначити умовно ефективну дозу ГЕЯС за протизапальною дією на моделях карагенінового, зимозанового, формалінового набряків та за аналгетичною дією на моделі оцтовокислих корчів у щурів.

2. Дослідити антиальтеративну дію ГЕЯС на моделі асептичної дерматомної рани шкіри, репаративну дію на моделі лінійної різаної рани та антипроліферативну дію на моделі ватної гранульоми у щурів.

3. Визначити антиоксидантні властивості ГЕЯС за гальмуванням ПОЛ в модельній системі жовткових ліпопротеїдів та інгібуванням окисної модифікації білка в умовах *in vitro*, на моделі токсичного тетрахлорметанового гепатиту у щурів, а також встановити мембранопротекторні властивості ГЕЯС на моделі

перекисного гемолізу еритроцитів.

4. Вивчити антимікробну дію ГЕЯС та імунотропні властивості шляхом дослідження його впливу на функціональну активність макрофагів периферичної крові щурів в умовах *in vitro*.

5. Дослідити специфічну активність ГЕЯС та фітозасобів порівняння на моделях простатиту різної етіології та визначити можливі механізми його простатопротекторної дії.

6. Визначити гостру і хронічну токсичність ГЕЯС та обґрунтувати доцільність його клінічного застосування у якості неспецифічного простатопротектора при ХП різної етіології.

*Об'єкт дослідження:* розробка нового лікарського засобу для лікування хронічного простатиту.

*Предмет дослідження:* експериментальне обґрунтування ефективності фітозасобу ГЕЯС при хронічному простатиті.

*Методи дослідження:* фармакологічні, патофізіологічні, біохімічні, фізико-хімічні, токсикологічні, гематологічні, імунологічні, морфологічні, статистичні.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше на моделях карагінінового, зимозанового та формалінового набряку встановлена протизапальна дія ГЕЯС, яка реалізується переважно за рахунок пригнічення вивільнення біогенних амінів, активності ліпоксигенази, зменшення деструкції мембранних білків, і у меншій мірі – шляхом інгібування активності ЦОГ. Вперше встановлена аналгетична активність ГЕЯС, який в найбільш ефективній дозі 150 мг/кг перевершує за цим показником препарат порівняння пепонен в дозі 106 мг/кг.

Вперше встановлено, що ГЕЯС в дозі 150 мг/кг спричиняє антиальтеративну дію на площинні асептичні рани шкіри у щурів, скорочуючи удвічі термін епітелізації рани, ранозагоювальну дію на моделі лінійної різаної рани шкіри, та антипроліферативну дію на моделі ватної гранульоми.

Вперше виявлені антиоксидантні властивості ГЕЯС, які підтверджені прямим дозозалежним гальмуванням утворення продуктів ПОЛ та первинних (АФГ) і вторинних (КФГ) продуктів перекисного окиснення білків в умовах *in vitro*, а також ефективною корекцією зсувів оксидантно-антиоксидантного балансу, показників цитолізу та функціонального стану печінки в умовах гострого тетрахлорметанового гепатиту у щурів, за якою ГЕЯС перевершує препарати порівняння карсил в дозі 100 мг/кг і пепонен в дозі 106 мг/кг.

Вперше встановлена пряма імуностимулююча дія ГЕЯС в діапазоні доз 10 - 100 мкг/мл в умовах *in vitro* та його здатність стимулювати в інкубаційному середовищі у 1,19 – 1,94 раза трансформаційну і фагоцитарну активність макрофагів периферичної крові.

Вперше визначено умовно-терапевтичну дозу (150 мг/кг) і доведено лікувальну ефективність ГЕЯС на різних моделях експериментального простатиту, яка проявлялась в відновленні структури і функції ПЗ за рахунок протизапальної дії (зменшує лейкоцитоз, ШОЕ, вміст С-реактивного білка, анемію, протеїнурію), відновлює добовий діурез; за рахунок антиоксидантної дії (коригує надмірний рівень ТБК-активних продуктів, стабілізує активність каталази, СОД, глутатіонредуктази, відновлює вміст в тканинах ПЗ відновленого глутатіону та  $\alpha$ -токоферолу), а також найбільш радикально, порівняно з референс-препаратами, знижує вміст NOx та концентрацію в сироватці крові продуктів білкового катаболізму АФГ і КФГ.

Вперше показана здатність ГЕЯС відновлювати порушення показників андрогенного статусу організму (маса ПЗ, активність КФ, коефіцієнт КФ/ЛФ, вміст фруктози в СП, рівень тестостерону в сироватці крові) та коригувати порушення репродуктивної функції щурів при ХП.

Вперше встановлено нові оригінальні механізми простатопротекторної дії ГЕЯС, зокрема його здатність зменшувати прояви ендотеліальної дисфункції шляхом стабілізації вмісту S-NO, ендотеліну-1 та корекції дисбалансу активності маркерів ендотеліальної дисфункції - ендотеліальної і індукцибельної NO-синтази.



Вперше встановлені імунотекторні властивості ГЕЯС при ХП, що підтверджується підвищенням проліферативної активності лімфоцитів периферичної крові в тесті з Кон-А, відновленням функціональної активності нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові в НСТ-тесті і сприянням завершеності фагоцитозу, корекцією в сироватці крові у тварин вмісту імуноглобулінів (Ig A, Ig M, Ig G) та стабілізацією порушеного в умовах патології балансу прозапальних (ФНП- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) та протизапальних (IL-4, IL-10) цитокінів.

При вивченні токсичності ГЕЯС вперше показано його нешкідливість при гострому і хронічному експерименті, а також виявлені його гіпохолестеринемічні властивості.

**Практичне значення отриманих результатів.** Результати досліджень є експериментальним обґрунтуванням доцільності клінічного застосування ГЕЯС як лікарського засобу при хронічному простатиті і є фрагментом документації по доклінічному вивченню ГЕЯС, яка надається в ДЕЦ МОЗ України з метою отримання дозволу на клінічні випробовування. Проведені дослідження дозволяють розширити арсенал вітчизняних простатопротекторних засобів та створити реальну альтернативу існуючим на вітчизняному фармацевтичному ринку дорогим закордонним аналогам. Результати роботи також можуть розширити існуючі традиційні показання до застосування фітозасобів, які містять сировину *Tribulus terrestris L.* Зокрема встановлена виражена протизапальна, ранозагоювальна, гепатопротекторна, антиоксидантна, ендотелійпротекторна, гіпохолестеринемічна та імунотекторна дія ГЕЯС дозволяє рекомендувати його застосування при широкому колі захворювань, а також при хронічному простатиті, який ускладнюється іншою соматичною патологією. Створення на основі ГЕЯС нового вітчизняного простатопротектора та обґрунтування його уведення в існуючі схеми фармакотерапії ХП дозволить підвищити ефективність і

безпеку лікування, скоротити його терміни, а також покращити перебіг та віддалені наслідки цього захворювання.

Результати дисертаційної роботи впроваджено в науково-педагогічний процес кафедри фармакології Буковинського державного медичного

університету, кафедри фармакології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, кафедри фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, кафедри фармакології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, кафедри фармакології та фармакотерапії Національного фармацевтичного університету.

**Особистий внесок здобувача.** Автором самостійно розроблена дослідницька програма, проведено більшість фармакологічних, біохімічних та імунологічних досліджень. Самостійно проведено аналіз результатів, обґрунтування основних положень дисертаційної роботи, зроблені висновки, статистична обробка матеріалу, написання та оформлення дисертаційної роботи. Морфологічні дослідження проведені на базі лабораторії кафедри гістології, цитології, ембріології та патологічної морфології з курсом судової медицини ОНМедУ (завідувач д.мед.н., професор Ситнікова В.О.).

Наукові роботи опубліковані у співавторстві з професором Рожковським Я.В., доцентом Приступою Б.В., доцентом Богату С.І.

Співавторами наукових праць є науковий керівник та науковці, спільно з якими проведені дослідження. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок. Постановка мети та завдань, обговорення результатів проведені разом з науковим керівником.

**Апробація матеріалів дисертації.** Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня: X Всеукраїнська науково-практична конференція за участю міжнародних спеціалістів з клінічної фармакології *«Сучасна клінічна фармакологія в фармакотерапії та профілактиці захворювань з позицій доказової медицини»* (7-8 листопада 2019 р., м. Вінниця); XI Всеукраїнська науково-практична конференція за участю міжнародних спеціалістів з клінічної

фармакології «Клінічні протоколи та персоналізована медицина: як знайти золоту середину» (12-13 листопада 2021 р., м. Вінниця); Міжнародна дистанційна науково-практична конференція «*Modern approach of experimental and preclinical pharmacology*» (08 лютого 2021 р., м. Харків); Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «*Запорізький фармацевтичний форум*» (23 - 24 листопада 2023 р., м. Запоріжжя); Науково-практична конференція з міжнародною участю «*Фармацевтична освіта, наука та практика: стан, проблеми, перспективи розвитку*», присвячена 25-річчю фармацевтичного факультету Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (19-20 грудня 2023 року, м. Київ); VII міжнародна науково-практична конференція «*Ліки – людині*» на базі кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації Національного фармацевтичного університету (21-22 березня 2024 р., м. Харків); Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «*Сучасна фармація: реалії сьогодення та перспективи розвитку*» (9-12 квітня 2024 р., м. Одеса). VI Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «*Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження,*» (12 квітня 2024 р., м. Харків).

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 250 сторінках комп'ютерного тексту та складається з анотації, списку друкованих праць, вступу, 6 розділів, розділу, присвяченого аналізу та узагальненню експериментальних даних, висновків, списку використаних джерел, що містить посилання на 206 джерел (46 – кирилицею, 160 – латиницею) та додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 239 сторінок друкованого тексту. Дисертація ілюстрована 45 таблицями та 21 рисунком.

## РОЗДІЛ 1

### МІСЦЕ ПРЕПАРАТІВ ПРИРОДНОГО ПОХОДЖЕННЯ В ЛІКУВАННІ ХРОНІЧНОГО ПРОСТАТИТУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

#### 1.1. Етіологія і патогенез простатиту

Захворювання ПЗ мають високу питому вагу в структурі урологічної патології сьогодення і характеризуються постійним зростанням соціальної значимості [20-24]. ХП є третім за поширенням захворюванням ПЗ після раку та доброякісної гіперплазії, складає більше 20 % серед всієї андрологічної патології і класифікується відповідно до сучасних критеріїв (табл.1.1).

Таблиця 1.1.

#### Класифікація Американського Національного Інституту Здоров'я [25, 26]

NIH класифікація	Визначення
I: Гострий бактеріальний простатит	Гостра інфекція передміхурової залози
II: Хронічний бактеріальний простатит	Хронічна або рецидивуюча інфекція простати
III: Хронічний простатит/синдром хронічного тазового болю (ХП/СХТБ)	Інфекція не продемонстрована
IIIa: СХТБ з запаленням	Лейкоцити в спермі та /або в секреті ПЗ
IIIb: СХТБ без запалення	Відсутність Лейкоцитів в спермі та /або в секреті ПЗ
IV: Безсимптомний запальний простатит	Суб'єктивних симптомів не виявлено. Запалення підтверджено або біопсією простати, або наявністю лейкоцитів в спермі та /або в секреті простати

Вважають, що основними механізмами виникнення простатиту є інфекційний, гемодинамічний, абактеріальний та автоімунний [22, 23]. Згідно з існуючою класифікацією перші дві категорії - відповідно гострий і хронічний бактеріальний простатит в своїй основі мають інфекційне походження. Збудниками найчастіше виступають грамнегативні мікроорганізми насамперед *Escherichia coli* (80-90 % випадків), *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* [2, 4, 26, 27, 28]. Участь грампозитивних мікробів в патогенезі бактеріального ХП не є такою однозначно доведеною, оскільки більшість з них, як правило, є представниками уретральної мікрофлори. Прийнято розрізняти наступні шляхи проникнення мікроорганізмів у ПЗ: гематогенний, лімфогенний і уретральний. При цьому більшість авторів вважає уретральний шлях головним у проникненні інфекції [1, 29, 30].

При цьому в структурі захворюваності за даними літератури: 5-10 % становить гострий бактеріальний простатит, 6-10 % - хронічний бактеріальний простатит, і майже 90 % всіх випадків - хронічний абактеріальний простатит [23]. Слід зазначити, що гострий простатит без лікування завжди призводить до виникнення ХП, який характеризується тривалим перебігом із чергуванням рецидивів і ремісії.

Хронічний простатит / синдром хронічного тазового болю (ХП/СХТБ) – одне з найчастіших захворювань у чоловіків. Його частота складає від 13,2 % до 35 %, а в піковий період у чоловіків до 50 років сягає 62,5 % [23, 24]. При цьому кількість пацієнтів з цим захворюванням продовжує невпинно зростати, що пов'язують зі зниженням імунорезистентності та адаптованості організму до негативного впливу агресивних факторів зовнішнього середовища, стресом, хворобами, що передаються статевим шляхом, безконтрольним самолікуванням тощо [2, 4, 20, 31, 32, 33]. Окрім того, виникненню ХП сприяють порушення ритму сексуального життя, травми, переохолодження, розлади крово- і лімфообігу з застійними явищами в органах малого тазу, гормональні зміни, зокрема абсолютна або відносна

андрогенна недостатність [2, 3, 20, 23]. Найбільш значущими етіологічними факторами у розвитку ХП/СХТБ є порушення мікроциркуляції і конгестивні процеси в ацинусах ПЗ, які супроводжуються змінами біохімічних та бактерицидних властивостей секрету ПЗ, автоімунними реакціями, зниженням бар'єрної функції простати, що сприяє проникненню інфекції та посиленню запального процесу. Деякі автори вважають порушення гемодинаміки головним чинником в ініціації ХП, оскільки він завжди присутній разом з іншими етіологічними факторами (переохолодження, травма, інфекція тощо) [34, 35].

Є обгрунтовані дані, що однією з причин розвитку ХП/СХТБ може бути венозний стаз в ПЗ, який розвивається на фоні венозної недостатності у хворих з малорухомим способом життя, з хронічною інфекцією сечових шляхів, запаленням гемороїдальних вен тощо [21-24].

Окрім того, етіологічними чинниками хронічного неінфекційного простатиту можуть бути розлади імунологічної резистентності, гормональні порушення, алергічні захворювання, механічне здавлювання тканин ПЗ [3, 24, 31, 33].

Важлива роль в етіології ХП належить віковим та патологічним гормональним змінам організму, які викликають анатомічні і функціональні зміни тканини простати, порушують кровообіг та знижують її бар'єрну функцію. Внаслідок андрогенно-естрогенного дисбалансу погіршуються якісні і кількісні показники сперми, а отже й репродуктивна функція в цілому [36, 37, 38]. Також встановлений зв'язок можливих патологічних змін ПЗ з порушенням функції гіпофізу. Зокрема суттєве зниження функції гіпофізу викликає дегенеративні зміни в ПЗ, що пов'язано з пригніченням синтезу андрогенів [39, 40].

Підтверджено, що патоспермія при ХП може бути пов'язана зі зміною біохімічного складу секрету ПЗ, наявністю в ньому бактерій, прозапальних цитокінів, розвитком оксидативного стресу та появою антиспермальних антитіл, а також зниженням вмісту в секреті білків [5, 33, 41, 42, 43].

Патогенетичне значення в ініціації та перебігу ХП мають імунологічні зрушення. Зокрема у хворих на ХП в крові підвищується концентрація прозапальних цитокінів (ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-10, ФНП- $\alpha$ ), що підтверджує участь запального процесу в патогенезі цього захворювання [31, 32, 44, 45, 46].

Також підтверджено значення порушення балансу ПОЛ/АОС у механізмах запалення ПЗ та розвитку безпліддя, враховуючи підвищену чутливість сперматозоїдів до дії вільних радикалів [47, 48, 49, 50].

Отже, головними етіологічними чинниками розвитку ХП є гемодинамічні порушення в ПЗ як наслідок травми, переохолодження, гіподинамії, дизритмії статевого життя, супутньої патології передусім венозної системи, а також вікові та патологічні зсуви імунологічної резистентності та гормонального балансу в організмі. Також у поєднанні з вказаними факторами істотне патогенетичне значення може мати інфекція.

## **1.2. Сучасні простатопротектори у фармакотерапії хронічного простатиту**

Складність фармакотерапії ХП визначається різноманіттям етіологічних факторів, що викликають патологічні зміни з боку простати і органів, інтегрованих з нею спільною системою інервації і кровопостачання. Незважаючи на існування різних схем фармакотерапії, у тому числі із комбінованим застосуванням препаратів різних фармакологічних груп, її ефективність не перевищує 60 %, а після лікування можливе виникнення рецидивів та ускладнень, що пов'язано зі складним багатofакторним етіопатогенезом ХП [5, 26, 30, 51]. Тому фармакотерапія ХП повинна бути комплексною і передбачати вплив на різні ланки етіології і патогенезу цього захворювання.

Гострий бактеріальний простатит лікується за допомогою антибіотиків, знеболювальних засобів та нестероїдних протизапальних препаратів [5, 26,

30, 52]. Однак широке і необґрунтоване призначення антибіотиків призвело до поширення нечутливих до них госпітальних штамів мікроорганізмів. У більшості випадків інфекційний збудник взагалі неможливо визначити, тому зростає роль профілактики загострень, призначення в лікувальних схемах небактеріостатичних засобів. Хворі на ПХ/СХТБ передусім скаржаться на наявність симптомів нижніх сечових шляхів: часте сечовипускання, неприємні відчуття в паху та сечовому каналі. Вважається, що дизурія пов'язана зі збільшенням ПЗ внаслідок венозного застою, тиску збільшеної ПЗ на шийку сечового міхура, стискання простатичної частини сечового міхура та нестабільністю детрузора [20, 21, 24, 53].

Комплексне лікування ХП/СХТБ передбачає обов'язкове включення до існуючих схем лікування простатопротекторів, які складають основу сучасних патогенетично обґрунтованих схем адекватної фармакологічної корекції порушень структурно-функціонального стану ПЗ [54, 55].

*Простатопротектори* - це лікарські засоби, які спричиняють комплексний вплив на ПЗ: здійснюють протизапальний, антиоксидантний, капіляропротекторний, протиішемічний, антипроліферативний, антиканцерогенний ефект, відновлюють імунні і гормональні взаємовідносини та стромально-судинну мікроциркуляцію в тканинах простати, покращуючи в умовах ХП її функціональний стан. Наразі фармацевтичний ринок України широко представлений як вітчизняними, так закордонними простатопротекторними засобами, які широко застосовують при лікуванні різних простатопатій – простатиту, простатодинії, гіперпластичних процесів. Згідно класифікації С. М. Дроговоз, всі простатопротектори за механізмом дії, хімічною структурою і джерелами отримання основних діючих речовин представлені наступними групами [56]:

1. *Інгібітори тестостерон-5 $\alpha$ -редуктази* представлені препаратами синтетичного (Фінастерид, Дурастерид) і рослинного (Перміксон) походження. Вони застосовуються в терапії аденоми простати 1-2-ї стадії. Синтетичні засоби інгібують I тип (в печінці і шкірі) і II тип 5 $\alpha$ -редуктази (в



репродуктивних тканинах) і порушують перетворення тестостерону в більш активний дигідротестостерон та викликають редукцію гіперплазії залозистого епітелію ацинусів і стромы шляхом індукції протеаз-індукованого апоптозу, що зменшує об'єм ПЗ. Ці засоби використовують коли кількість залишкової сечі у пацієнтів не перевищує 150 мл, а також з метою зниження ризику гострої затримки сечі. Вони не зв'язуються з андрогенними рецепторами, тому не мають характерних побічних ефектів андрогенів [57, 58].

Водночас у фітозасобу Перміксон, розробленого на основі ЛРС *Serenoa repens*, окрім специфічного впливу на I і II тип *5 $\alpha$ -редуктази*, присутні й інші механізми простатотропної дії [59-61]. Він володіє протизапальною активністю за рахунок блокади фосфоліпази A<sub>2</sub> та гальмування синтезу простагландинів, протинабряковою за рахунок капіляропротекції, антипроліферативною – за рахунок зниження активності ростових факторів та прискорення процесів апоптозу. Проте слід зазначити, що всі інгібітори тестостерон-*5 $\alpha$ -редуктази* можуть в умовах тривалого застосування викликати еректильну дисфункцію.

2. *Антагоністи  $\alpha_1$ -адренорецепторів* – синтетичні препарати, які блокують  $\alpha_1$ -адренорецептори (підтипи  $\alpha_{1A}$ ;  $\alpha_{1B}$ ;  $\alpha_{1D}$ ;  $\alpha_{1L}$ ), нормалізують тонус сечового міхура, усувають гіпертонус гладких м'язів стромы і капсули ПЗ та простатичної частини уретри, покращують біоенергетику детрузора стінки сечового міхура, що сприяє нормалізації сечовиділення.  $\alpha_1$ -адреноблокатори сприяють більш ефективному та надійному лікуванню хронічного простатиту, за умов тривалого застосування значно збільшують період ремісії. Проте виразні побічні ефекти неселективних  *$\alpha_{1,2}$ -адреноблокаторів* обмежують їх використання в урології. Більш поширеними у застосуванні є селективні  *$\alpha_1$ -адреноблокатори* (Празозин, Індорамін, Альфузозин, Теразозин, Доксазозин). Найбільш ефективним щодо корекції дизуричних порушень, зручним у використанні та безпечним з точки зору побічних ефектів є простатоселективний  *$\alpha_{1A,D}$ -адренорецептор* Тамсулозин. Цей

препарат у 13 разів більш селективний до рецепторів у простаті, ніж до рецепторів судин та позапростатичних тканин. Ці засоби, на відміну від інгібіторів тестостерон-5 $\alpha$ -редуктази, не впливають на статеву функцію, спричиняють антигіпертензивну дію та покращують ліпідний спектр крові [62 - 65].

3. *Препарати з гормональною та антигормональною активністю.* До цієї групи належать простатопротектори, які застосовують при доброякісній гіперплазії ПЗ. Відомо, що гіперплазія ПЗ розвивається у літніх чоловіків при естрогенізації організму і зниженні секреції тестостерону. Тестостеронзамісна терапія має обмежені можливості у зв'язку з небезпекою малігнізації. Серед естрогенів за клінічної необхідності обмежено використовують Естрадіол та прогестагени (Гестонорону капроат, Мегестрол), однак ці препарати суттєво порушують статеву функцію [66].

Водночас антигормональна терапія дозволяє пригнічувати проліферативні процеси в ПЗ: блокує синтез тестостерону статевими залозами на рівні гіпоталамус-гіпофіз (Гозереліну ацетат, Бусереліну ацетат, Естрадіол, Гестенорону капроат), блокує рецептори андрогенів в простаті (нестероїдні антиандрогени – Флутамід, Бікалутамід; стероїдні антиандрогени – Ципротерону ацетат, Мегестрол). Проте суттєві побічні ефекти (імпотенція, гінекомастія, гепатотоксичність, гемолітична анемія, вегетативні розлади) та висока вартість обмежують їх застосування [67 - 70].

4. *Фітопростатопротектори* – це препарати, створені на основі ЛРС. Їх вирізняє висока ефективність, безпечність, багатопланова фармакодинаміка, добра переносимість, економічна доступність, можливість тривалого амбулаторного лікування. Для лікування ХП/СХТБ використовують рослини, які мають протизапальну, антисептичну, десенсибілізуючу, болезаспокійливу, імуномодулюючу дію, та здатні позитивно впливати на гемостаз і мікроциркуляцію в тканинах ПЗ, усувати дизуричні прояви та нормалізувати обмін речовин.

Серед найбільш поширених фітозасобів цієї групи:

- препарати на основі сагової карликової пальми (*Serenoa repens*), яка містить 45 % жирних кислот (лауринова, міристинова, олеїнова, пальмітинова, стеаринова, лінолева) і фітостероли ( $\beta$ -ситостерол, кампестерол, стигмастерол). Перміксон, Серпенс, Простаплант, Простамол Уно) - є лідерами серед рослинних засобів, що пригнічують розвиток набряку, запалення та зменшують розміри передміхурової залози [55, 56, 71];

- африканської сливи (*Pugcum africanum*) – Таденан, Тріанол - містить низку біологічно активних речовин (фітостероли, пентациклічні тритерпени, п-докозанол та тетракозанол), які мають протизапальні та протинабрякові властивості завдяки пригніченню продукції простагландину, зниженню рівня пролактину в передміхуровій залозі. Ці засоби попереджають розвиток фіброзу в тканині ПЗ, проявляють значну антипроліферативну дію на фібробласти (блокують основний фактор росту фібробластів (b-FGF) та перешкоджають утворенню рубцевої тканини в залозі [72];

- гарбуза звичайного (*Cucurbita pepo*) – Тиквеол, Пепонен, Простамед - містить аміносполуку кукурбітин, стерини, фосфоліпіди, каротиноїди та жирні олії, які мають протизапальні, відновлювальні, антиоксидантні, імуномодулюючі, регенеративні та антипаразитарні властивості. Ці препарати зменшують об'єм передміхурової залози шляхом протизапального та антиандрогенного ефектів, знижують активність детрузора. Насіння гарбуза також є потужним джерелом цинку, який відіграє важливу роль у функціонуванні сечостатевої системи у чоловіків, сприяє підсиленню статевої функції та нормалізації функціонального стану передміхурової залози при простатиті та аденомі [73];

- бруньок чорної тополі (*Populus nigra*) – Аденол форте [55];

- кореня кропиви двудомної (*Urtica dioica*) – Уртірон, Уртіка-Плюс, Простафіт. Містять комплекс біологічно активних сполук, серед яких вітаміни (К, С, В2, В3, каротиноїди), хлорофіл, дубильні речовини, органічні кислоти, флавоноїди, макро- та мікроелементи (Si, Fe, Ca, Cu, K, Mn, B, Ni). Він сприяє підвищенню рівня гемоглобіну, зниженню рівня глюкози в крові,

нормалізації ліпідного обміну та підвищенню загального тонуусу організму. Екстракт кореня кропиви дводомної сприяє зменшенню набряку і перешкоджає процесу збільшення передміхурової залози [74];

- нетреби звичайної (*Xanthium strumarium*) – Аденостоп [55];

- листя тополі тремтячої (*Populus tremula*) і золотушника звичайного (*Solidago virgaurea*) – Простамед [75];

- квіткового пилку (*Pollen*) – Цернілтон - це суміш сухого та діалізованого екстрактів квіткового пилку, містить амінокислоти, ензими, вітаміни, комплекс макро- та мікроелементів і проявляє загальностимулюючу дію, підвищує опірність організму до інфекцій у тому числі органів сечостатевої системи. Використовують як при хронічному, так і гострому перебігу простатиту як доповнення до терапії антибіотиками [76];

- кореневища рослини африканської картоплі (*Huroxis gooperi*) – Харзол. Екстракт, отриманий з бульби африканської картоплі, має основну біоактивну сполуку гіпоксозид, аглікон та рооперол та дає найбільш вагомі докази ефективності та безпеки у нормалізації функціонального стану при ДГПЗ [77].

- комбіновані фітозасоби – Простафіт, Простамол, Простагут, Простамед.

Ці засоби блокують тестостерон-5 $\alpha$ -редуктазу та ароматазу, а також спричиняють протизапальну, антиоксидантну, адаптогенну, гормонорегулюючу дію, покращують функцію детрузора сечового міхура, спричиняють цитотастичну дію на клітини ПЗ, що обґрунтовує раціональність їхнього профілактичного застосування, а великий перелік цих засобів дозволяє індивідуалізувати фірмакотерапію [55, 56, 78].

5. *Простатопротектори тваринного походження (тканинні органопротектори)*. Це препарати активним компонентом яких є екстракт з тканини ПЗ великої рогатої худоби. Найвідомішим вітчизняним препаратом цієї групи є Простатилен – комплекс водорозчинних пептидних біорегуляторів класу цитомедінів з відсутніми антигенними властивостями,

який використовують при ХП, гіперплазії та після оперативного втручання як шляхом парентерального уведення, так і у вигляді супозиторіїв. Цей засіб зменшує набряк, лейкоцитарну інфільтрацію ПЗ і сечового міхура, покращує мікроциркуляцію та спричиняє протизапальну дію. Вдосконалена форма Простатилену – Простатилен–Цинк, містить додатково вітамін Е і мікроелемент Zn та стимулює сперматогенез. До цієї групи також слід віднести Раверон, Простакор, Вітапрост, Уропрост, Сампрост та інші. Ці засоби використовують як базові при комбінованому та комплексному лікуванні хворих на ХП/СХТБ [55, 79, 80].

Феполен – ефективний простатопротекторний засіб, з виразною протизапальною дією, створений на кафедрі аптечної технології ліків НФАУ під керівництвом професора А. І. Тихонова. Цей препарат є комплексом фенольного гідрофобного препарату прополісу та обніжжя медоносної бджоли [81]. Діючими речовинами феполену є поліфенольні сполуки – флавоноли, флавоноли, оксикумарини, фенолкарбонові кислоти (81,33 % від усієї маси фенольної гідрофобної фракції прополісу це флаванолі – кверцетин, кемпферол, флаванолі – апігенін, лютеолін, робіданол. Обніжжя бджоли є складним концентратом багатьох БАР – білки і вільні амінокислоти, фосфоліпіди, повний спектр всіх вітамінів, макро- та мікроелементи, а також фенольні сполуки та фітогормони [82].

б. *Фітогомеопатичні простатопротектори* – це комбінації діючих речовин рослинного походження з деякими неорганічними сполуками. Виготовлення цих фітозасобів здійснюється по гомеопатичній технології, вони застосовуються у вкрай низькій дозі та мають мінімальну кількість побічних ефектів. Різноманітний склад препаратів цієї групи дозволяє максимально індивідуалізувати фармакотерапію. Зокрема використання Гентосу, Адамексу більш показане при аденомі ПЗ, при супутньому хронічному простатиті – Сабаль-гомаккорд, Андровіт, Простатен, при сексуальних розладах – Потенцін, Едас-132 [56, 83, 84].

7. *Простатопротектори інших груп.* Амідне похідне нікотинової та  $\gamma$ -аміномасляної кислоти Пікамілон – ноотропний засіб, що посилює дію  $\alpha_1$ -адреноблокаторів та зменшує гіпоксію детрузора [85].

Полієновий антибіотик Мепартрицин зменшує рівень холестеролу, андрогенів та естрогенів в ацинусах ПЗ за рахунок незворотного зв'язування стерольних фракцій кишечника, спричиняє протигрибкову та антипротозойну дію та використовується при функціональній дизурії [5].

Дієтичні добавки – парафармацевтичні засоби з простатотропною активністю, які містять вітаміни (А,С,Е); рослинні олії (горіх, гарбуз, амарант, мак, шипшина, календула); мікроелементи (цинк, селен, магній), комплекси амінокислот [83].

Отже, представлені групи простатопротекторів впливають на основні патогенетичні механізми захворювань ПЗ: це дисгормональні порушення, активність адренорецепторів, запальний та аутоімунний компоненти, фактори росту, гіпоксія детрузора, вільно-радикальне окиснення, порушення імунологічної резистентності тощо, що обґрунтовує більш широке застосування простатопротекторів та індивідуальний підхід до фармакотерапії цими засобами в урологічній та андрологічній практиці.

Враховуючи велике різноманіття патогенетичних механізмів розвитку ХП/СХТБ, в комплексному лікуванні цієї патології можуть бути задіяні й інші препарати. Зокрема при порушенні імунологічної резистентності та патологічних зсувах в імунограмі застосовуються різні види імунотерапії: засоби, що стимулюють гуморальний і клітинний імунітет: препарати тимусу (тималін, тактивін), інтерферони (віферон), індуктори ендогенного інтерферону (аміксин), синтетичні препарати (імунофан, поліоксидоній). При порушеннях мікроциркуляції і гемокоагуляції призначають коректори гемодинамічних розладів – антикоагулянти, дезагреганти [5, 20, 24, 26, 30, 52, 86].

Разом з тим, незважаючи на широкий комплекс заходів немедикаментозної корекції (дієта, фізіопроцедури, масаж, рефлексотерапія тощо) у комплексі з арсеналом сучасних простатопротекторних препаратів,

ефективність лікування небактерійного ХП/СХТБ залишається низькою [1, 2, 20, 87, 88]. При цьому тривале медикаментозне лікування цієї хвороби може призводити до алергізації хворих чи розвитку медикаментозної хвороби. Це диктує необхідність пошуку нових методів та препаратів з широким спектром фармакологічної дії, здатних впливати на більшість патогенетичних механізмів цього захворювання, ефективних і водночас нешкідливих при тривалому застосуванні.

У цьому плані привертають увагу фітозасоби, створені на основі ЛРС якірців сланких (*Tribulus terrestris L.*), які традиційно використовуються у лікуванні еректильної дисфункції та атеросклерозу [10-13, 16, 55]. До складу ЛРС якірців сланких входять у значній кількості поліфенольні сполуки, фітостероли, стероїдні сапоніни, комплекс макро- і мікроелементів з потенційними протизапальними, антиоксидантними та антимікробними властивостями [14-19]. Разом з тим, не зважаючи на широкий спектр загально метаболічних ефектів фітозасобів на основі сировини якірців сланких, які цілком узгоджуються з патогенезом ХП/СХТБ, їх простатопротекторні властивості потребують свого підтвердження.

### **1.3. Фармакологічні властивості ЛРС та фітозасобів на основі *Tribulusterrestris L.***

*Tribulus terrestris L.* – однорічна рослина родини Zygophyllaceae, широко поширена по всьому світу у сухому кліматі. Рослина росте в теплих регіонах південної Європи, південної Азії, Африці, Австралії, країнах південної Америки, Індії, Китаї, а також в напівпустелях та степах України, по узбережжю Середземного, Чорного і Азовського морів, в Криму, в Молдові, на Кавказі та в Середній Азії. Це звичайний бур'ян, який засмічує посіви, але може вирощуватись в культурі [10, 11].

*Tribulus terrestris L.* - це невеликий, до 10-60 см заввишки, ворсистий

кущ. Листки супротивні, парноперисті, перисті, від 5 до 8 пар, еліптичні або довгасто-ланцетні. Плоди з п'яти мерикарпіїв мають сокироподібну форму, довжину 3–6 мм, розташовані радіально, мають діаметр 7–12 мм і тверду структуру. Корінь тонкий, волокнистий, циліндричний і часто розгалужений, має низку маленьких корінців і світло-коричневого кольору [13, 19, 89]

В ЛРС якірців сланких ідентифіковано різні групи БАР, зокрема стероїдні сапоніни, флавоноїди, глікозиди, фітостероли, дубильні речовини, терпеноїди, похідні амідів, амінокислоти та білки. При цьому найважливішими метаболітами, які визначають фармакологічну активність *Tribulus terrestris L.*; вважаються стероїдні сапоніни та флавоноїди [10, 19].

Серед виділених на сьогодні з цієї рослини 108 стероїдних сапонінів – 58 належить до сапонінів спіростанового типу (А) і 50 – до сапонінів фуростанового типу (Б).

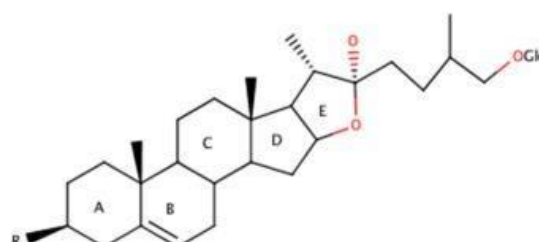
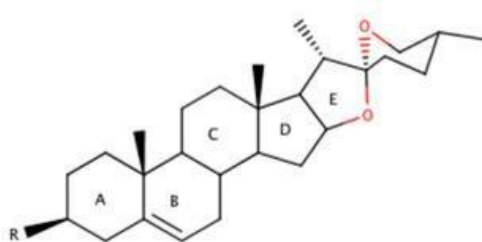


Рис 1.1. Скелетна структура спіростанолу (А)    Рис 1.2. Скелетна структура фуростанолу (Б)

Найпоширеніші стероїдні сапоніни сировини якірців сланких з визначеною фармакологічною дією: протодіосцин, грацилін, протограцилін, діосгенін, гітогенін, рускогенін, гекогенін, тігогенін, хлорогенін [10, 89]. При цьому їхній кількісний вміст може варіювати у широких межах у залежності від місця походження сировини. Зокрема в траві китайського походження вміст протодіосцину знаходиться в межах від 0,063 до 0,089 %, болгарського походження – 0,245-1,337 %, індійського – 0,024 % [10].

Серед флавоноїдів трави *Tribulus terrestris L.* переважають рутин, астралагін, трибулозид, тритулозин, кверцетин, кемпферол, ізорамнетин,



лютеолін [89, 91]. Ізорамнетин і рутин містяться тільки в листі, тоді як кверцетин та кемпферол можуть бути в корені, листі та плодах цієї рослини [92].

Також до складу ЛРС якірців сланких входять алкалоїди трибулузамід С, трибулустерин, трибулузин А, гармін, гарман, гармол, трибулусімід С, террестріамід, *N* - *транс* -кумароїлтирамін, *N* - *транс* -кафеоїлірамін, террестрібісамід [11, 13]. Їхній кількісний вміст в коренях склав 8 мг/г, у стеблах – 19,78 мг/г, у листі – 23,90 мг/г, у плодах – 3,60 мг/г [11].

В сировині якірців сланких виявлені також органічні кислоти (бензойна кислота [93], ванільна кислота, 2-метилбензойна кислота, ферулова кислота [94], бурштинова кислота, моногліцерид пальмітинової кислоти, докозанова кислота, амінокислоти (аланін, треонін), урацилнуклеїнова кислота [95], кумарин [94], емодин і фізіон [96], а також хлорофіл, каротиноїди та фітостерини ( $\beta$ -ситостерин, кампестерин, стигмастерин) [10].

Фітозасоби на основі ЛРС якірців сланких традиційно використовують в традиційній китайській і індійській медицині з метою поліпшення сексуальної функції, а також у профілактиці та лікуванні атеросклерозу, діабету та серцево-судинних захворювань. Вони також проявляють протизапальну, антиоксидантну, гепатопротекторну, антибактеріальну, фунгіцидну, протипухлинну, спазмолітичну, антидепресантну, геронтопротекторну активність [10-13, 16, 75, 89].

Загально відомою є здатність екстрактів *Tribulus terrestris* L. покращувати сексуальну функцію і фертильність у чоловіків через подібність його ефектів до дії афродизіаків, а також завдяки здатності підвищувати рівень тестостерону або його попередників [97]. Зокрема підтверджена більш висока ефективність екстракту *Tribulus terrestris* L. в дозі 300 мг/кг протягом 8 тижнів порівняно з іншими рослинами в лікуванні еректильної дисфункції у самців щурів [98]. Гормональний вплив екстракту оцінювали на приматах, кроликах і щурах, щоб визначити його ефективність у лікуванні еректильної

дисфункції і встановили підвищення рівня тестостерону, дигідротестостерону і дигідроепіандростерону сульфату в крові тварин, що отримували екстракт цієї рослини, до складу якого входить протодіосцин [99]. В інших досліджах на кастрованих щурах були підтверджені афродизіачні властивості фракції глікозиду фуростенолу екстракту *T. terrestris* (TT-FG) [100]. При проведенні рандомізованого, подвійного сліпого, плацебо-контрольованого клінічного випробування на 180 чоловіках з сексуальними розладами було підтверджено, що у чоловіків, які отримували 2 таблетки (500 мг) трібестану перорально тричі на день після їжі протягом 12 тижнів були зафіксовані достовірні і значні відмінності в балах міжнародного індексу еректильної функції, порівняно з тими, які отримували плацебо [101].

Згідно даним літератури, етаноловий екстракт *Tribulus terrestris* L. позитивно впливає на сперматогенез, про що свідчать очевидні зміни в каналцевому відділі ячок, такі як збільшення загальної довжини трубки, об'єму трубки та висоти сім'явиносного епітелію. Гексанова та розчинна у воді фракція сприяла змінам у міжтрубчастому відділі, оскільки вони збільшували ядерний об'єм, об'єм цитоплазми та індивідуальний об'єм клітин Лейдіга у самців щурів лінії Вістар [102].

Іншими дослідженнями показана здатність екстракту *Tribulus terrestris* L. в дозі 100 мг/кг коригувати патологічні зміни показників андрогенного статусу у щурів, які отримували  $AlCl_3$  [103]. А при щоденному застосуванні в дозі 200 мг/кг екстракт *Tribulus terrestris* L. відновлював функціональні властивості сперматозоїдів, порушені тривалим уведенням метронідазолу, що автори дослідження пов'язують передусім з антиоксидантними властивостями флавоноїдів, які входять до складу цього екстракту [104]. Також встановлено, що додавання екстракту *Tribulus terrestris* L. до людської сперми в умовах *in vitro* і інкубація сперми з 40 і 50 мкг/мл екстракту значно підвищує загальну рухливість сперматозоїдів та значно покращує життєздатність сперми в цілому [105].

Також встановлено позитивний вплив *Tribulus terrestris* L. в дозі 750 мг/день протягом 4 місяців на формування лібідо у жінок в постменопаузальному періоді, що автори пов'язують з підвищенням рівня вільного та біодоступного тестостерону в сироватці крові [106, 107].

Широко відомими є антиуролітичні властивості *Tribulus terrestris* L., зокрема плоди цієї рослини використовуються в традиційній медицині для лікування різних захворювань сечовивідних шляхів, включаючи сечокам'яну хворобу. При вивченні літолітичної здатності водного екстракту плодів якріців сланких та його фракцій за допомогою різних моделей відтворення уролітіазу встановлено, що біоактивна фракція *n*-бутанолу, завдяки більш високому вмісту кверцетину, діосгеніну та дубильної кислоти, має перш за все не лікувальні, а профілактичні властивості проти утворення конкрементів [108]. Водночас виділений з екстракту *Tribulus terrestris* L., специфічний білок, що належить до сімейства діоксигеназ і структурно схожий з гістидином, може індукувати перетворення оксалату на мурашину кислоту та вуглекислий газ і таким чином інгібувати кристалізацію оксалату кальцію в умовах *in vitro* [109]. Інші дослідники встановили позитивний результат клінічного застосування екстракту *Tribulus terrestris* L. при лікуванні сечокам'яної хвороби, який підтверджується зменшенням в 24-годинних зразках сечі у пацієнтів рівня цитрату, оксалату, білків і глікозаміноглікану [110].

Екстракти *Tribulus terrestris* L. також виявляють протидіабетичні властивості, що головним чином може бути опосередковано впливом сапонінів, здатних інгібувати активність  $\alpha$ -глюкозидази. Вони інгібують постпрандіальне підвищення рівня глюкози в крові та покращують симптоми інсулінозалежного діабету [111]. Клінічні випробування довели, що застосування водного екстракту *T. terrestris* в дозі 1000 мг/кг у жінок з цукровим діабетом протягом трьох місяців знижує рівень глюкози в крові натщесерце, 2-годинний рівень глюкози після прийому їжі, рівень

глікозильованого гемоглобіну, а також покращує показники ліпідного профілю більш виразно, порівняно з групою плацебо [112].

Широко застосовують сировину *Tribulus terrestris L.* в профілактиці та лікуванні серцево-судинних захворювань, зокрема при станах, які супроводжуються ішемією та ішемічно-реперфузійними ушкодженнями міокарда [113]. Показана здатність екстрактів *Tribulus terrestris L.* покращувати коронарний кровоток і функцію серця та підвищувати вміст аденозинтрифосфату (АТФ) при ішемічно-реперфузійному пошкодженні міокарда [114]. Встановлено, що метанольний екстракт плодів *Tribulus terrestris L.* попереджає дисфункцію мітохондрій на моделі ішемії міокарду у щурів, що зв'язано з його антиоксидантною дією [115]. Кардіопротекторні властивості екстракту підтверджені і при пошкодженні міокарду в умовах окисного стресу [116].

В літературі описані дані щодо церебропротекторної дії фітозасобів на основі сировини *Tribulus terrestris L.*, яка реалізується головним чином через їх протизапальну і антиоксидантну дію. В умовах ішемічно-реперфузійного пошкодження тканин головного мозку у щурів екстракт *Tribulus terrestris L.* зменшує вміст TNF- $\alpha$  та IL- $1\beta$ , пригнічуючи запальну відповідь і експресію білка PPAR $\gamma$  [117]. Після крововиливу екстракт значно збільшував вміст СОД і знижував рівні МДА і NO в плазмі та тканині мозку, послаблюючи тим самим пошкодження нейронів [118].

Також в досліджах на щурах продемонстрована анксиолітична та антидепресивна дія ЛРС *Tribulus terrestris L.* Було висловлено припущення, що гармін,  $\beta$ -карболіновий алкалоїд, присутній в *Tribulus terrestris L.*, є одним із основних активних компонентів, який сприяє вищезгаданій діяльності. Гармін є інгібітором моноаміноксидази, який сприяє підвищенню рівня дофаміну в мозку [119, 120].

Встановлено, що водний екстракт *Tribulus terrestris L.* в дозі 580 мг/кг зменшує гіперліпідемію зі зниженням холестерину, тригліцеридів, ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ), ліпопротеїнів дуже низької

щільності (ЛПДНЩ) і індексу атерогенності (АІ), та підвищує у крові рівень ліпопротеїдів високої щільності (ЛПВЩ). Гіполіпідемічну активність автори пов'язують з наявністю в екстракті значної кількості фенольних сполук [12, 13]. Уведення тваринам протягом 8 тижнів в харчовий раціон, багатий на холестерин, сировини *Tribulus terrestris* L. значно знижувало ліпідний профіль сироватки, зменшувало пошкодження ендотеліальної клітинної поверхні, а також частково відновлювало ендотеліальну дисфункцію, спричинену гіперліпідемією [121].

Діючі речовини *Tribulus terrestris* L. (гітонін, протодіосцин і трибулосапоніни А і В) можуть підвищувати показники фізичної працездатності та витривалості, оскільки, як вважають, вони здатні імітувати тестостеронові ефекти у людей через схожість їх хімічних структур. Основним ефектом є посилення анаболічної та андрогенної дії тестостерону шляхом активації ендogenous виробництва тестостерону та підвищення співвідношення тестостерон/кортикостерон, що може значно покращити ефективність фізичних вправ [11, 13, 122, 123].

Також встановлено, що стероїдні сапоніни *Tribulus terrestris* L. володіють протипухлинними властивостями. Зокрема в умовах *in vitro* і *in vivo* була встановлена здатність терестрозину D пригнічувати ріст пухлин через інгібування пухлинного ангиогенезу [124]. Інші автори виявили профілактичну ефективність проти канцерогенезу, спричиненого ультрафіолетовим опроміненням [125].

Підтвердженими є антибактеріальні властивості *Tribulus terrestris* L. Зокрема в умовах *in vitro* показана чутливість 50 % штамів *H. pylori* до концентрації екстракту *Tribulus terrestris* L. 1000 мг/мл [126]. Встановлена здатність стероїдних сапонінів цієї рослини пригнічувати гени *Candida albicans* ACS1, ACS2, ERG1, ERG2, ERG6, ERG7, ERG11, ERG25, ERG26 і ERG27, які безпосередньо беруть участь у синтезі ергостеролу [127]. Також встановлено, що метанольний екстракт якріців сланких має найвищу здатність до інгібування *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* та *Staphylococcus*

*aureus* . Інгібуючий ефект щодо *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* був виявлений і у водного екстракту цієї рослини [128]. Водночас етанольний екстракт *Tribulus terrestris* L. виявляв хорошу антибактеріальну активність відносно *Streptococcus mutans* , *Streptococcus sanguis* , *Actinomyces viscosus* , *Enterococcus faecalis* , *Staphylococcus aureus* і *Escherichia coli* [12, 16, 19, 129].

В реалізації лікувальних ефектів *Tribulus terrestris* L. важливою є його антиоксидантна активність [12, 16, 116]. Водночас за умов *in vitro* виявлено, що багатий на стероїдні сапоніни бутанольний екстракт (1 мг/мл ) викликав гасіння концентрації оксиду азоту на 90,30 %, гідроксильних радикалів - на 90,02 %, і радикалів перекису водню - на 89,0 % [130]. Інші дослідники також встановили високу антиоксидантну активність діосгеніну *T. terrestris* [131].

Діючі речовини різних екстрактів *Tribulus terrestris* L., мають протизапальні властивості. Зокрема встановлена здатність *N* -транс-р-кафеоїлтираміну, виділеного з *Tribulus terrestris* L., пригнічувати вироблення оксиду азоту, TNF-  $\alpha$  , IL-6 та IL-10 у клітинах RAW264.7, стимульованих ліпополісахаридом (LPS), залежно від дози. Крім того, *N* -транс-р-кафеоїлтирамін пригнічує експресію ЦОГ-2 і продукцію простагландину E2 [133]. Також в дослідях *in vivo* виявлена здатність метанольного екстракту в дозах 200 і 400 мг/кг зменшувати набряк лапи щура, викликаний уведенням карагеніну. При цьому в дозі 400 мг/кг протизапальний ефект екстракту *Tribulus terrestris* L. не поступався перед диклофенаком натрію в дозі 20 мг/кг [134].

В дослідях на щурах-самцях на різних моделях больового подразнення показана аналгетична активність метанольного екстракту *Tribulus terrestris* L. в дозі 100 мг/кг, яка за виразністю перевершує аналогічний ефект ацетилсаліцилової кислоти. При цьому фітозасіб не виявив ульцерогенної дії [12].

Також встановлені спазмолітичні властивості *Tribulus terrestris* L. Ліофілізована рослинна суміш сапонінів цієї рослини показала значне

зниження перистальтичних рухів препарату порожньої кишки кролика залежно від дози. Таким чином суміш сапонінів може бути корисною для усунення спазмів гладких м'язів або коліки [10, 13]

Наявність у сировини *Tribulus terrestris* L. гепатопротекторних властивостей підтверджується численними дослідженнями [10-13, 16]. Зокрема показана здатність стероїдних сапонінів *Tribulus terrestris* L. значно підвищувати рівень СОД і глутатіону, знижувати вміст МДА в сироватці крові, пригнічувати експресію каспази-3 і покращувати на фоні лікування ультраструктуру тканини печінки на фоні діабету. Гепатопротекторний ефект може бути опосередкований антиоксидантними, протизапальними, анаболічними, імунотропними властивостями цієї рослини, а також впливом її діючих речовин на регуляцію метаболізму та механізми пригнічення апоптозу клітин печінки [135].

Сапоніни, виділені з плодів *Tribulus terrestris* L., продемонстрували дозозалежне підвищення фагоцитозу, що свідчить про їхню здатність стимулювати неспецифічну імунну відповідь. В досліді на щурах спиртовий екстракт цілої рослини продемонстрував значне дозозалежне збільшення титру гуморальних антитіл і реакції гіперчутливості сповільненого типу, що вказує на посилення специфічної імунної відповіді [136, 137].

Окрім того, встановлено, що метанольний екстракт *Tribulus terrestris* L. виявляє подібні до дії альбендазолу, антигельмінтні властивості [138], а плоди цієї рослини виявили високу ларвіцидну активність стосовно основних переносників малярії, лихоманки денге та лімфатичного філяріозу [139].

Встановлено, що *Tribulus terrestris* L. також володіє протикаріозною дією за рахунок здатності екстракту цієї рослини пригнічувати ріст *Streptococcus mutans*, який є важливим оральним патогеном, що викликає карієс зубів [140].

Препарати на основі якірців сланких володіють геронтопротекторною дією. Зокрема в досліді на щурах підтверджений захисний вплив стероїдних сапонінів *Tribulus terrestris* L. на патологічні зміни шкіри, за типом

передчасного старіння, індуковані D-галактозою [141]. Є дані щодо здатності водного екстракту цієї рослини у залежності від дози запобігати розладам і покращувати пам'ять і навчання тварин в експерименті [142].

Також низка літературних джерел вказує на здатність сапонінів *Tribulus terrestris* L. підсилювати всмоктування речовин в шлунково-кишковому тракті, що автори пов'язують саме з дією сапонінів. Так показана здатність *Tribulus terrestris* L. посилювати всмоктування у кишечнику та покращувати тим самим біодоступність метформіну гідрохлориду, який, як відомо, володіє високою розчинністю та поганою абсорбцією [143].

На території України зареєстровані наступні препарати, до складу яких входить сировина якірців сланких: Верона, Трібестан та Цистон®. [144].

*Верона.* Випускається у формі капсул. Виробник Herbion Pakistan (Пакистан).

*Діючі речовини:* 1 капсула містить: екстракту якірців сланких плодів сухого (*Tribulus terrestris*) (1:5) (екстрагент вода) 300 мг; екстракту вітанії снодійної коріння сухого (*Withania Somnifera*) (1:5) (екстрагент вода) 100 мг; екстракту мукуни пекучої насіння сухого (*Mukuna Pruriens*) (1:5) (екстрагент вода) 25 мг; екстракту аргіреї красивої насіння сухого (*Argyreia speciosa*) (1:5) (екстрагент вода) 60 мг.

Препарат використовують у комплексному лікуванні сексуальної неврастенії, зниження статевого потягу, імпотенції, олігоспермії, астеноспермії, односторонньої або двосторонньої гіпотрофії яєчок, первинного чи вторинного гіпогонадізму у чоловіків, а також втоми та психічного виснаження [145].

*Трібестан.* Форма випуску – таблетки, вкриті оболонкою. Виробник АТ «Sopharma», Болгарія.

*Діючі речовини:* 1 таблетка містить: якірців сланких трави екстракт сухий (*Tribulus terrestris herba extractum siccum*), (35-45:1), (екстрагент: метанол 80 %) – 250 мг, що відповідає фуростаноловим сапонінам у перерахунку на протодіосцин – 112,5 мг.



Препарат використовують для профілактики та лікування статевих розладів у чоловіків і жінок. При еректильній дисфункції чоловікам для посилення лібідо, сили і тривалості ерекції. Як монотерапія або у комплексній терапії певних форм безпліддя у чоловіків. Жінкам з клімактеричним і посткастраційним синдромом з виявленими нейровегетативними і нейропсихічними проявами; при ендокринному яєчниковому безплідді. При порушенні жирового обміну (дисліпопротеїнемії) для зниження загального холестерину і ЛПНЩ [146].

**Цистон®.** Форма випуску – таблетки. Виробник Хімалая Драг Компані, Індія.

*Діючі речовини:* 1 таблетка містить екстракти: листя дідимокарпусу стеблового (*Didymocarpus pedicellata*) – 65 мг, коренів ломикаменя язичкового (*Saxifraga ligulata*) – 49 мг, коренів марени серцелистої (*Rubia cordifolia*) – 16 мг, кореневищ смикавця плівчастого (*Cyperus scariosus*) – 16 мг, насіння соломоцвіту шорсткуватого (*Achyranthes aspera*) – 16 мг, надземної частини ономи приквіткової (*Onosma bracteatum*) – 16 мг, вернонії попелястої (*Vernonia cinerea*) – 16 мг; порошки: вапна кремнієвого (*Hajrul yahood bhasma*) – 16 мг; смоли мінеральної очищеної (*Shilajeet purified*) – 13 мг; які оброблені водним екстрактом із: трави васильків справжніх (*Ocimum basilicum*), плодів якірців сланких (*Tribulus terrestris*), насіння мімози сором'язливої (*Mimosa pudica*), насіння доліхосу двоквіткового (*Dolichos biflorus*), півонії запашної (*Pavonia odorata*), хвощу польового (*Equisetum arvense*), насіння дерева тикового (*Tectona grandis seed*).

Препарат використовують для розчинення ниркових конкрементів, спричинені оксалатами, фосфатами, сечовою кислотою та уратами, для профілактики появи конкрементів після операції, як допоміжний засіб при інфекції сечовивідних шляхів; неспецифічний уретрит; цистит, пієліт [147].

Окрім того на вітчизняному фармацевтичному ринку представлені дієтичні добавки із сировиною якірців сланких.

*Правенор® форте.* Форма випуску – капсули. Виробник ТОВ ПРО-ФАРМА (Україна).

*Діючі речовини:* 1 капсула містить: L-аргінін - 425 мг, екстракт кропиви дводомної - 100 мг, екстракт ягід карликової пальми - 80 мг, екстракт якріців сланких - 40 мг, екстракт гінкго білоба - 15 мг, йохимбин гідрохлорид - 2,5 мг;

Застосовують з метою нормалізації функціонального стану сечостатевої системи у чоловіків, особливо при еректильній дисфункції (для посилення лібідо і потенції); при розладах сечовипускання на тлі хронічного простатиту, доброякісної гіперплазії передміхурової залози [148].

*Трибустим.* Форма випуску – капсули. Виробник ТОВ Новалік-фарм (Україна).

*Діючі речовини:* 1 капсула містить: екстракт трави якріців сланких – 140 мг, екстракт листя дам'яни – 60 мг.

Застосовують для нормалізації функціонального стану статевої системи чоловіків, для підтримання оптимального рівня тестостерону, посилення статевого потягу та потенції.

*Трибусмен.* Форма випуску – капсули. Виробник ТМ «Аптека природи», Україна.

*Діючі речовини:* 1 капсула містить 350 мг екстракту трави якріців сланких.

Використовується як дієтична добавка і рекомендується з метою нормалізації статевої функції у чоловіків та жінок, має загально тонізуючий ефект, сприяє зменшенню ризику виникнення атеросклерозу [149].

*Гокишура.* Форма випуску – капсули. Виробник Хімалая Драг Компані, Індія.

*Діючі речовини:* 1 капсула містить 250 мг екстракту трави якріців сланких.

Використовують при сечокам'яній хворобі, дизурії, гематурії, простатиті, аденомі ПЗ, еректильній дисфункції, подагрі, артритих, невритах [150].

*Якірці сланкі.* Форма випуску – фільтр-пакети. Виробник ПрАТ «Ліктрави», Україна.

*Діючі речовини:* якірців сланких трава 100 %.

Рекомендована в якості дієтичної добавки, для використання в раціонах дієтичного харчування, як додаткове джерело біологічно активних речовин, що сприяють: нормалізації статевої функції у чоловіків та жінок, зниженню проявів клімактеричних симптомів; поліпшенню роботи шлунково-кишкового тракту при зниженій секреції шлункового соку; попередженню розвитку атеросклерозу; а також виявляє загальнозміцнюючі властивості, сприяє підвищенню імунітету [151].

Як видно з огляду літератури, якірці сланкі входять до складу як закордонних, так і вітчизняних лікарських препаратів та дієтичних добавок. Більшість з цих фітозасобів містять метанольні екстракти ЛРС якірців сланких або створені на їх основі. Головним чином їх застосовують при лікуванні захворювань сечостатевої системи, передусім при розладах еректильної функції. В Україні якірці сланкі залишаються неофіційною рослиною. Окрім того відомо, що сировина якірців сланких, заготовлена в різних частинах світу може відрізнитись за спектром своєї фармакологічної активності, або взагалі не мати якоїсь дії [10-13, 89]. При цьому фармакологічні властивості етанольних екстрактів досліджені значно менше порівняно з метанольними екстрактами цієї рослини.

На кафедрі загальної і клінічної фармакології та фармакогнозії Одеського національного медичного університету у науковому співробітництві з кафедрою фармакогнозії та нутриціології Національного фармацевтичного університету (м. Харків) отримано і стандартизовано «Густий екстракт обмолоченої від плодів трави якірців сланких» (ГЕЯС) та попередньо підтверджена його протизапальна активність [18, 19]. Сировина для виготовлення екстракту була заготовлена у період плодоношення у 2020-2022 роках в Одеській, Миколаївській і Херсонській областях. ГЕЯС був отриманий екстракцією 50 % етанолом у співвідношенні ЛРС :екстрагент

1:10 з наступним його випаровуванням та згущенням і стандартизований занаступними показниками (табл.1.2) [19].

Таблиця 1.2.

**Параметри стандартизації якірців сланких обмолоченої від плодів трави екстракту густого (ГЕЯС) згідно до вимог ДФУ**

Параметри стандартизації	Допустимі межі
1	2
Опис	В'язка маса темно-коричневого кольору з характерним запахом
Розчинність	Легко розчинний у етанолі (50 % об/об) <i>P</i> , розчинний у етанолі (70 % об/об) <i>P</i> , ДМСО <i>P</i> , практично нерозчинний у воді <i>P</i>
Ідентифікація	<u>Стероїдні сполуки.</u> При додаванні 1 % розчину п-диметиламінобензальдегіду в 4 н спиртовому розчині кислоти хлористоводневої <i>P</i> та наступним нагріванням утворюється рожеве забарвлення. Спектр поглинання випробуваного розчину, одержаного як зазначено в пункті кількісного визначення стероїдних сполук в області від 450 нм до 600 нм повинен мати максимум за довжини хвилі (518 ± 3,0) нм. <u>Фенольні сполуки.</u> При додаванні 1 % спиртового розчину феруму (III) хлориду <i>P</i> утворюється чорно-зелене забарвлення.
Сухий залишок	Не менше 70 %
Вміст важких металів	Не більше 0,01 %

Продовження табл.1.1

1	2
Мікробіологічна чистота	В 1 г препарату допускається наявність не більше 500 бактерій і 40 дріжджових і пліснявих грибів (у сумі). Бактерій роду <i>Escherichia</i> і <i>Salmonella</i> не повинно бути. В 10 г препарату повинні бути відсутні бактерії роду <i>Pseudomonas aeruginosa</i> і <i>Staphylococcus aureus</i> .
Кількісний вміст	<u>Стероїдні сапоніни</u> . Не менше 4,5 %. <u>Фенольні сполуки</u> . Не менше 8,5 %

З огляду на широкий спектр загально метаболічних ефектів фітозасобів на основі сировини якріців сланких, які добре узгоджуються з патогенезом ХП і могли б позитивним чином вплинути на його перебіг, а також на обмежену кількість досліджень про фармакологічні властивості етанольних естрактів ЛРС якріців сланких, було доцільно дослідити можливості застосування ГЕЯС в умовах експериментального ХП та визначити перспективи створення на його основі нового вітчизняного простатопротектора, що й стало предметом дисертаційної роботи.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Мета і задачі запропонованого дослідження потребували використання фармакологічних, біохімічних, патофізіологічних, імунологічних, морфологічних, токсикологічних і статистичних методів дослідження. Вибір методів здійснювали з урахуванням їх адекватності, інформативності та достовірності впровадження.

Досліди проведені на 536 статевозрілих беспородних самцях щурів масою 180-200 г та 60 білих нелінійних мишах масою 18-22 г. Тварини утримувалися в однакових умовах, на стандартному раціоні відповідно до санітарно-гігієнічних вимог у віварії Одеського національного медичного університету. Усі експерименти проведені відповідно до загальних етичних принципів експериментів на тваринах, регламентованих положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р., зі змінами, 1998 р.), Законом України № 249 від 01.03.2012 «Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» та комісії з питань біоетики ОНМедУ (протокол №21 від 06.03.2024 р).

Для проведення досліджень використовували препарати: диклофенак натрію «ПАТ ХФЗ «Червона зірка» (Україна), корвітин «Борщагівський ХФЗ (Україна), трібестан «Sopharma» (Болгарія), пепонен «Teva» (Угорщина). Густий екстракт обмолоченої від плодів трави якірців сланких (ГЕЯС) отриманий на кафедрі загальної і клінічної фармакології та фармакогнозії Одеського національного медичного університету екстракцією 50 % етанолом у співвідношенні ЛРС : екстрагент 1:10 з наступним його випаровуванням та згущенням і стандартизований за вмістом стероїдних і фенольних сполук. ГЕЯС представляє собою в'язку масу темно-

коричневого кольору з характерним запахом, легко розчинний в етанолі (50 % об/об), розчинний в етанолі (70 % об/об) та практично нерозчинний у воді [19].

Вибір доз запропонованих препаратів здійснювали, виходячи з даних літератури про їх ефективність і токсичність. При цьому були підібрані дози, які найбільш часто і обґрунтовано використовувались в експериментальних дослідженнях: диклофенак натрію в дозі 8,0 мг/кг [18, 136, 152], корвітин в дозі 10 мг/кг [136, 153, 154], трібестан в дозі 60 мг/кг [55, 56, 155, 156], пепонен в дозі 106 мг/кг [7, 54, 55, 75, 157].

Скринінгові дослідження з визначення найбільш ефективної дози ГЕЯС за протизапальною дією були проведені на моделях карагенінового, зимозанового і формалінового набряку у щурів та за аналгетичною дією на моделі оцтовокислих корчів у мишей з використанням доз 50 мг/кг, 100 мг/кг, 150 мг/кг і 200 мг/кг. Препаратами порівняння обрано диклофенак натрію в дозі ЕД<sub>50</sub> 8,0 мг/кг. Цей засіб, як класичний інгібітор ЦОГ, найчастіше використовують як в експериментальних дослідженнях, так і в традиційній протизапальній терапії ХП [18, 136]. При дослідженнях на моделях зимозанового і формалінового набряку – препаратом порівняння додатково обрано корвітин в дозі 10 мг/кг [136, 153, 154].

Модель карагенінового запалення відтворювали шляхом інтраплантарного уведення щурам 0,1 мл 1 % водного розчину карагеніну (ICN, США), модель зимозанового запалення – уведенням відповідно 0,1 мл 2,0 % суспензії зимозану, модель формалінового запалення – уведенням 0,1 мл 2,0 % водного розчину формаліну [158].

Досліджувані фітозасоби та препарати порівняння вводили перорально за 1 годину до ін'єкції флаготропного агента. Контрольні тварини отримували еквівалентну кількість води. За розвитком набряку спостерігали в динаміці через 1, 2, 3, 6 і 24 години, для чого вимірювали об'єм лап за допомогою механічного онкометра. Активність препаратів оцінювали за спроможністю знижувати набряк у порівнянні з групою контрольної патології (КП) за формулою:

$$ПА = (P_{КП} - P_{Д}) / P_{КП} ,$$

де ПА - протизапальна активність;

$P_{КП}$  - середня різниця між набряклою лапою та її вихідним розміром у групі КП, мм;

$P_{Д}$  - середня різниця між набряклою лапою та її вихідним розміром у дослідній групі, мм.

*Аналгетичну активність* досліджували на моделі оцтовокислих корчів у щурів шляхом внутрішньоочеревинного уведення тваринам 0,75 % розчину оцтової кислоти із розрахунку 0,1 мл на 10 г маси тіла і оцінювали за здатністю речовин протягом 15 хвилин після уведення оцтової кислоти зменшувати кількість корчів в дослідній групі у порівнянні з контрольною групою за формулою:

$$А = 100 \% - K_{\text{досл}} / K_{\text{контр}} \times 100,$$

де А- аналгетична активність;

$K_{\text{досл}}$  – кількість корчів у дослідній групі;

$K_{\text{контр}}$  – кількість корчів в контрольній групі.

Для визначення антиноцицептивної активності ГЕЯС в дозах 50 мг/кг, 100 мг/кг/, 150 мг/кг і 200 мг/кг, а також препарати порівняння диклофенак натрію в дозі 8,0 мг/кг та фітозасіб пепонен в дозі 106 мг/кг вводили внутрішньошлунково за 1 годину до введення альгогену та спостерігали протягом 15 хвилин, підраховуючи кількість корчів.

Вивчення *антиальтеративної та ранозагоювальної дії* ГЕЯС проводили на моделі асептичної дермотомної рани шкіри у щурів планіметричним методом. Експерименти проведено на 32 нелінійних статевозрілих щурах обох статей, розбитих на групи, по 8 тварин в кожній. Стандартні асептичні площинні дермотомні рани розміром 20x20 мм (400 мм<sup>2</sup>) моделювали під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг внутрішньоочеревинно) в асептичних умовах на попередньо депільованих міжлопаткових ділянках тулуба. Лікування проводили шляхом щоденного одноразового перорального уведення препаратів, починаючи з першого дня після відтворення асептичної



рани і до повного закриття ранового дефекту. Ступінь лікувальної дії оцінювали на 7, 14, 21 та 28 добу експерименту за динамікою площі рани та за терміном її повного загоєння.

*Репаративну активність* дослідних речовин вивчали на моделі асептичної лінійної різаної рани шкіри у щурів і визначали за міцністю рубця, що утворюється при загоєнні ран, використовуючи метод ранотензіометрії [158]. Під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг внутрішньоочеревинно) в асептичних умовах на попередньо депільованих міжлопаткових ділянках тулуба робили розтин довжиною 50 мм на відстані 10 мм один від одного, накладали вузлуваті шовкові шви та обробляли 5 %-м спиртовим розчином йоду. Лікування ран починали відразу ж після виходу тварин з-під наркозу шляхом щоденного одноразового уведення препаратів. Щури I групи лікування не отримували і слугували контролем; у II групі при лікуванні тварини отримували ГЕЯС в дозі 150 мг/кг; у III та IV групі лікування проводилось шляхом уведення відповідно диклофенаку натрію в дозі 8 мг/кг та корвітину в дозі 10 мг/кг. На 7-му і 14-ту добу досліду щурів виводили з експерименту шляхом декапітації. Вирізали ділянки шкіри з повним захопленням рани, оперовану ділянку брали по всій довжині та глибині операційного рубця, розрізали на стрічки шириною 5 мм.

Репаративну активність розраховували за формулою:

$$A = \frac{(\Delta M_D - \Delta M_K)}{\Delta M_K} \times 100 \%$$

де А - репаративна активність, %;

$\Delta M_D$  — навантаження, при якому розривається шов в дослідній групі;

$\Delta M_K$  - навантаження, при якому розривається шов в контрольній групі.

Дослідження *антипроліферативної дії* фітозасобів та препаратів порівняння проводили на моделі ватної гранульоми у щурів. Досліджувані тварини були розділені на групи по 8 щурів у кожній: перша група контрольної патології, яка лікування не отримувала; друга група - тварини, які отримували щоденно протягом 7 днів ГЕЯС в дозі 150 мг/кг

внутрішньошлунково; третя група – тварини, які отримували диклофенак натрію в дозі 8 мг/кг внутрішньошлунково; четверта група – тварини, що отримували корвітин в дозі 10 мг/кг внутрішньошлунково. Тваринам під пропофоловим наркозом (60 мг/кг, в/очеревинно) моделювали хронічне проліферативне запалення шляхом імплантації стерильної ватної кульки масою 20 мг. На 8 добу після операції здійснювали евтаназію тварин, ватну кульку з утвореною навколо неї грануляційною тканиною виймали, зважували, висушували у термостаті при  $t=55^{\circ}\text{C}$  до постійної маси, Антипроліферативну активність визначали за здатністю речовини зменшувати масу грануляційно-фіброзної тканини, що утворюється навколо флогогенного агенту у дослідній групі тварин порівняно з контрольною.

Розрахунок АПА проводили за формулою :

$$\text{АПА} = 100 - [ (M_{\text{пк}} - M_{\text{д}}) \times 100 ] ,$$

де АПА – антипроліферативна активність у %;

$M_{\text{пк}}$  – середня маса ватної кульки в групі позитивного контролю;

$M_{\text{д}}$  – середня маса ватної кульки в групах досліджуваних засобів.

Відомо, що важливим патогенетичним механізмом запального процесу в ПЗ є активація вільнорадикального окиснення ліпідів і білків, що веде до порушення структури і функції клітинних мембран. У зв'язку з тим, що ГЕЯС був стандартизований за вмістом стероїдних і поліфенольних сполук, це припускає наявність у фітозасобу як прямих, так і опосередкованих антиоксидантних властивостей. Тому доцільно було вивчити антиокислювальну активність ГЕЯС в умовах *in vitro* та *in vivo*.

*Дослідження антиоксидантної дії в умовах in vitro* проводили в модельній системі жовткових ліпопротеїдів в середовищі, що вміщувало 40 мМ  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 105 мМ  $\text{KCl}$ , 100 мкМ  $\text{FeSO}_4$ ,  $\text{pH}=7,4$ , використовуючи дози ГЕЯС 5, 10, 15, 20 мкг/мл у порівнянні з  $\alpha$ -токоферолом у дозі 8 мкг/мл [159, 160]. Реакцію здійснювали на водяній бані-качалці. Антиоксидантну активність ГЕЯС та  $\alpha$ -токоферолу визначали за їх здатністю гальмувати в середовищі накопичення ТБК–активних продуктів, що утворилися в

результаті Fe<sup>2+</sup>-індукованого ПОЛ і реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою та виражали у відсотках пригнічення окиснення ліпопротеїдів [161].

Окрім того, в умовах *in vitro* досліджували вплив ГЕЯС на стан перекисного окиснення білків, а антиокиснювальні властивості оцінювали за здатністю до інгібування окисної модифікації білка в цитозольній фракції печінки, викликаній реактивом Фентона [162]. Оцінку АОА ГЕЯС в умовах *in vitro* в дозах 5, 10, 20, 50 мкг/мл здійснювали шляхом кількісного визначення окиснених амінокислотних залишків білків за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразаном на спектрофотометрі СФ-46 за довжини хвилі  $\lambda = 270$  нм – альдегіддинітрофенілгідразони (АФГ) і  $\lambda = 363$  нм – кетондинітрофенілгідразони (КФГ). Ступінь окиснювальної модифікації білків виражали в умовних одиницях оптичної густини, віднесених на 1 г білка. Визначення загальної кількості білка в пробі проводили біуретовим методом з використанням стандартного набору реактивів.

*Антиокислювальні властивості ГЕЯС в умовах in vivo* досліджувались на моделі гострого токсичного ураження печінки тетрахлорметаном у щурів. Тетрахлоретан є класичним мембранотропним токсином, у механізмі якого основне місце належить активації вільнорадикального окиснення в мембранах гепатоцитів. Дослідження проведено на 40 нелінійних білих щурах-самцях масою 200-230 г. Гострий токсичний гепатит викликали дворазовим (через день) введенням щурам внутрішньошлунково 50 % олійного розчину тетрахлорметану в дозі 0,4 мл/100 г маси тіла, згідно методичним рекомендаціям ДЕЦ МОЗ України [158]. Препаратами порівняння було обрано еталонний гепатопротектор рослинного походження «Карсил» («Софарма», Болгарія), який містить сухий екстракт плодів розторопші плямистої та рослинний протатопротектор пепонен.

ГЕЯС в дозі 150 мг/кг, пепонен в дозі 106 мг/кг та карсил в дозі 100 мг/кг вводили внутрішньошлунково впродовж 7 діб до та після відтворення модельної патології. Дозу фітозасобів обирали згідно з інструкцією, використовуючи коефіцієнти видової чутливості за Ю. А. Риболовлевим

[163]. Тварини інтактної групи отримували еквівалентну кількість води очищеної. Через 7 діб після останнього уведення тетрахлорметану тварин виводили з експерименту шляхом декапітації. У них вилучали печінку та збирали кров для біохімічного дослідження.

Для оцінки змін оксидантно-антиоксидантного балансу в тканинах печінки та сироватці крові у щурів досліджували вміст ТБК-активних продуктів, що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою, рівень диєнових кон'югатів (ДК), активність супероксиддисмутази (СОД), каталази, глутатіонредуктази, вміст в тканинах печінки і в сироватці крові відновленого глутатіону та  $\alpha$ -токоферолу.

*Кількісне визначення ДК* ненасичених вищих жирних кислот проводили методом В.А.Костюк і спів. [162], принцип якого полягає в екстракції ліпідів гептан-ізопропанолом (1:1) з наступним розшаруванням обох фаз 0,1н розчином НС1 і спектрофотометричним визначенням продуктів ПОЛ в гептановому шарі при  $\lambda=233$  нм. В якості контролю використовували зразки, які вміщували лише екстрагуючу фазу. Для екстракції ліпідів використовували 1 г гомогенату печінки, або 1 мл сиворотки крові. Вміст ДК розраховували за формулою:

$$E_{233}/\text{мг білка} = D_{233} \times O_{\Gamma} \times 6 / B ,$$

де  $D_{233}$  - значення екстинції;

$O_{\Gamma}$  – об'єм гептанового екстракту у мл;

6 - розведення гептанового екстракту етиловим спиртом в кюветі;

B - білок дослідного зразка у мг.

*Визначення кінцевого продукту ПОЛ малонового діальдегіда* проводили за методом І.Д.Стальної, Т.Г.Гаришвілі [162], принцип якого полягає у тому, що за умов високої температури і кислого середовища МДА реагує з 2-тіобарбітуровою кислотою, утворюючи забарвлений триметиновий комплекс з максимумом поглинання при  $\lambda=532$  нм. Вміст МДА в зразках вираховували, використовуючи показник молярного коефіцієнту екстинції

-  $E = 1,56 \times 10^5 \text{ см}^{-1}\text{М}^{-1}$  і отриманий результат вказували в нмолях МДА на мг білка, який визначали за методом Лоурі.

*Активність супероксиддисмутази* (КФ. 1.15.1.1) в гомогенаті печінки та сироватці крові встановлювали методом О.П.Макаревич, П.П.Голікова [162], принцип якого полягає у здатності СОД гальмувати реакцію автоокислення адреналіну в адренохром при рН=10,2. Інкубаційне середовище вміщувало: 1 мл 0,15М натрій-карбонатного буфера з додаванням  $3 \times 10^4$  М ЕДТА (рН=10,2); 0,5 мл супернатанту дослідного біологічного матеріалу або води, якщо вимірюється контрольна проба; 0,7 мл 0,005М калій-фосфатного буфера з додаванням  $1 \times 10^{-5}$ М ЕДТА (рН=7,8); 0,4 мл  $2,25 \times 10^{-3}$ М водяного розчину адреналіна (рН=6,4). Значення екстинції реєстрували на СФ-46 при  $\lambda=480$  нм. За умовну одиницю активності фермента приймали таку кількість СОД, яка необхідна для гальмування початкової швидкості автоокислення адреналіну на 50 %. Процент гальмування вираховували за формулою:

$$T\% = \frac{E_1 - E_3}{E_1} \times 100\% ,$$

де  $E_1$  - початкова швидкість не загальмованого окислення адреналіну (контрольна проба);

$E_3 = E_1 - E_2$  - різниця між початковою швидкістю окислення адреналіну в контрольному та дослідному зразках (опт.од./хв).

Активність ферменту встановлювали за формулою:

$$A = \frac{2 \cdot P \cdot T\%}{(100\% - T\%) \cdot a} ,$$

де  $A$  - активність СОД в ум.од./мг білка;

2 - коефіцієнт перерахунку внесеного до кювети розведеного біологічного матеріалу;

$P$  - розведення супернатанту;

$T\%$  - відсоток гальмування;

$a$  - кількість мг білка в нерозведеному біологічному матеріалі.

*Активність каталази* (КФ. 1.11.1.6) визначали за методом

Т.А.Королюк і спів. [162], принцип якого полягає у здатності перекису водня, що розщеплюється каталазою утворювати з солями молібдену стійкий забарвлений комплекс з максимумом поглинання при  $\lambda=410$  нм.

Реакцію запускали уведенням 0,1 мл біологічного матеріалу (6-7 мг білка/мл) у вигляді суспензії на 0,05М трис-НС1 буфері (рН=7,8) до 2 мл 0,03 %  $H_2O_2$ . До холостої проби взамін біологічного матеріалу вносили 0,1 мл води. Через 10 хв реакцію зупиняли додаванням 1 мл 4 % молібдату амонія, виготовленого на 1н розчині сірчаної кислоти. Інтенсивність забарвлення вимірювали спектрофотометрично при  $\lambda=410$  нм у порівнянні з контрольною пробєю, яка вміщувала замість  $H_2O_2$  - 2 мл води. Активність ферменту встановлювали за формулою:

$$A = 0,6 \times E / 34 \times 1,1 \times T \times B ,$$

де 0,6/34 - вміст  $H_2O_2$  для кожного зразку (в ммоль);

E - різниця екстинції між холостою та дослідною пробами; 1,1 - значення екстинції холостої проби (величина стала);

T - тривалість роботи ферменту (10 хв);

B - кількість білка в кожній пробі (в гр).

Активність каталази вказували в ммольях  $H_2O_2$ , розщепленого за 1 хвилину на 1 г білка біологічного матеріалу.

*Активність глутатіонредуктази* визначали спектрофотометрично (СФ-46) при  $\lambda=340$  нм і вказували через кількість окисленого НАДФН2 в мк/моль/хв. на мг білка [162]. Реакційна суміш містила: 1,0 ммоль глутатіону окисленого, 0,1 ммоль НАДФН, 0,5 ммоль ЕДТА, 0,1 М фосфатного буфера (рН=7,6). Визначення здійснювалось при +25 °С. Активність ферменту вказували в нмоль/хв./мг. Для перерахунку використовувався коефіцієнт екстинції  $6,22 \text{ ммоль}^{-1}\text{см}^{-1}$ .

*Вміст глутатіону відновленого* визначали в реакції з 5,5'-дітіо-біс-нітробензойною кислотою (ДБНК) [162]. Наважку тканини гомогенізували при 4 °С в гомогенізаторі з 2 об'ємами 1,15 % КСІ, екстракт центрифугували при 3000 об/хв протягом 5 хв, супернатант депротейнізували додаванням

аналогічного об'єму 4 % сульфосаліцилової кислоти і використовували для визначення відновленого глутатіону. Реакційна суміш містила 0,25 мл депротейнізованого супернатанта, 2,5 мл 0,1 М фосфатного буфера (pH=8,0). Реакцію запускали додаванням 0,25 мл 1 ммоль ДБНК. Оптичну щільність вимірювали через 15 хв спектрофотометрично при  $\lambda=340$  нм. Для перерахунку використовували коефіцієнт екстинції  $12,15 \text{ ммоль}^{-1}\text{см}^{-1}$ . Кількість відновленого глутатіону вказували в мкмоль/мг тканини.

*Вміст  $\alpha$ -токоферолу* вивчали за методом Р.Ш.Киселевич, С.И.Скварко [162]. Метод полягає у здатності  $\alpha$ -токоферолу до кольорової реакції в присутності 2,2'-діпіридилу і іонів трьохвалентного заліза. Інтенсивність забарвлення реєстрували спектрофотометрично (СФ-26) при  $\lambda=520$  нм. Вміст  $\alpha$ -токоферолу розраховували за попередньо побудованим калібрувальним графіком і вказували в мкмоль/г тканини.

Стан цитолітичних процесів в печінці оцінювали за активністю в сироватці крові маркерних ферментів цитолізу АлАТ, АсАТ.

*Визначення активності аланінамінотрансфераза (АлАТ), аспаратамінотрансфераза (АсАТ)* проводили за допомогою стандартних наборів виробництва науково-виробничої фірми "SIMKO Ltd" м. Львів.

Принцип: в основі наборів закладений уніфікований динітрофенілгідразановий метод Райтмана-Френкеля. В результаті переамінування, що відбувається під дією АлАТ і АсАТ, утворюються щавелевооцтова та піровиноградна кислоти, які при додаванні 2,4-динітрофенілгідразану утворюють в лужному середовищі забарвлені гідрозони, що мають максимум поглинання при довжині хвилі 500-560 нм.

Хід визначення АлАТ: в пробірку вносили 0,5 мл субстратного розчину для АлАТ, нагрівали при  $37^\circ\text{C}$  протягом 5 хвилин, додавали 0,1 мл сироватки і інкубували на водяній бані при  $37^\circ\text{C}$  30 хвилин. Додавали 0,5 мл розчину 2,4-динітрофенілгідразану і витримували протягом 20 хвилин при кімнатній температурі. Додавали 5 мл 0,4 моль/л розчину NaOH, ретельно перемішували і залишали для розвитку забарвлення на 10 хвилин при

кімнатній температурі. Вимірювали оптичну густина на спектрофотометрі або ФЕК при довжині хвилі 500-560 нм (зелений світлофільтр) в кюветі з товщиною шару 1 см проти холостої проби. По калібрувальній кривій знаходили значення активності АлАТ в сироватці крові. На осі ординат відкладали знайдену величину оптичної густини, на осі абсцис — вміст піровиноградної кислоти калібрувальної проби, виражений в мкмоль/млхгод.

Хід визначення АсАТ: в пробірку вносять 0,5 мл субстратного розчину для АсАТ, нагрівають при 37 °С протягом 5 хвилин, додають 0,1 мл сироватки і інкубують на водяній бані при 37 °С 30 хвилин. Подальший хід аналізу здійснювали також, як і при визначенні АлАТ [164].

*Функціональний стан печінки* оцінювали за жовчоутворювальною і жовчовидільною функцією печінки, які вивчали згідно методичним рекомендаціям [158, 165]. Для цього наприкінці експерименту тварин наркотизували 1 % розчином барбамілу, що не впливає на утворення жовчі. Жовч, яка утворювалась, збирали годинними порціями. Стан жовчоутворювальної функції печінки оцінювали за зміною інтенсивності жовчовиділення. Враховували швидкість секреції жовчі за кожну годину спостереження в мг/хв/100г за методом В. П. Мирошніченка і співавторів. Для оцінки синтетичної функції печінки в жовчі визначали концентрацію жовчних кислот і холестерину [164].

Антиоксидантні властивості препарату є одним з основних компонентів механізму його мембраностабілізуючої дії, у зв'язку з чим доцільно було дослідити мембранопротекторні властивості ГЕЯС. Найбільш зручними моделями в експериментальній фармакології для досліджень наявності мембранотропних ефектів у препаратів є мембрани еритроцитів.

*Мембраностабілізуючі властивості* різних доз ГЕЯС та препаратів порівняння оцінювали за їхньою здатністю до корекції гемолізу, який викликався на моделі перекисного гемолізу еритроцитів у щурів [166]. В досліджах використовували безпородних щурів-самців масою 200-220 г.



Мембранопротекторні властивості ГЕЯС досліджували в дозах 25 мг/кг; 50 мг/кг; 100 мг/кг; 150 мг/кг і 200 мг/кг, порівнюючи з дією референс-препаратів карсил в дозі 100 мг/кг і пепонен – 106 мг/кг. Всі фітозасоби вводили протягом 5 діб щодня внутрішньошлунково у вигляді водної суспензії з твіном-80, у той час як контрольні тварини отримували лише воду з твіном-80. На 5-ту добу досліду у всіх тварин брали кров з хвостової вени і визначали ступінь гемолізу еритроцитів в контрольній і дослідній групах. Згідно методу, до 2 мл 0,068 % розчину  $H_2O_2$  добавляли 2 мл 5 % суспензії еритроцитів і 0,16 мл 0,2 % розчину азиду натрія. Суспензію еритроцитів та розчини  $H_2O_2$  і азиду натрія готували на забуференому фізіологічному розчині з рН 7,4. Таким чином готували 2 дослідних зразка. Третя – контрольна проба – для визначення спонтанного гемолізу еритроцитів, містила ті ж об'єми суспензії еритроцитів і розчину азиду натрія, але замість перекису водня збішується рівний об'єм забуференого фізіологічного розчину з рН 7,4. Дослідну і контрольну пробу інкубували протягом 1 години при 37 °С. Для отримання 100 % гемолізу еритроцитів до однієї з дослідних проб добавляли 0,2 мл 4 % розчину сапоніна. Після інкубації всі (дослідна і контрольна) центрифугували 10 хвилин при 2000 об/хв. Надосадкову рідину використовували для визначення гемолізу. Для цього до 0,3 мл надосадкової рідини добавляли 2,7 мл трансформуючого розчину і гемоглобінціанідним методом визначали оптичну щільність при  $E_{541}$ , пропорційну кількості гемоглобіну в пробі.

Ступінь гемолізу (в %) розраховували за формулою:

$$A = (a - b)/(b - v),$$

де  $a$  – показник оптичної щільності дослідної проби  $E_{541}$ ;

$b$  – показник оптичної щільності при повному (100 %) гемолізі під впливом сапоніну;

$v$  – показник оптичної щільності контрольної проби – характеристика спонтанного гемолізу еритроцитів в умовах досліду.

Наявність антимікробної активності у фітозасобів, які використовують

при лікуванні простатиту різної етіології могла б бути важливим фактором їхнього лікувального ефекту. Тому актуальним вважалось з'ясування наявності у ГЕЯС антибактеріальної активності.

*Антимікробну активність* ГЕЯС досліджували методом “колодязів” [158]. Для цієї мети використовували тест-штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 885/653, *Streptococcus pyogenes* Dick I.

Мікробне навантаження склало  $10^7$  мікробних клітин на 1 мл середовища і встановлювалось за стандартом McFarland. До роботи брали 18-24-годинну культуру мікроорганізмів. Для досліджень використовували агар Мюллера-Хінтона.

Антимікробну активність відносно досліджуваної мікрофлори оцінювали за діаметром зони затримки зростання кожного мікроорганізму, що викликається випробуванням препаратом.

При оцінюванні антибактеріальної активності застосовували наступні критерії:

- відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки, а також зони затримки до 10 мм вказували на те, що мікроорганізм не чутливий до препарату;
- зони затримки росту діаметром 10-15 мм вказували на малу чутливість культури до препарату;
- зони затримки росту діаметром 15-25 мм розцінювали як показник чутливості мікроорганізму до препарату;
- зони затримки росту, діаметр яких перевищував 25 мм свідчив про високу чутливість мікроорганізму до препарату.

Для кожної тест-культури дослідження проводили шестиразово.

Враховуючи, що перебіг хронічного простатиту супроводжується значними змінами імунологічної резистентності організму, наявність супутньої імуноотропної дії у простатопротектора може бути умовою його

оптимального вибору.

*Імунотропні властивості ГЕЯС в умовах in vitro* оцінювалися за його впливом на трансформаційну і функціональну активність макрофагів периферичної крові в умовах in vitro [167, 168].

Первинні культури імунокомпетентних клітин одержували з гепаринізованої крові щурів шляхом відстоювання при температурі 4 – 8 °С. Мононуклеарні клітини крові культивували в середовищі 199 з 10 % фетальної сироватки. До живильного середовища додавали по 100 ОД/см натрієвої солі бензилпеніциліну та стрептоміцину, а також амфотеріцин В. ГЕЯС вносили до первинних культур імунокомпетентних клітин у кількості 10 мкг/мл, 25 мкг/мл, 50 мкг/мл і 100 мкг/мл та інкубували при 37 °С протягом 23 годин. З метою оцінки фагоцитарної активності макрофагів і їх попередників через 23 години культивування в культуру вносили референтний штам *Staphylococcus aureus-209P*, інактивований прогріванням. В якості контролю використовували реакцію макрофагальної трансформації мононуклеарів периферичної крові без додавання дослідних об'єктів. Оцінку імуномодулюючої дії ГЕЯС на імунокомпетентні клітини проводили за наступними показниками: ПМТМ - показник макрофагальної трансформації мононуклеарів; фагоцитарний індекс (ФІ); фагоцитарне число (ФЧ). Контроль включав постановку реакції макрофагальної трансформації мононуклеарів периферичної крові без додавання досліджуваного екстракту.

Подальше дослідження було проведене на моделях простатиту різного генезу з урахуванням відмінностей у будові ПЗ людини та щурів та особливостей перебігу самого захворювання.

Моделювання кріотравматичного простатиту у щурів здійснювали місцевим зрошуванням передньої поверхні ПЗ (перешийок та вентральні частини) протягом 5 секунд аплікатором для видалення бородавок фармзасобу «Вартнер». Вартнер® (Фармаспрей, Нідерланди) [169]. Це аерозоль, до складу якого входить ефір та пропан, який при нанесенні на поверхню шкіри, слизових оболонок та інших тканин викликає різке

охолодження останніх та розвиток кріотравматичного запалення.

При вивченні протатопротекторної дії фітозасобів в умовах кріотравматичного простатиту фітозасоби ГЕЯС в дозі 150 мг/кг та фітопрепарати порівняння трібестан в дозі 60 мг/кг і пепонен в дозі 106 мг/кг вводили щоденно, перорально, за три доби до та 11 діб після відтворення кріотравми. Тварини груп інтактного контролю і контрольної патології отримували еквівалентний об'єм дистильованої води. Кров для клінічного аналізу брали у тварин з хвостової вени. Евтаназію тварин здійснювали на 12-й день після кріотравми шляхом декапітації під легким ефірним наркозом.

Критеріями розвитку патологічного процесу та ефективності фармакокорекції кріогенного простатиту були характерні зміни гематологічних показників (лейкоцити, еритроцити, ШОЕ, Нь, С-реактивний білок), зміни оксидантно-антиоксидантного балансу в тканинах ПЗ та сироватці крові (вміст МДА, ДК, активність СОД, каталази, глутатіонредуктази, рівень відновленого глутатіону, вміст  $\alpha$ -токоферолу, рівень АФГ, КФГ,  $\text{NO}_x$ ), зміни маси ПЗ і сім'яних пухирців, інтегральних показників андрогенної насиченості організму (активність КФ, активність ЛФ, співвідношення КФ/ЛФ, вміст фруктози в СП та рівень тестостерону в сироватці крові), а також характерні зміни сперматогенезу.

Відомо, що у гризунів, зокрема у піддослідних щурів, будова ПЗ відрізняється від людської. При цьому різні відділи ПЗ є гетерогенними за морфологією, вмістом рецепторів, гормональною регуляцією та інволюцією при зниженні концентрації андрогенів. Вважається, що вентральна частина ПЗ є андрогенозалежною, а дорсолатеральна – переважно естрогенозалежною. На відміну від моделі кріогенного ураження простати, яка моделює розвиток простатиту переважно в вентральній ПЗ, модель з ректальним уведенням скипидару з димексидом відтворює розвиток простатиту в дорсолатеральній частці ПЗ. За даними літератури, ця модель простатиту супроводжується одночасним порушенням гемодинаміки, патологічними зсувами імунологічного профілю та затримкою

сечовиділення. Вона максимально відповідає клінічним проявам хронічного простатиту, а отже може широко використовуватись як для оцінки ефективності фармакотерапії, так і для скринінгу простатотропних лікарських речовин [169].

Відтворення скипидарної моделі хронічного абактерійного простатиту у щурів здійснювали одноразовим ректальним введенням 1,0 мл суміші 10 % димексиду і скипидару у об'ємному співвідношенні 4 : 1, де скипидар виступав в ролі флогогену, а димексид – як пенетрант, який сприяє посиленню ефекту скипидару за рахунок активації його проникнення через слизову оболонку кишки, а також є знеболюючим засобом. Перед введенням суміш струшували протягом 1 хв до утворення дрібнодисперсної емульсії. Емульсію вводили щурам на глибину 20-25 мм за допомогою спеціального пристрою (дозатора) для ректальних вливань, який забезпечував атравматичність процедури. Ця модель через 30 діб забезпечувала у 100 % тварин розвиток запального ураження ПЗ, яке супроводжувалось морфологічними змінами ПЗ та порушенням сечовидільної функції [169].

З лікувальною метою засоби фітокорекції – ГЕЯС, трібестан, пепонен вводили тваринам один раз на добу, внутрішньошлунково, починаючи з 30-ї доби після моделювання патології протягом наступних 30 діб у тих же дозах, що і за умов кріогенного простатиту.

За показниками спонтанного добового діурезу відповідно через 30 діб після введення флогогену визначали фонові значення, а через 60 діб - зміни уродинаміки тварин на фоні фармакотерапії. В добовій сечі за допомогою турбідиметричного методу визначали вміст білка.

Тварин виводили з експерименту на наступний день після останнього введення фітозасобів шляхом швидкої декапітації під ефірним наркозом.

Для оцінки тяжкості стану щурів використовували гістологічний контроль, зміни маси простати, прижиттєву оцінку діурезу, а також відповідні зміни показників крові, сечі, оксидантно-антиоксидантного балансу, інтегральних показників андрогенної насиченості організму та стану сперматогенезу.

Про стан *периферичної крові* судили за кількістю формених елементів (еритроцитів, лейкоцитів та тромбоцитів), швидкістю зсідання еритроцитів (ШЗЕ), вмістом гемоглобіну (Hb), які визначали загально-клінічними методами [164].

Для додаткової оцінки протизапальної дії фітозасобів в сироватці крові щурів визначали вміст С-реактивного білку за допомогою імунохімічних наборів «Іму-ЛА-Тест» виробництва «PLIVA-Lachema Diagnostika» (Чехія) (турбідиметричний метод).

Вміст *загального білка* в дослідних пробах визначали біуретовим методом [164]. Даний метод базується на тому, що білки, реагуючи в лужному середовищі з сульфатом міді, утворюють сполуки, забарвлені у фіолетовий колір. До 0,1 мл сироватки додають 5,0 мл робочого біуретового реактиву, змішують, уникаючи утворення піни. Через 30 хв (не пізніше, ніж через 1 год) виміряють оптичну густину на ФЕК в кюветі з товщиною шару 1 см, при довжині хвилі 540 — 560 нм (зелений світлофільтр) проти контролю. Контроль: До 50 мл, робочого біуретового реактиву додають 0,1 мл 0,9 % розчину хлористого натрію і далі обробляють, як дослід. Розрахунок ведуть по калібрувальному графіку.

При дослідженні впливу фітозасобів на стан інтегральних показників андрогенної насиченості організму в умовах ХП в тканинах ПЗ та в сироватці крові визначали зміни активності простатоспецифічної КФ, активності ЛФ, співвідношення КФ/ЛФ, вміст фруктози в СП та рівень тестостерону в сироватці крові.

*Активність кислої фосфатази (КФ) та лужної фосфатази (ЛФ)* вивчали за методом Боданського [170], та вираховували коефіцієнт КФ/ЛФ, який, як відомо, є одним з показників андрогенної насиченості організму.

*Вміст фруктози* в СП щурів визначали методом Бокуняєвої [171]. Для цього СП гомогенезували з 1 мл дистильованої води, потім послідовно додавали 2 мл 2 % розчину сульфату цинку ( $ZnSO_4$ ), 2 мл 0,1 N розчину гідроксиду натрію. Суміш підігрівали дві хвилини на киплячій водяній бані

та профільтрували через паперовий фільтр. Після чого до 0,5 мл фільтрату додали 0,5 мл розчину резорцину та 1,5 мл 30 % розчину соляної кислоти. Все змішали та розмістили на водяній бані при 80 °С на п'ять хвилин. Інтенсивність рожево–червоного забарвлення, що виникає при цьому, вимірювали на колориметі при зеленому світлофільтрі. Розрахунок кількості фруктози проводили за калібрувальним графіком, відтворюючи у ммоль/літр.

*Рівень тестостерону (Тс)* визначали в сироватці крові імуноферментним методом за допомогою стандартного комерційного імуноферментного набору «Стероид ИФА – тестостерон» фірми «Алкор Био».

Також проводилась гістологічна оцінка впливу препаратів на морфоструктуру ПЗ. Після виведення тварин з експерименту ПЗ видаляли, зважували, розраховували коефіцієнт відносно маси тіла тварини. Біоптати залози фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну, потім заливали в целоїдин-парафін для подальших дослідів.

Окрім того, враховуючи відомі дані літератури щодо можливості стимулюючого впливу деяких БАР, які входять до складу ГЕЯС (передусім стероїдних сапонінів), на статеву систему, було доцільним вивчити вплив цього фітозасобу на окремі показники сперматогенезу у щурів в умовах хронічного простатиту. Дослідження проводили відповідно до методичних рекомендацій [158]. У виведених з експерименту тварин одночасно з виділенням простати також видаляли сім'яники, визначали їх морфологічні показники. Для дослідження функціонального стану сперматозоїдів використовували суспензію сперматозоїдів, отриманих вздовж розрізаного хвостового придатку сім'яника у фізіологічному розчині. Показниками функції сперматозоїдів, які досліджувались за допомогою камери Горяєва були: концентрація сперматозоїдів (млн/мл суспензії); термін збереження рухливості (хв); відносна кількість патологічних форм сперматозоїдів (в %).

На сьогоднішній день відомо, що однією з ключових ланок у патогенезі

хронічного простатиту є порушення гемодинаміки та мікроциркуляції передміхурової залози [2-4]. Тому для оцінки простатопротекторної дії ГЕЯС було важливим оцінити його вплив на функціональний стан ендотелію судин в умовах скипидарного простатиту у щурів. Для оцінки функціонального стану ендотелію судин в крові тварин з ХП досліджували зміни вмісту S-нітрозотіолів (S-NO) та ендотеліну-1, які, як відомо, є фізіологічними маркерами відповідно вазодилатації та вазоконстрикції [162, 172], а також оцінювали зміни активності ендотеліальної та індукцйбельної синтази оксиду азоту.

*Вміст S-нітрозотіолів (S-NO)* визначали за різницею концентрації нітритів до та після окиснення нітрозотіольних комплексів до нітритів розчином ртуті згідно методики [173].

*Вміст ендотеліну-1* в крові вимірювали імуноферментним методом з використанням набору реагентів реактивів «R&D», США.

*Активність ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNO-синтази) та індукцйбельної синтази оксиду азоту (iNO-синтази)* визначали спектрофотометричним методом по приросту концентрації нітритів та нітратів в реакційній суміші [162, 174].

Для з'ясування участі імунних механізмів у забезпеченні лікувальної дії досліджуваних фітозасобів, у тварин з хронічним скипидарним простатитом досліджували їхній вплив на проліферативну активність лімфоцитів периферичної крові, функціональну активність нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові в спонтанному та індукованому НСТ-тесті, а також на фоні лікування оцінювали відповідні зміни вмісту імуноглобулінів класу А, М, G, рівня ЦІК і цитокінового профілю в сироватці крові.

Однією з об'єктивних характеристик, яка відображає функціональну активність лімфоцитів у забезпеченні репаративних процесів, є їх здатність до проліферації під впливом різних комітогенних факторів [175]. Одним з таких факторів, який широко використовується в експериментах, оскільки



здатний спричиняти специфічний лімфоцитаktivуючий вплив, передусім на Т-лімфоцити, є Кон А.

*Здатність лімфоцитів до проліферації* оцінювали за результатами проби з внутрішньошкірним введенням 0,1 мл Кон А в вухо щурів. Введення Кон А викликало комітогенний ефект, підсилюючи проліферативну активність лімфоцитів, яка оцінювалась за створенням інфільтрату у місці введення мітогену. Реакцію оцінювали через 48 годин шляхом зважування вуха з утвореним інфільтратом після введення Кон А і контрлатерального вуха. За ступенем збільшення ваги оцінювали мітогенний вплив Кон А і проліферативну активність лімфоцитів.

*Функціональний стан нейтрофілів* оцінювали за тестом редукції нітросинього тетразолія (НСТ-тест) [175]. В роботі використовували НСТ фірми «Serva», з якого готували 4 ммольярний розчин у 0,34 М сахарози. В якості активатора фагоцитів використовували ліпополісахарид *E. Coli Kroeger 08* («Biochem», Krakow).

Фактор конверсії вираховували за формулою:

$$\text{НСТ}_{\text{ф.к.}} = 6,6 \times 10^{-6} / \text{О}$$

А показник редукції вираховували за формулою:

$$\text{П}_{\text{НСТ}} = \text{О} \times \text{НСТ}_{\text{ф.к.}} / \text{К} \times \text{Т},$$

де  $\text{НСТ}_{\text{ф.к.}}$  константа редукції, коефіцієнт перерахунку оптичної щільності екстракту у вагові одиниці формагану;

$\text{П}_{\text{НСТ}}$  – показник інтенсивності відновлення НСТ ( $f_m \times \text{сек}^{-1}/10^3$  фагоцитів);

Т – тривалість інкубації (в сек);

К – кількість фагоцитуючих клітин в 0,5 мл крові;

О – оптична щільність діметилформамідного екстракту.

Екстракцію формагану здійснювали діметилформамідом і вимірювали фотометрично на СФ-46 при  $\lambda = 710$  нм.

Показники НСТ-тесту відображають не тільки стан кисеньзалежного метаболізму нейтрофілів, але й їх бактерицидну активність. Спонтанний

НСТ-тест вказує на рівень ендогенної активності фагоцитів, у той час як стимульований НСТ-тест відображає резервні можливості лейкоцитарної бактерицидної системи.

*Вміст основних класів сироваткових імуноглобулінів А, М, G* визначали стандартним турбідиметричним методом за допомогою автоматичного біохімічного аналізатора «Мікролаб 300» [176].

*Вміст ЦІК* в сироватці крові визначали методом, що ґрунтується на преципітації ЦІК з використанням 5 %-го розчину поліетиленгліколю [177].

*Концентрацію цитокінів ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-4 та ІЛ-10* досліджували в плазмі крові методом ферментного імуносорбентного аналізу (ELISA), використовуючи набори (ELISA Kits) фірми BioSource Int. (USA).

При впровадженні в клінічну практику нових лікарських засобів в Україні, в межах доклінічних досліджень обов'язковим є визначення параметрів їх гострої та хронічної токсичності. На підставі отриманих даних можна оцінити потенційну небезпеку досліджуваного препарату для організму в умовах одноразового та баготоразового введення та гарантувати безпеку наступних клінічних досліджень. Тому необхідним етапом роботи було вивчення загальнотоксичних властивостей зі встановленням ЛД<sub>50</sub> та вивченням хронічної токсичності ГЕЯС відповідно до вимог ДЕЦ МОЗ України [158].

З метою визначення показника ЛД<sub>50</sub> вивчали *гостру токсичність* ГЕЯС з використанням експрес-методу Т. В. Пастушенко і співавт. [178]. Дослідження проведене на 24 білих безпородних щурах обох статей масою 180-200 г. Щурів розділили на 4 групи, кожна з яких включала по 6 тварин. Згідно з методичними рекомендаціями ДЕЦ МОЗ України [158] при виборі доз для внутрішньошлункового введення лімітуючим показником у ході визначення ЛД<sub>50</sub> є максимальна доза четвертого класу токсичності (малотоксичні речовини) – 5000 мг/кг. Якщо за цих умов при введенні тваринам зазначеної дози не відбувається їхня загибель, то введення більшої дози є недоцільним. За добу до уведення досліджуваного фітозасобу щурів

позбавляли їжі. Тваринам дослідної групи ГЕЯС вводили натще в дозі 5000 мг/кг у вигляді суспензії одноразово внутрішньошлунково за допомогою металевого зонду. Тварини контрольної групи отримували аналогічний об'єм питної води. Після уведення фітозасобу у першу добу дослідів тварини знаходились під постійним наглядом. За тваринами спостерігали протягом наступних 14 діб, оцінюючи їх летальність, загальний стан та зміну маси тіла на 3-ю, 7-ту та 14-ту добу спостережень. Після виведення тварин з експерименту і виділення внутрішніх органів проводили їх макроскопічну оцінку, визначали масу та розраховували масові коефіцієнти внутрішніх органів. Клас токсичності визначали за класифікацією К. К. Сидорова [179].

*Хронічну токсичність* ГЕЯС при пероральному уведенні вивчали відповідно до методичних рекомендацій [158]. Досліди проводили на 20 білих нелінійних щурах обох статей масою 180-220 г, розподілених на 2 групи: 1-а група - інтактні тварини, які щоденно отримували відповідний об'єм питної води, та 2-а група – тварини, яким протягом 3 місяців один раз на добу внутрішньо-шлунково вводили ГЕЯС у вигляді суспензії в умовно-терапевтичній дозі 150 мг/кг.

Дослідження проводили в динаміці: на початку дослідів, через 30-ту, 60-ту, та 90-ту діб. Контролем була інтактна група та початкові показники самих тварин. Протягом всього експерименту тварини знаходились в однакових умовах на стандартному харчовому раціоні віварію. Показниками можливої токсичної дії препарату слугували: загальний стан і поведінка тварин, динаміка маси тіла, системи периферичної крові та функціональний стан печінки і нирок. Зважування щурів проводили через кожних 2 тижні. На 30-ту, 60-ту та 90-ту добу експерименту у піддослідних тварин досліджували поведінкову активність в тесті «відкрите поле», а також функціональний стан серця, печінки і нирок. Окрім того, у тварин забирали кров з хвостової вени для вивчення гематологічних показників та проведення біохімічних аналізів. У тварин загально-клінічними методами визначали вміст глюкози, загального холестерину, білірубіну, сечовини, креатиніну, білка плазми крові, а також

активність лужної фосфатази та аланін- і аспаратамінотрансфераза сироватки крові.

Функціональний стан серця піддослідних тварин оцінювали за показниками електрокардіограми. Електрокардіографію проводили у другому стандартному відведенні на тепловому одноканальному електрокардіографі – модель 060. Про скорочувальну здатність міокарду судили за змінами інтервалу R-R (сек), QRS (сек), QRST (сек), TP(сек), PQ(сек), висоті зубця R (мв). За інтервалом R-R розраховували частоту серцевих скорочень.

Функціональний стан печінки, а саме її детоксикуючі властивості, оцінювали за результатами тестової діагностичної проби «гексеналовий сон» [158]. Тваринам вводили 10 % водний розчин гексеналу у розрахунку 70 мг/кг в/очеревинно і фіксували швидкість настання та тривалість бокового положення тварини в хвиликах.

Функціональний стан нирок оцінювали за змінами вмісту сечовини і креатиніну в крові тварин, а також за наступними показниками (рН сечі, діурез (за 4 години) в мл, питома вага сечі в г/мл, білок сечі в г/л).

Статистичне опрацювання результатів дисертаційної роботи виконували за допомогою програмного забезпечення – табличного процесора «Microsoft Excel» і пакета прикладних програм «Statistica 12.0» («StatSoft», США). Для груп вираховували середні значення показників та їхні стандартні похибки ( $M \pm m$ , де  $M$  - середня величина,  $m$  - її стандартна похибка). Вірогідність розходження середніх величин оцінювали за допомогою парного критерію  $t$  Стьюдента або однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA. За відсутності нормального розподілу використовували U-критерій Манна-Вітні або ранговий критерій Краскела-Волліса. Внутрішньогрупові відмінності оцінювали за парним T-критерієм Вілкоксона. Відмінність вважали статистично значущою у разі  $P < 0,05$ .

## РОЗДІЛ 3

### ДОСЛІДЖЕННЯ СПЕКТРУ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ГЕЯС

#### 3.1. Скринінгові дослідження протизапальної активності ГЕЯС на моделі карагенінового набряку

Однією з головних вимог, що висувається при створенні сучасних лікарських форм, є забезпечення максимального терапевтичного ефекту. У зв'язку з цим нами проведена серія скринінгових досліджень щодо визначення найбільш оптимальної дози ГЕЯС, яка б забезпечувала максимальну фармакотерапевтичну активність.

Враховуючи провідну роль запалення в патогенезі ХП, а також базуючись на відомих літературних даних щодо використання фітозасобів з протизапальними властивостями, скринінгові дослідження з визначення найбільш ефективної дози були проведені на моделі карагенінового набряку з використанням доз ГЕЯС 50 мг/кг, 100 мг/кг, 150 мг/кг і 200 мг/кг та препарату порівняння диклофенака натрію - 8,0 мг/кг, оскільки цей засіб, як класичний інгібітор ЦОГ, найчастіше використовують як в експериментальних дослідженнях, так і в традиційній протизапальній терапії ХП [18, 87, 136, 152]. Модель карагенінового запалення відтворювали шляхом інтраплантарного уведення щурам 0,1 мл 1 % водного розчину каррагеніну (ICN, США).

Препарати вводили перорально за 1 годину до ін'єкції флаготропного агента. Контрольні тварини отримували еквівалентну кількість води. За розвитком набряку спостерігали в динаміці через 1, 2, 3, 6 і 24 години, для чого вимірювали об'єм лап за допомогою механічного онкометра. Активність препаратів оцінювали за спроможністю знижувати набряк у порівнянні з групою контрольної патології (КП) за формулою:

$$PA = (P_{KP} - P_d) / P_{KP} ,$$

де PA - протизапальна активність;

PKP - середня різниця між набряклою лапою та її вихідним розміром у групі КП, мм;

P<sub>d</sub> - середня різниця між набряклою лапою та її вихідним розміром у дослідній групі, мм.

Відомо, що карагенінове запалення супроводжується трьома фазами виділення медіаторів: перша фаза характеризується вивільненням гістаміну і серотоніну, друга – викидом кінінів. Простагландини виконують роль посередників пізньої фази запалення, яка за карагенінового набряку розвивається через 3 години. Максимальна концентрація ПГЕ<sub>2</sub> досягається через 12-24 години після уведення карагеніну. Активація третьої стадії запалення залежить від включення в процес системи комплементу [180]. Відома здатність окремих фенольних сполук впливати на синтез простагландинів у вогнищі запалення, та пригнічувати запальний процес, викликаний гістаміном і серотоніном [181]. Тому уявлялось актуальним дослідити вплив різних доз ГЕЯС, до складу якого входять фенольні сполуки, на протизапальну активність.

Результати дослідів показали, що на фоні відтворення карагенінової моделі запалення максимальний набряк враженої кінцівки у щурів реєструвався на 3 годину експерименту і становив (18,12±0,34) ум.од., зберігався до 6 год на рівні (17,20±0,41) ум.од. і через 24 години зменшувався до (10,31±0,46) ум.од., не досягаючи рівня інтактного контролю.

Попереднє введення ГЕЯС в різних дозах та диклофенаку натрію зменшувало інтенсивність запального процесу. При цьому протизапальна ефективність ГЕЯС в дозах 50 – 100 – 150 мг/кг прямо пропорційно залежала від дози фітозасобу. Через годину відтворення експерименту протизапальна активність ГЕЯС в дозі 50 мг/кг становила 23,6 %, в дозі 100 мг/кг – 49,9 %, в дозі 150 мг/кг – 54,2 %, в дозі 200 мг/кг – 53,1 %, тоді як протизапальний ефект диклофенаку натрія за аналогічних умов – 51,1 % (табл.3.1).

Таблиця 3.1.

**Протизапальна активність ГЕЯС і диклофенаку натрія на моделі карагінінового набряку у щурів ( $M \pm m$ ),  $n = 8$**

Термін спостереження (години)	Показник ум.од	Контрольна патологія	ГЕЯС 50 мг/кг	ГЕЯС 100 мг/кг	ГЕЯС 150 мг /кг	ГЕЯС 200 мг/кг	Диклофенак натрію 8 мг/кг
1 год	$M \pm m$	11,05±0,30	8,44±0,26* **	5,54±0,25*	5,06±0,15*	5,18±0,20*	5,40±0,30*
	ПА, %		23,6	49,9	54,2	53,1	51,1
2 год	$M \pm m$	16,96±0,23	14,53±0,30 ***	12,30±0,31 ***	7,31±0,31* **	7,88±0,33* **	6,02±0,24*
	ПА, %		14,3	27,5	56,9	53,5	64,5
3 год	$M \pm m$	18,12±0,34	16,13±0,44 ***	12,76±0,33 ***	11,31±0,24 ***	12,46±0,23 ***	5,77±0,28*
	ПА, %		11,0	29,6	37,6	31,2	68,2
6 год	$M \pm m$	17,20±0,41	15,30±0,39 ***	12,05±0,36 ***	10,34±0,20 ***	10,04±0,29 ***	5,48±0,33*
	ПА, %		11,0	29,9	39,9	41,6	68,1
24 год	$M \pm m$	10,31±0,46	7,91±0,20* **	5,46±0,40* **	4,43±0,27* **	4,20±0,32* **	3,45±0,32*
	ПА, %		23,3	47,0	57,0	59,2	66,5

Примітки:

- \* -  $P < 0,05$  порівняно з показником групи контрольної патології;
- \*\* -  $P < 0,05$  порівняно з групою, що отримувала диклофенак натрію.

Це свідчить, що на початкових етапах запального процесу за виразністю протизапального ефекту ГЕЯС в дозах 100 – 200 мг/кг не поступається препарату порівняння диклофенаку натрію.

На другу, і особливо третю годину експерименту, яка, як відомо, опосередкована, перш за все, продукцією простагландинів, ГЕЯС в усіх досліджуваних дозах також виявив досить чіткі протизапальні властивості, однак за виразністю протизапальної дії поступався перед диклофенаком

натрію. Зокрема через 3 години запального процесу, який характеризувався найбільшим набряком ураженої кінцівки у щурів ( $18,12 \pm 0,34$ ) ум.од, ГЕЯС в дозі 50 мг/кг зменшував його до ( $16,13 \pm 0,44$ ) ум.од, в дозі 100 мг/кг – до ( $12,76 \pm 0,33$ ) ум.од, в дозі 150 мг/кг – до ( $11,31 \pm 0,24$ ) ум.од, в дозі 200 мг/кг – до ( $12,46 \pm 0,23$ ) ум.од, порівняно з ефектом диклофенаку натрію – ( $5,77 \pm 0,28$ ) ум.од. Отже в періоді спостережень найбільших проявів запального процесу протизапальна активність ГЕЯС зі збільшенням дози поступово зростала в діапазоні доз від 50 мг/кг до 150 мг/кг. Водночас подальше збільшення дози ГЕЯС до 200 мг/кг не виявило додаткового підвищення протизапальної активності цього фітозасобу. При цьому протизапальна активність диклофенаку натрію у даному періоді спостережень виявилась суттєво вищою і становила 68,2 %, що підтверджує відомі дані про виняткову здатність цього НПЛЗ пригнічувати синтез простагландинів у вогнищі запалення. На пізніх етапах спостереження запального процесу, через 24 години нами також підтверджена наявність достатньо виразної протизапальної дії ГЕЯС, яка в дозі 50 мг/кг становила 23,3 %, в дозі 100 мг/кг – 47,0 %, в дозі 150 мг/кг – 57,0 %, і в дозі 200 мг/кг – 59,2 %, що лише незначною мірою поступалась перед диклофенаком – 66,5 % (рис.3.1).

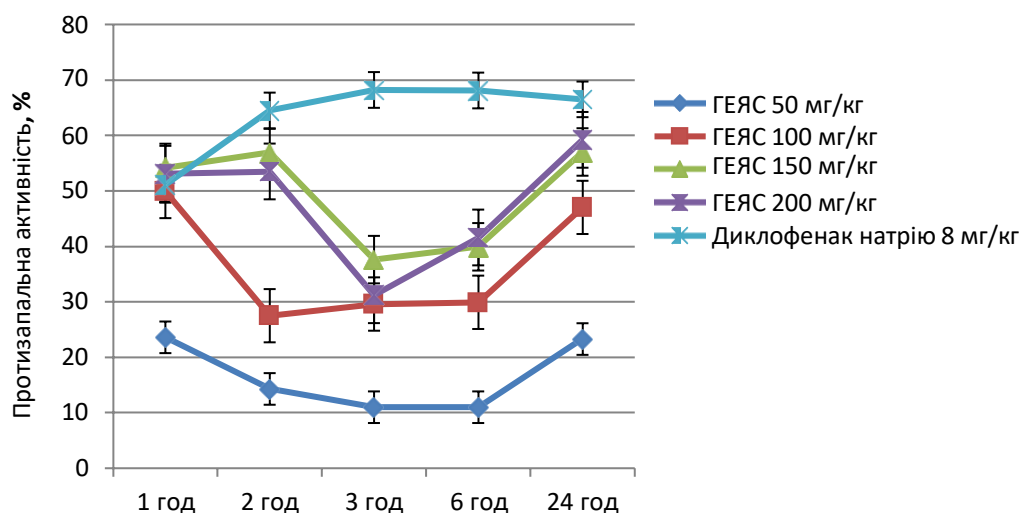


Рис.3.1. Динаміка протизапальної активності (в %) різних доз ГЕЯС і диклофенаку натрію (8 мг/кг) на моделі карагінінового набряку у щурів ( $M \pm m$ ),  $n = 8$



Отже, на моделі карагінінового запалення у щурів виявлена досить виразна протизапальна дія ГЕЯС, яка збільшується в діапазоні доз від 50 мг/кг до 150 мг/кг. Подальше підвищення дози ГЕЯС до 200 мг/кг суттєво не посилює протизапальні властивості цього фітозасобу.

На початкових етапах карагінінового запалення, яке, як відомо, відображає циклооксигеназні механізми запального процесу, антифлогістична активність ГЕЯС в дозах від 100 мг/кг до 200 мг/кг була співставна з аналогічним ефектом диклофенаку натрію в дозі 8,0 мг/кг, що вказує на високу здатність ГЕЯС в зазначених дозах пригнічувати активність циклооксигенази передусім за рахунок негативного впливу на виділення ранніх медіаторів запалення - біогенних амінів, таких як гістамін і серотонін, а також в меншій мірі, за рахунок пригнічення синтезу прозапальних простагландинів на більш пізніх етапах експерименту.

### **3.2. Дослідження протизапальної активності ГЕЯС на моделі зимозанового набряку**

Попередніми дослідженнями підтверджений гальмуючий вплив ГЕЯС на циклооксигеназні механізми розвитку запального процесу. Проте відомо, що в механізмах запалення важлива роль належить й ліпоксигеназам, активація яких супроводжується надлишковою продукцією лейкотриєнів – прозапальних білкових медіаторів [180]. При цьому особливе значення надається ферменту 5-ліпоксигеназі (5-ЛО). 5-ліпоксигеназний шлях метаболізму арахідонової кислоти відповідає за продукцію не тільки лейкотриєнів, але й моногідроксиеткозатетраєнових кислот та ліпоксинів [182]. Першим етапом синтезу лейкотриєнів є окиснення арахідоної кислоти через 5-ЛО. При цьому 5-ЛО піддається швидкому  $\text{Ca}^{2+}$ -залежному переміщенню з цитозолу до ядерної мембрани, де взаємодіє з 5-ЛО-активуєчим протеїном (5-ЛОАП). В експериментальних дослідженнях останніх років підтверджено, що 5-ЛО і 5-ЛОАП локалізуються на ядерній

оболонці, де й відбувається внутрішньоклітинний синтез лейкотриєнів. Спочатку утворюється нестабільний і неактивний ЛТА<sub>4</sub>, гідроліз якого призводить до утворення ЛТВ<sub>4</sub> з наступною біотрансформацією в ЛТС<sub>4</sub>, D<sub>4</sub> і E<sub>4</sub> [183].

Лейкотриєни володіють виразною вазо-, коронарореконструктивною, проагрегантною та аритмогенною дією. Вони сприяють утворенню вільних радикалів, акумуляції поліморфноядерних нейтрофілів – клітин зі значним прооксидантним, ліпоксигеназним та протеолітичним потенціалом [182, 183]. Виходячи з цього можливо передбачити, що антилейкотриєнові властивості різних сполук можуть лежати в основі розробки нових підходів в лікуванні запальних процесів, у тому числі й чоловічої статевої сфери.

В зазначеній серії експериментів досліджувалась порівняльна протизапальна активність ГЕЯС в різних дозах з референс-препаратами (диклофенак натрію – 8 мг/кг і класичний блокатор 5-ЛО корвітин – 10 мг/кг) на моделі зимозанового набряку, яка, як відомо, на початкових етапах відтворення (до 1 години) опосередковано відбиває активність ліпоксигенази, а на більш пізніх етапах – 2-а-3-я година експерименту – активність ліпоксигенази і циклооксигенази [158].

Результати досліджень показали, що уведення зимозану супроводжується розвитком виразного запального процесу у щурів. При цьому в динаміці розвитку запалення найбільше зростання набряку стопи спостерігалось в періоді 1-3 години спостережень. Вже на 6-ту годину після уведення флогогену величина набряку достовірно зменшувалась (табл.3.2).

Як і в попередніх дослідях з флогогеном карагеніном, профілактичне введення ГЕЯС в різних дозах, а також диклофенаку натрію та корвітину суттєво зменшувало інтенсивність запального процесу. При цьому протизапальна ефективність ГЕЯС була максимальною в дозах 100 – 200 мг/кг. Через годину відтворення експерименту протизапальна активність ГЕЯС в дозі 50 мг/кг становила 15,2 %, в дозі 100 мг/кг – 44,8 %, в дозі 150 мг/кг – 45,0 %, в дозі 200 мг/кг – 45,9 %, селективного блокатора 5-ЛО

корвітину в дозі 10 мг/кг – 50,9 %, тоді як протизапальний ефект диклофенаку натрію за аналогічних умов становив лише 25,3 %.

Це свідчить, проте що на початкових етапах запального процесу за виразністю протизапального ефекту ГЕЯС в дозах 100 – 200 мг/кг майже не поступається блокатору 5-ЛО корвітину і за своєю активністю фактично вдвічі переважає препарат порівняння диклофенак натрію (табл.3.2).

Таблиця 3.2.

**Протизапальна активність ГЕЯС, диклофенаку натрію і корвітину на моделі зимозанового запалення у щурів ( $M \pm m$ ),  $n = 8$**

Термін спостереження (години)	Показник ум.од	Контрольна патологія	ГЕЯС 50 мг/кг	ГЕЯС 100 мг/кг	ГЕЯС 150 мг/кг	ГЕЯС 200 мг/кг	Диклофенак натрію 8 мг/кг	Корвітин 10 мг/кг
1 год	$M \pm m$	20,10±0,36	17,05±0,26 ***	11,12±0,30 ***	11,06±0,25 ***	10,88±0,28 ***	15,02±0,33*	9,87±0,29 ***
	ПА, %		15,2	44,8	45,0	45,9	25,3	50,9
2 год	$M \pm m$	24,16±0,20	19,10±0,20 ***	12,39±0,33 *	12,00±0,39 *	11,68±0,30 *	12,08±0,19*	12,34±0,31*
	ПА, %		20,9	48,7	50,3	51,7	50,0	48,9
3 год	$M \pm m$	23,55±0,39	19,27±0,50 ***	14,06±0,23 ***	14,31±0,28 ***	14,06±0,29 ***	11,70±0,31*	12,55±0,44*
	ПА, %		18,2	40,3	39,2	40,3	50,3	46,7
6 год	$M \pm m$	18,31±0,40	16,06±0,33 ***	12,88±0,31 ***	11,34±0,29 ***	11,00±0,30 ***	9,50±0,30*	11,02±0,26* **
	ПА, %		12,3	29,7	38,1	39,9	48,1	39,8

Примітки:

- \* -  $P < 0,05$  порівняно з показником групи контрольної патології;
- \*\* -  $P < 0,05$  порівняно з групою, що отримувала диклофенак натрію.

Виразні протизапальні властивості ГЕЯС в дозах 100 – 200 мг/кг виявив і в інші терміни експерименту. Зокрема через 2 години після уведення зимозану протизапальна активність ГЕЯС в зазначених дозах була співзмірною з ефектами диклофенаку натрія і корвітину.

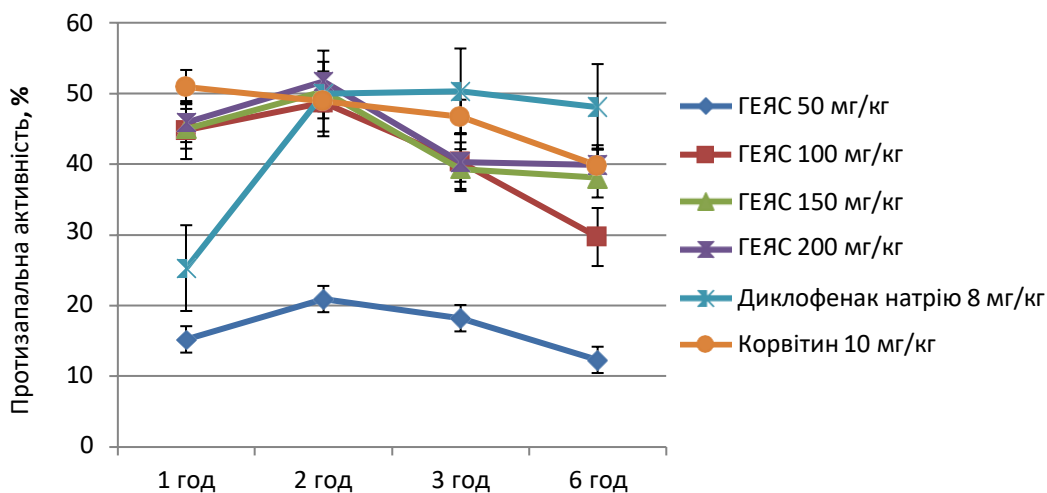


Рис.3.2. Динаміка протизапальної активності (в %) різних доз ГЕЯС, диклофенаку натрію і корвітину на моделі зимозанового набряку у щурів ( $M \pm m$ ),  $n = 8$

Через три години експерименту протизапальна активність ГЕЯС залишалась на достатньому рівні, але за виразністю дещо поступалась перед обома референс-препаратами. А через 6 годин спостережень ГЕЯС в дозі 50 мг/кг знижував запальний процес на 12,3 %, в дозі 100 мг/кг – на 29,7 %, в дозі 150 мг/кг – на 38,1 %, в дозі 200 мг/кг – на 39,9 %, тоді як протизапальна активність корвітину за аналогічних умов становила 39,8 %, а диклофенаку натрію – 48,1 % (рис.3.2).

Отже здатність до пригнічення зимозанового запалення у ГЕЯС зберігалась протягом усього терміну експерименту і була найвищою саме на початкових етапах (1-а година) після уведення цього флогогену, що вказує на здатність цих фітозасобів гальмувати також і ліпоксигеназний шлях метаболізму арахідонової кислоти. І за виразністю цього гальмуючого впливу у першу годину запалення препарат ГЕЯС не поступаються перед класичним блокатором 5-ЛО корвітином і переважає аналогічний ефект диклофенаку.

На більш пізніх етапах експерименту (3-я - 6-а година), який, як відомо, відображає й додатковий вплив фітозасобів на активність циклооксигенази, ефект диклофенаку натрію очікувано виявився вищим, що цілком відповідає

відомим механізмам протизапальної дії цього НПЛЗ, які пов'язані з його переважним впливом на синтез простагландинів, які за умов зимозанового запалення максимально продукуються саме у цьому періоді [158, 184].

Таким чином нами встановлено, що ГЕЯС спричиняє гальмуючий вплив на обидві ланки зимозанового запалення. При цьому протизапальна активність ГЕЯС в дозах від 100 до 200 мг/кг за даної моделі запалення виявилась співзмірною. Встановлена нами протизапальна активність ГЕЯС на моделях карагінінового і зимозанового запалення цілком відповідає існуючим уявленням про протизапальні властивості БАР, які входять до складу цих фітозасобів [10-13, 15,16, 18, 94, 122, 132, 154].

### **3.3. Дослідження протизапальної активності ГЕЯС на моделі формалінового набряку у щурів**

Формалінова модель запального процесу відображає деструкцію мембранних білків, що дозволяє поширити уявлення про механізми антиексудативної дії протизапального лікарського засобу, що досліджується. Отримані нами дані підтверджують значний вплив ГЕЯС на ексудативну фазу запалення та спроможність досліджуваного засобу стабілізувати мембрани клітин.

Встановлено, що через 1 год після введення формаліну в групах тварин, які отримували ГЕЯС у дозах від 100 до 200 мг/кг та препарати порівняння: диклофенак натрію у дозі 8 мг/кг, корвітин в дозі 10 мг/кг, було отримано майже однаковий протинабряковий ефект, що вказує на антиексудативну активність фітозасобу, яка пов'язана зі збереженням структурної цілісності мембрани, що призводить до зменшення судинної проникності.

Особливо виразний протинабряковий ефект ГЕЯС був нами виявлений в періоді 2-а -6-а година експерименту, коли розмір ураженої кінцівки тварин збільшувався фактично вдвічі. Через 6 годин після уведення флогогену протизапальна активність ГЕЯС в дозі 50 мг/кг становила 17,9 %, в дозі

100 мг/кг – 39,3 %, в дозі 150 мг/кг - 44,6 %, в дозі 200 мг/кг – 39,9 %, не поступаючись препарату порівняння диклофенаку натрію (45,4 %) і достовірно перевершувала за цим показником корвітин – 31,3 % (табл.3.3).

Таблиця 3.3.

**Протизапальна активність ГЕЯС, диклофенаку натрію і корвітину нана моделі формалінового набряку у щурів, (M±m), n = 8**

Термін спостереження (години)	Показник ум.од.	Контрольна патологія	ГЕЯС 50 мг/кг	ГЕЯС 100 мг/кг	ГЕЯС 150 мг/кг	ГЕЯС 200 мг/кг	Диклофенак натрію 8 мг/кг	Корвітин 10 мг/кг
1 год	M ± m	45,60±0,41	40,12±0,40***	38,18±0,44***	36,08±0,29*	34,80±0,41***	36,33±0,33*	39,80±0,29***
	ПА, %		12,0	16,3	20,9	23,7	20,3	12,7
2 год	M ± m	79,55±0,33	69,70±0,48***	60,74±0,65***	54,09±0,43*	55,18±0,58*	56,18±0,44*	60,77±0,51***
	ПА, %		12,4	23,6	32,0	30,6	29,4	23,6
3 год	M ± m	96,59±0,60	76,20±0,61***	64,12±0,43***	60,37±0,38***	61,17±0,41***	51,02±0,39*	70,14±0,60***
	ПА, %		21,1	33,6	37,5	36,7	47,2	27,4
6 год	M ± m	100,08±0,71	82,16±0,43***	60,71±0,38***	55,44±0,48*	60,11±0,38***	54,61±0,62*	68,13±0,48***
	ПА, %		17,9	39,3	44,6	39,9	45,4	31,9

Примітки:

1. - P<0,05 порівняно з показником групи контрольної патології;
2. . \*\* - P< 0,05 порівняно з групою, що отримувала диклофенак натрію.

Протинабрякова активність ГЕЯС в дозі 50 мг/кг в усі періоди спостережень виявилась нижчою, порівняно з іншими групами тварин.

Отже, на моделі формалінового запалення, в розвитку якого провідну роль відіграє білкова деструкція мембран, ГЕЯС в дозах від 100 до 200 мг/кг виявляє значну антиексудативну та мембраностабілізуючу активність, за виразністю якої фактично не поступається диклофенаку натрію і переважає корвітин (рис.3.3).

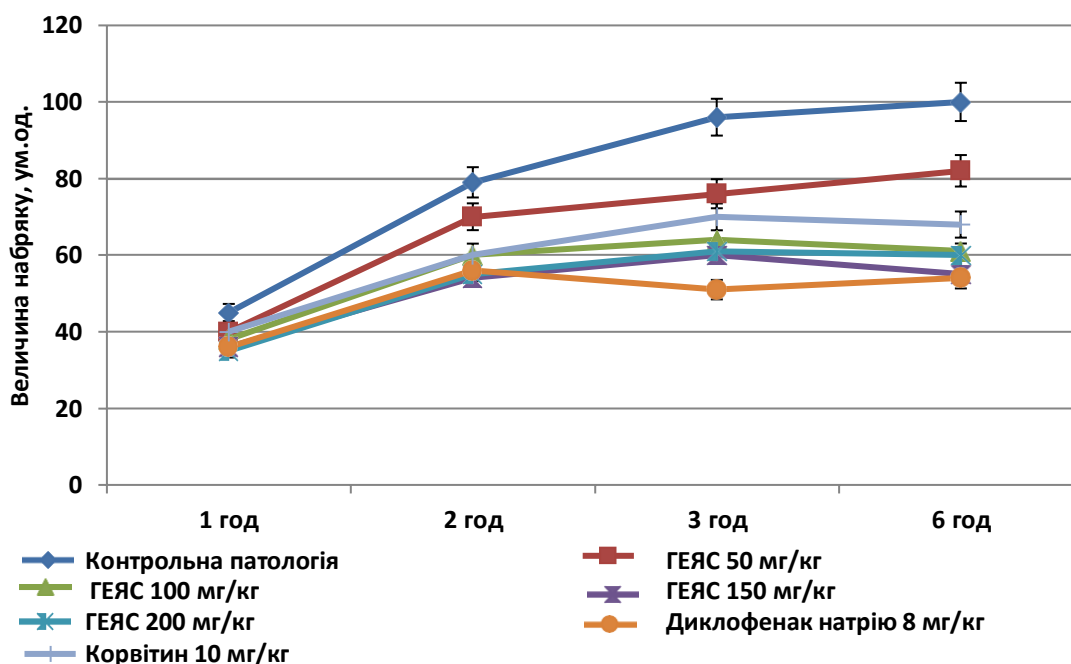


Рис. 3.3. Вплив ГЕЯС і препаратів порівняння на динаміку запального процесу на моделі формалінового набряку у щурів

Протизапальну дію ГЕЯС можливо пояснити наявністю у складі досліджуваного екстракту значної кількості фенольних сполук, зокрема флавоноїдів, сітостеролів [10-16, 19]. Механізм протизапальної дії цих фенольних сполук пов'язують з їх окиснювально-відновлювальним потенціалом, який, в свою чергу, відповідає за інгібування ЦОГ-1, ЦОГ-2 та 5-ЛО, що у свою чергу за умов надлишкової активації окиснювальних процесів може сприяти збереженню структурно-функціонального стану клітинних мембран [12, 16, 154, 181, 185].

#### 3.4. Дослідження аналгетичної дії ГЕЯС на моделі оцтовокислих корчів у щурів

Больовий синдром є одним з провідних в патогенезі простатиту. Тому доцільно було дослідити можливості впливу досліджуваних фітозасобів на зміни порогу больової чутливості в умовах експерименту. Дослідження

проводились на моделі оцтовокислих корчів у мишей, яка відтворює гостру вісцеральну біль і дозволяє оцінити вплив фітозасобів на периферичні механізми формування болю.

Таблиця 3.4.

**Порівняльна аналгетична активність різних доз ГЕЯС, диклофенаку натрію і пепонена на моделі оцтовокислих корчів у щурів ( $M \pm m$ ),  $n = 8$**

Показник		Група тварин						
		Контрольна патологія	ГЕЯС 50 мг/кг	ГЕЯС 100 мг/кг	ГЕЯС 150 мг/кг	ГЕЯС 200 мг/кг	Диклофенак натрію 8 мг/кг	Пепонен 106 мг/кг
Кількість корчів	$M \pm m$	40,21 ±2,82	33,22 ±2,50 ***	28,40 ±1,54 ***	18,14 ±2,69 *	26,17 ±3,10 ***	14,38 ±2,43*	30,07 ± 3,05 ***
Аналгетична активність	%		17,4	29,4	54,9	34,9	64,2	25,2

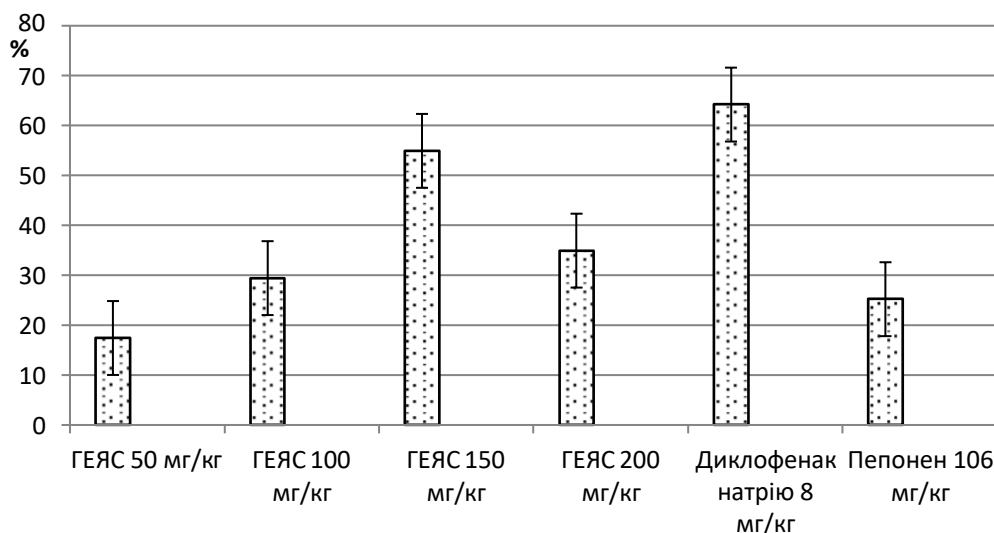
Примітки:

- \* -  $P < 0,05$  порівняно з показником групи контрольної патології;
- \*\* -  $P < 0,05$  порівняно з групою, що отримувала диклофенак натрію.

Аналіз отриманих результатів, наведених в таблиці 3.4 свідчить, що ГЕЯС в дозі 150 мг/кг володіє виразною аналгетичною активністю, що підтверджується більш ніж дворазовим зменшенням кількості корчів у тварин, які попередньо отримували цей фітозасіб. Аналгетична активність ГЕЯС в зазначеній дозі склала 54,9 % і за здатністю до зниження кількості корчів у мишей достовірно не відрізнялась від диклофенаку натрію ( $18,14 \pm 2,69$  у ГЕЯС проти  $14,38 \pm 2,43$  - у диклофенака натрію ( $P > 0,05$ )).

За здатністю зменшувати кількість корчів у тварин ГЕЯС в дозі 150 мг/кг був найбільш ефективним, порівняно з іншими дозами цього препарату, а також більш ніж удвічі перевершував за аналгетичною активністю фітозасіб порівняння пепонен в дозі 106 мг/кг, який широко використовують в терапії простатиту (рис.3.4).





**Рис. 3.4. Анальгетична активність ГЕЯС і препаратів порівняння на моделі оцтовокислих корчів у щурів, (%) ( $M \pm m$ ),  $n = 8$**

Отже, досліджуючи на різних моделях запалення порівняльний вплив фітозасобів і референс-препаратів на ексудативну фазу запального процесу, нами встановлено, що ГЕЯС в різних дозах – від 50 мг/кг до 200 мг/кг володіє досить виразними антиексудативними властивостями, які пов'язані з їхнім гальмівним впливом на ЦОГ, 5-ЛО та зменшенням деструкції мембранних білків. Найбільш значна антифлогістична дія ГЕЯС спостерігалась в діапазоні доз від 100 мг/кг до 200 мг/кг. На моделі карагінінового набряку досліджувані фітозасоби за протизапальною активністю дещо поступались перед диклофенаком натрія, перевершували активність цього НПВС на початкових етапах зимозанового набряку, знаходячись на рівні активності класичного інгібітора 5-ЛО корвітину, у той час як за умов відтворення формалінового набряку протизапальна активність ГЕЯС в зазначених дозах не поступалась перед диклофенаком і перевершувала аналогічний ефект корвітину.

Досліди показали, що збільшення дози ГЕЯС в діапазоні від 100 мг/кг до 200 мг/кг не супроводжується більш значним зростанням протизапальної активності фітозасобу, проте найбільш виразна анальгетична активність ГЕЯС на моделі оцтовокислих корчів була зафіксована саме в дозі 150 мг/кг.

Очевидно, що ця доза й була нами обрана для подальших досліджень, оскільки виходячи з провідної ролі запалення і болю в клінічному перебігу простатиту, могла б одночасно забезпечити максимальний протизапальний і аналгетичний ефект.

### **3.5. Вивчення антиальтеративної дії ГЕЯС на моделі асептичної дерматомної рани шкіри та репаративної дії на моделі лінійної різаної рани у щурів**

Експерименти проведено на нелінійних статевозрілих щурах обох статей, розбитих на групи, по 8 тварин в кожній. Лікування проводили шляхом щоденного одноразового уведення препаратів, починаючи з першого дня після відтворення асептичної рани і до повного закриття ранового дефекту. Ступінь лікувальної дії оцінювали на 7-му, 14-ту, 21-му та 28-му добу експерименту за динамікою зменшення площі рани та за терміном її повного загоєння.

Площу ран вимірювали безпосередньо після їх відтворення, а потім через кожні 7 діб до повного загоєння. На другу добу досліду у тварин, які отримували лікування, рани були сухі, а краї рани трохи набрякли. У нелікованих тварин набряк був більш виразнішим. Починаючи з третьої доби досліду в усіх групах тварин площа рани починала зменшуватися. Проте у тварин контрольної групи без лікування цей процес відбувався значно повільніше, ніж у щурів дослідних груп. Через 28 діб експерименту у тварин контрольної групи повне загоєння спостерігалось лише у 5 тварин, а у інших – площа ранової поверхні зменшувалась на 94,5 %. У той же час повне загоєння площинних ран шкіри на фоні лікування ГЕЯС у 2 тварин мало місце вже на 7-й добі експерименту, а через 14 діб повне загоєння спостерігалось у всіх тварин цієї групи. (табл.3.5).

Динаміка загоєння рани на фоні застосування корвітину була дещо повільнішою і повне загоєння асептичної площинної рани у тварин цієї групи

нами фіксувалось на 21-й добі спостережень, проте у 4 з 8 тварин цієї групи дерматомна рана загоїлась повністю вже на 14-ту добу спостереження .

Таблиця 3.5.

**Вплив ГЕЯС, диклофенаку натрію і корвітину на динаміку площі асептичної рани шкіри щурів, ( $M \pm m$ ) (n=8)**

Термін спостереження (доба)	Контроль (без лікування)		ГЕЯС 150 мг/кг		Диклофенак натрію 8 мг/кг		Корвітин 10 мг/кг	
	S, мм <sup>2</sup>	Динаміка (%)	S, мм <sup>2</sup>	Динаміка (%)	S, мм <sup>2</sup>	Динаміка (%)	S, мм <sup>2</sup>	Динаміка (%)
	400		400		400		400	
7	291,0 ±24,1	-27,2	149,4±12,5* (2)	-62,6	280,2±20,1	-29,8	168,4±15,0*	-57,9
14	145,4±18,8	-63,7	Рани загоїлись		167,8±17,3	-58,1	70,1±10,2* (4)	-82,5
21	62,3±7,8 (1)	-84,4			80,8±8,8	-79,8	Рани загоїлись	
28	20,1±4,2 (5)	-95,0			40,0±6,6* (4)	-90,0		

Примітка. \* - зміни достовірні по відношенню до контрольної групи тварин ( $P<0,05$ ); в дужках позначено кількість тварин з повним загоєнням рани.

На відміну від досліджуваних фітозасобів, уведення з лікувальною метою диклофенаку натрію не супроводжувалось прискоренням загоєння асептичної рани. На фоні застосування цього НПЛЗ площа загоєння ранової поверхні упродовж експерименту не відрізнялась від показників у нелікованій групі, а через 28 діб площа ранової поверхні у тварин, які отримували диклофенак дорівнювала ( $40,0 \pm 6,6$ ) мм<sup>2</sup> і вдвічі переважала цей показник у тварин, які лікування не отримували. При цьому лише у 4 з 8 тварин цієї групи спостерігалось повне загоєння рани, що вказує на здатність диклофенаку натрію гальмувати репаративні процеси в рані та відсутність у нього антиальтеративної дії.

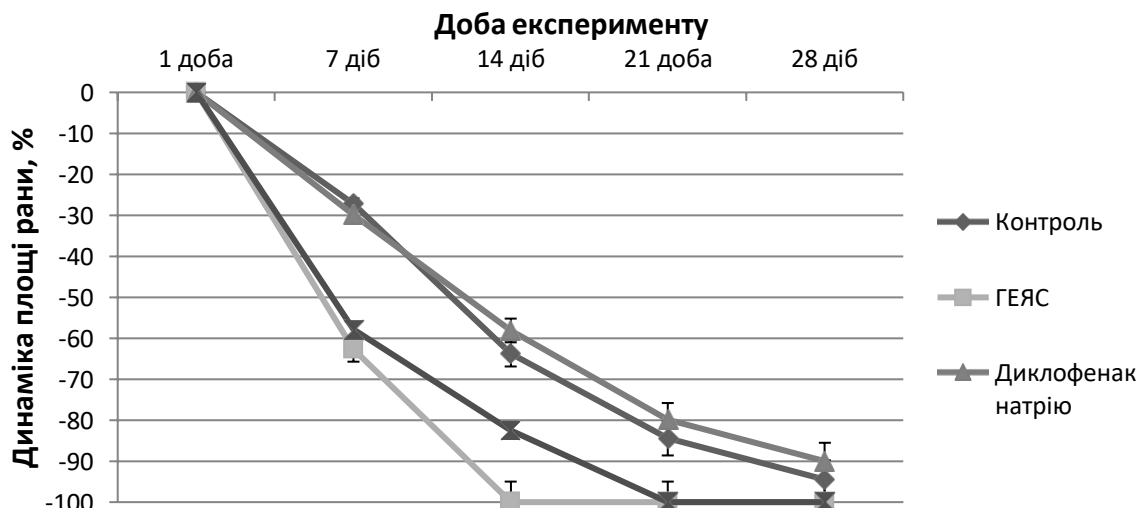


Рис. 3.5. Вплив ГЕЯС (150 мг/кг), диклофенаку натрія (8 мг/кг) і корвітину (10 мг/кг) на динаміку площі асептичної рани шкіри щурів, ( $M \pm m$ ) ( $n=8$ )

Це цілком узгоджується з відомими літературними даними щодо механізмів дії НПЛЗ, оскільки ці засоби, пригнічуючи проліферативні процеси сполучної тканини, можуть уповільнювати загоєння ран [186].

Таким чином, результати проведених дослідів показали, що ГЕЯС в дозі 150 мг/кг спричиняє антиальтеративну і ранозагоювальну дію на площинні асептичні рани шкіри у щурів. За виразністю антиальтеративної дії, яка оцінювалась за показником повного закриття ранового дефекту, ГЕЯС в дозі 150 мг/кг переважає препарат порівняння корвітин в дозі 10 мг/кг в 1,5 раза і скорочує удвічі термін епітелізації рани порівняно з контрольною групою. Диклофенак натрію антиальтеративною дією не володіє і уповільнює загоєння дерматомної асептичної рани (рис.3.5).

Результати дослідження порівняльної антиальтеративної дії препаратів цілком співставляються з їхнім впливом на загоєння асептичних лінійних різаних ран у щурів.

За час лікування різаних асептичних ран досліджуваними препаратами було встановлено, що більш повноцінне їх загоєння відбувалося у тварин, яких лікували ГЕЯС в дозі 150 мг/кг. За наведеними показниками

ранотензіометрії у тварин, які отримували ГЕЯС, міцність післяопераційного рубця через 7 діб спостережень збільшувалась на 56,5 % ( $P < 0,05$ ), а через 14 діб - відповідно на 71,1 % ( $P < 0,05$ )(табл. 3.6).

Таблиця 3.6.

**Вплив ГЕЯС, диклофенаку натрію і корвітину на міцність рубця неінфікованої рани шкіри щурів, ( $M \pm m$ ) (n=8)**

Термін спостереження (доба)	Контроль (без лікування)	ГЕЯС 150 мг/кг		Диклофенак натрію 8 мг/кг		Корвітин 10 мг/кг	
		Показник ранотензіометрії, г	Репаративна активність, %	Показник ранотензіометрії, г	Репаративна активність, %	Показник ранотензіометрії, г	Репаративна активність, %
7	191,7± 11,3	300,0± 16,7*	56,5	228,4± 20,3	19,1	255,1± 28,6*	33,1
14	418,0± 22,4	715,3± 34,4*	71,1	438,1± 28,6	4,8	560,2± 30,5*	34,0

Примітка. \* - зміни достовірні по відношенню до контрольної групи тварин ( $P < 0,05$ ).

Репаративна активність фітозасобу порівняння корвітину за даних умов виявилась дещо нижчою. Під впливом цього фітозасобу на 7-му та 14-ту добу експерименту репаративна активність зростала відповідно показників контрольної групи лише на 33,1 % та 34,0 % ( $P < 0,05$ ). Водночас застосування диклофенаку натрію, як і за умов попереднього дослідження, не виявило його позитивного впливу на швидкість загоєння та міцність післяопераційного рубця неінфікованої лінійної рани. Зміни репаративної активності диклофенаку натрію на даній моделі експерименту за результатами ранотензіометрії відносно показників контрольної групи, яка лікування не отримувала, носили недостовірний характер в усі терміни спостереження. Отже, за показником репаративної активності, яка вимірювалась через 7 діб після відтворення лінійної різаної рани ГЕЯС у 1,71 раза переважав корвітин і 2,96 раза диклофенак натрію, через 14 діб репаративна активність ГЕЯС

переважала лікувальний ефект корвітину у 2,09 раза, а диклофенаку натрію – відповідно у 14,81 раза ( $P < 0,05$ ).

Таким чином, результати проведеної роботи дають підстави стверджувати, що ГЕЯС володіє достатньо виразною антиальтеративною і репаративною активністю, за величиною якої, як на моделі неінфікованої площинної, так і лінійної різаної рани в усі терміни експерименту суттєво переважає лікувальний ефект диклофенаку натрію та фітозасобу порівняння корвітину.

### **3.6. Дослідження антипроліферативної дії ГЕЯС на моделі ватної гранульоми у щурів**

Вивчення антипроліферативної активності відбувалося на моделі ватної гранульоми, яка була викликана імплантацією під шкіру спини щурів стерильної ватної кульки певної маси [158]. Експеримент проводили на 32 щурах по 8 тварин у групі. Дослідні речовини вводили внутрішньошлунково щоденно. У групі тварин контрольної патології спостерігали, що імплантація ватної кульки стандартної маси (20 мг) під шкіру викликала інтенсивне утворення грануляційної тканини навколо неї, що призводило до збільшення маси кульки у середньому до  $(51,8 \pm 3,2)$  мг. Це свідчило про активацію проліферативних процесів у відповідь на імплантацію чужорідного тіла.

Результати досліджень показали, що у групі тварин, яким вводили ГЕЯС в дозі 150 мг/кг, спостерігали зниження активності проліферативних процесів, про що свідчило достовірне зменшення в 1,36 раза маси ватної кульки з проліферативною тканиною порівняно з показником групи контрольної патології. У тварин, які отримували корвітин, маса гранульом відповідно зменшувалась на 28,0 % ( $P < 0,05$ ), у той час як антипроліферативна активність диклофенаку натрію за умов експерименту склала 39,8 % (табл.3.7).

Таблиця 3.7.

**Антипроліферативна активність ГЕЯС і препаратів порівняння на моделі ватної гранульоми у щурів ( $M \pm m$ ) (n=8)**

Група тварин	Доза, мг/кг	Показники	
		Маса гранульом, мг	Антипроліферативна активність, %
Контрольна патологія		51,8±3,2	-
ГЕЯС	150	38,1±2,7*	26,4
Диклофенак натрію	8	31,2±2,5*	39,8
Корвітин	10	37,3±3,0*	28,0

Примітка. \* - ( $P < 0,05$ ) відносно групи контрольної патології.

Отже, обидва фітозасоби за умов експерименту виявили помірну АПА, знижуючи утворення фіброзно-грануляційної тканини, але поступались за виразністю цієї дії перед диклофенаком натрію.

### 3.7. Вивчення антиоксидантних властивостей ГЕЯС за умов Fe<sup>2+</sup>-індукованого ПОЛ у системі жовткових ліпопротеїдів

Окисний стрес і запалення – фактори, які нерозривно пов'язані між собою та є невід'ємною частиною у патогенезі простатитів різної етіології. Окисний стрес викликає запалення, яке, в свою чергу, посилює процеси ПОЛ. Враховуючи, що основний субстрат ліпідної пероксидації є ненасичені жирні кислоти (обов'язковий компонент біологічних мембран), негативні наслідки реакцій ПОЛ віддзеркалюються на стані всіх без виключення клітинних мембран [42, 47, 48, 156, 187].

Антиоксидантну активність ГЕЯС визначали *in vitro* в модельній системі жовткових ліпопротеїдів (ЖЛП) за його здатністю гальмувати накопичення ТБК-активних продуктів, порівнюючи з антиоксидантною

активністю  $\alpha$ -токоферолу, який в дозі 8 мкг/мл традиційно використовують як препарат порівняння в аналогічних дослідженнях [160, 161]. Стан ПОЛ визначали за кількістю накопичених у зразку продуктів, що утворилися в результаті  $Fe^{2+}$ -індукованого ПОЛ і реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою. Результати експерименту наведено в таблиці 3.8.

Таблиця 3.8.

**Вплив ГЕЯС на рівень ТБК-активних продуктів при  $Fe^{2+}$ -індукованому ПОЛ в суспензії ЖЛП (n=8)**

Речовини	Пригнічення ПОЛ (%)				
	Концентрація речовин, мкг/мл				
	5	8	10	15	20
$\alpha$ -токоферол		51,4 $\pm$ 4,6			
ГЕЯС	20,1 $\pm$ 1,9*	37,0 $\pm$ 4,1*	40,8 $\pm$ 3,2*	53,8 $\pm$ 5,0	77,6 $\pm$ 5,1*

Примітка. \* -  $P < 0,05$  порівняно з показником пригнічення ПОЛ  $\alpha$ -токоферолом в дозі 8 мкг/кг.

Враховуючи вищенаведені дані, можна зробити висновок про те, що ГЕЯС за умов *in vitro* здійснює гальмівний ефект на процеси ПОЛ, що призводить до зниження концентрації продуктів, які реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою: ступінь інгібування в концентрації 5 мкг/мл складає (20,1 $\pm$ 1,9) %; в концентрації 8 мкг/мл – (37,0 $\pm$ 4,1) %; в концентрації 10 мкг/мл – (40,8 $\pm$ 3,2) %; та в концентрації 15 мкг/мл і 20 мкг/мл – (53,8 $\pm$ 5,0) % і (77,6 $\pm$ 5,1) % відповідно. Таким чином, ГЕЯС в умовах *in vitro* виявляє антиоксидантні властивості, виразність яких зростає при збільшенні дози фітозасобу. В еквівалентних дозах (8 мкг/мл) цей фітозасіб поступається перед  $\alpha$ -токоферолом, в дозі 15 мкг/мл антиоксидантна активність ГЕЯС і  $\alpha$ -токоферолу (8 мкг/мл) є співзмірною, а в дозі 20 мкг/мл ГЕЯС має потужніший антиокиснювальний потенціал, ніж у препарату порівняння у 1,51 раза ( $P < 0,05$ ) (табл. 3.8).



Це свідчить про те, що окремі біологічно активні речовини, які входять до складу ГЕЯС (комплекс фенольних сполук, флавоноїди, стероїдні сполуки тощо) можуть спричиняти пряму антиоксидантну дію за рахунок їхньої безпосередньої взаємодії з вільними радикалами, які накопичуються під впливом  $Fe^{2+}$  в середовищі ЖЛП.

### **3.8. Вивчення антиоксидантної активності ГЕЯС на моделі токсичного тетрахлорметанового гепатиту у щурів**

Тетрахлорметан є класичним мембранотропним токсином, механізм токсичної дії якого безпосередньо пов'язаний з активацією вільнорадикального окиснення в мембранах гепатоцитів. Він піддається мікосомальному окисненню за участі цитохрому P-450 з утворенням алкільних інтермедіатів і вільних радикалів, які здатні до індукції ПОЛ і модифікації біомолекул, що супроводжується важким ураженням печінки з проявами синдромів цитолізу, холестазу, мезенхімального запалення, жирової дистрофії та печінкової недостатності [188].

Тому модель токсичного тетрахлорметанового гепатиту традиційно використовують для оцінки мембранопротекторних і антиоксидантних властивостей сполук, що досліджуються [158].

Результати досліджень показали, що відтворення токсичного гепатиту у щурів супроводжується виразною активацією процесів вільнорадикального окиснення на тлі глибокого пригнічення всіх ланок АОС. Вміст МДА в печінці та сироватці крові на 7-й день після уведення токсину збільшувався відносно інтактних тварин відповідно на 156,4 % і 125,0 %, ДК – відповідно на 120,2 % і 170,4 %, активність СОД в печінці зменшувалася на 62,2 %, каталази на 48,0 %, глутатіонредуктази – на 56,2 % ( $P < 0,05$ ). Вміст відновленого глутатіону та рівень  $\alpha$ -токоферолу склав при цьому відповідно лише 42,5 % ( $P < 0,05$ ) та 54,5 % ( $P < 0,05$ ) від абсолютного значення цих показників в тканинах печінки інтактних тварин (табл.3.9).

Таблиця 3.9

**Порівняльний вплив фітозасобів на показники оксидантно-антиоксидантного балансу в печінці та сироватці крові у щурів на моделі токсичного тетрахлорметанового гепатиту ( $M \pm m$ ) (n=8)**

Показник	Інтактна група	Контроль на патологія	Засоби корекції		
			ГЕЯС	Карсил	Пепонен
Вміст МДА, мкмоль/г	50,2±3,1	128,7±7,9*	83,0±5,3*#	80,0±4,1*#	98,7±4,4*#
Вміст МДА, мкмоль/л	0,48±0,03	1,08±0,08*	0,75±0,06*#	0,77±0,05*#	0,93±0,07*
Вміст ДК, мкмоль/г	4,10±0,40	9,03±0,71*	5,70±0,38*#	6,21±0,50*#	8,02±0,68*
Вміст ДК, мкмоль/л	0,071±0,006	0,192±0,016*	0,104±0,011*#	0,128±0,013*#	0,166±0,013*
Активність СОД, ум.од./мг білка	13,5±0,4	5,1±0,4*	9,7±0,4*#	8,7±0,6*#	6,2±0,5*#
Активність каталази, ммольН <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /хв·г білка	2,04±0,18	1,06±0,08*	1,76±0,13*#	1,70±0,09*#	1,27±0,08*#
Глутатіонредуктаза, мкмоль/хв./мг білка	0,13±0,010	0,057±0,005*	0,108±0,008#	0,098±0,004*#	0,077±0,005*#
Глутатіон відновлений, мкмоль/г	0,120±0,010	0,051±0,007*	0,094±0,006*#	0,080±0,006*#	0,064±0,006*
Вміст α-токоферолу, мкмоль/г	0,55±0,03	0,30±0,05*	0,49±0,04#	0,44±0,06*#	0,35±0,04*

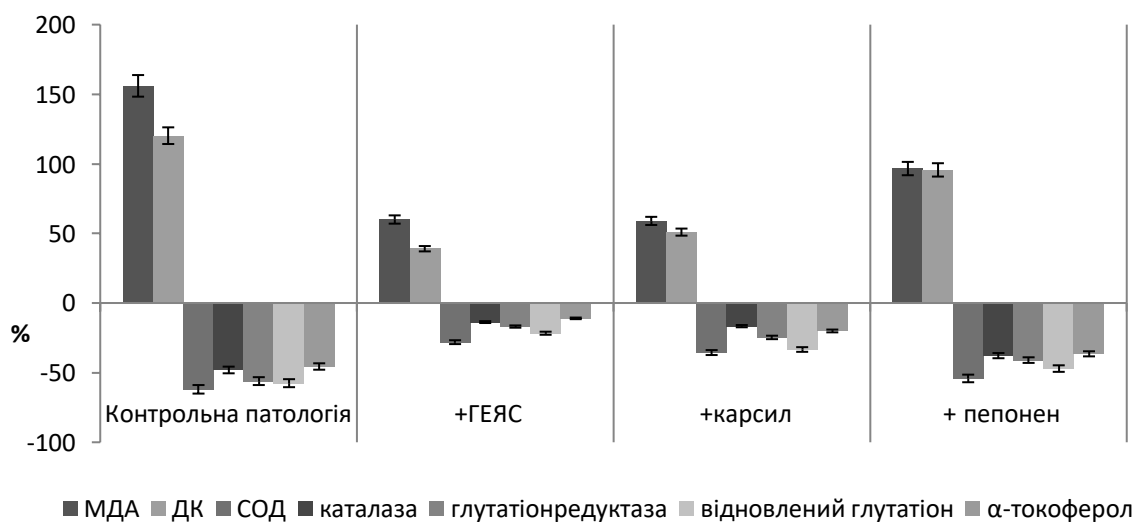
Примітки:

1. \* - (P < 0,05) порівняно з інтактною групою;
2. # - (P < 0,05) порівняно з контрольною групою.

Отже, такі виразні зрушення в системі ПОЛ-АОС можуть бути обумовлені не лише розвитком індукованого оксидативного стресу, але й одночасним виснаженням резервів антирадикального захисту організму. Наслідком підсилення процесів ПОЛ є деструкція мембран гепатоцитів, цитоліз та ферментемія, про що свідчить достовірне збільшення в сироватці крові тварин контрольної патології рівня АлАТ у 2,03 раза, а АсАТ – у 1,95 раза відповідно (табл.3.10).

Безсумнівно, що виявлені порушення оксидантно-антиоксидантного гомеостазу вкрай негативним чином позначилися на функціональній активності печінки, зокрема на її жовчоутворювальній функції: швидкість секреції жовчі зменшувалась у 10,6 раза, при цьому вміст холестерину і жовчних кислот в жовчі нелікованих тварин знижувався відповідно на 41,5 % та 44,4 % ( $P < 0,05$ ) (табл.3.11).

Дослідження показали, що застосування ГЕЯС в дозі 150 мг/кг найбільш радикально запобігало накопиченню продуктів ПОЛ та виснаженню резервів структурних і ферментних антиоксидантів. Завдяки профілактичному уведенню цього фітозасобу рівень МДА в печінці і сироватці крові за умов патології зростав лише на 65,3 % та 56,2 %, вміст ДК – лише на 39,0 % і 46,5 % відповідно ( $P < 0,05$ ) (рис.3.6).



**Рис.3.6. Порівняльний вплив фітозасобів на зміни показників ПОЛ і АОС в печінці у щурів на моделі токсичного тетрахлорметанового гепатиту (в % відхилення від показників інтактної групи)**

Як наслідок, у тварин, які профілактично отримували ГЕЯС, резерви антиоксидантної системи залишались найбільш потужними: активність СОД перевершувала відповідний показник нелікованої групи у 1,90 раза, активність каталази – у 1,66 раза, активність глутатіонредуктази – у 1,89

раза, вміст відновленого глутатіону – у 1,84 раза, а рівень  $\alpha$ -токоферолу залишався практично на фізіологічному рівні, незважаючи на те, що у нелікованих тварин він зменшувався на 45,5 % - від  $(0,55 \pm 0,03)$  мкмоль/г до  $(0,30 \pm 0,05)$  мкмоль/г ( $P < 0,05$ ).

Профілактичний вплив класичного гепатопротектора рослинного походження карсилу також виявив здатність цього фітозасобу до ефективної корекції порушень оксидантно-антиоксидантного гомеостазу в тканинах печінки уражених щурів. За здатністю до корекції більшості досліджуваних показників ПОЛ/АОС карсил практично не поступався перед ГЕЯС.

Проте ГЕЯС в умовах експерименту більш ефективно, ніж карсил, стабілізував показники ферментемії, зменшуючи її до мінімуму (рис.3.7).

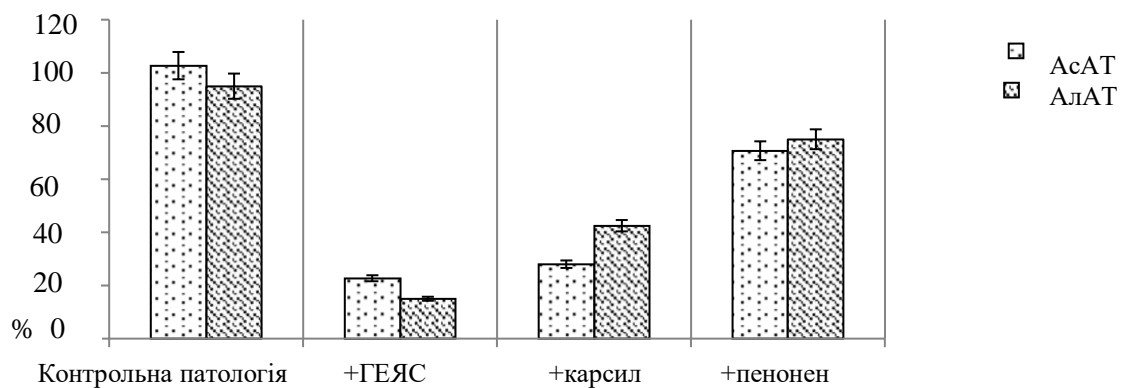


Рис.3.7. Зміни показників ферментемії в сироватці крові щурів на фоні тетрахлорметанового гепатиту і його корекції фітозасобами, % ( $M \pm m$ ) ( $n=8$ )

Таблиця 3.10.

**Порівняльний вплив фітозасобів на активність трансаміназ сироватки крові у щурів на моделі токсичного тетрахлорметанового гепатиту ( $M \pm m$ ) ( $n=8$ )**

Показник	Інтактна група	Контроль на патологія	Засоби корекції		
			ГЕЯС, 150 мг/кг	Карсил, 100 мг/кг	Пепонен, 106 мг/кг
АсАТ, ммоль/л год	$0,75 \pm 0,05$	$1,52 \pm 0,10^*$	$0,92 \pm 0,05^{* \#}$	$0,96 \pm 0,07^{* \#}$	$1,28 \pm 0,11^*$
АлАТ, ммоль/л год	$0,40 \pm 0,04$	$0,78 \pm 0,04^*$	$0,46 \pm 0,04^{\#}$	$0,57 \pm 0,05^{* \#}$	$0,70 \pm 0,06^*$

Примітки:

1. \* - ( $P < 0,05$ ) порівняно з інтактною групою;
2. # - ( $P < 0,05$ ) порівняно з групою контрольної патології.

Зокрема під впливом ГЕЯС активність маркерного ферменту цитолізу АЛАТ зменшувалась з  $(0,78 \pm 0,04)$  ммоль/л год до  $(0,46 \pm 0,04)$  ммоль/л год, а під впливом карсилу – лише до  $(0,57 \pm 0,05)$  ммоль/л год, порівняно з  $(0,40 \pm 0,04)$  ммоль/л год у інтактних щурів ( $P < 0,05$ ) (табл.3.10).

Проте карсил в дозі 100 мг/кг, як і ГЕЯС в дозі 150 мг/кг достовірно покращував показники зовнішньосекреторної функції печінки, порушені в умовах токсичного гепатиту.

Більш активно, порівняно з обома референс-препаратами, ГЕЯС коригував й порушення з боку показників функціонального стану печінки. Зокрема ГЕЯС збільшував у тварин з експериментальним гепатитом швидкість секреції жовчі більш ніж у 7,5 рази – з  $0,27 \pm 0,05$  до  $2,03 \pm 0,20$  (мг/хв/100 г) та зберігав в умовах патології на високому рівні вміст жовчних кислот (90,6 %) ( $P < 0,05$ ) та холестерину (92,5 %) ( $P > 0,05$ ) відносно інтактної групи, що вказує на відновлючий вплив цього фітозасобу на жовчоутворювальну та жовчовидільну функцію печінки (табл.3.11).

Таблиця 3.11.

**Вплив ГЕЯС і фітозасобів порівняння на показники функціонального стану печінки у щурів на моделі токсичного тетрахлорметанового гепатиту ( $M \pm m$ ) (n=8)**

Показник	Інтактна група	Контрольн а патологія	Засоби корекції		
			ГЕЯС 150 мг/кг	Карсил 100 мг/кг	Пепонен 106 мг/кг
Швидкість секреції жовчі (мг/хв/100 г)	$2,87 \pm 0,45$	$0,27 \pm 0,05^*$	$2,03 \pm 0,20^{* \#}$	$0,88 \pm 0,16^{* \#}$	$0,34 \pm 0,04^*$
Жовчні кислоти, мг%	$684,0 \pm 9,4$	$380,4 \pm 6,8^*$	$619,7 \pm 7,9^{* \#}$	$550,2 \pm 6,9^{* \#}$	$419 \pm 10,9^{* \#}$
Вміст холестерину в жовчі (ммоль/л)	$0,53 \pm 0,038$	$0,31 \pm 0,017^*$	$0,49 \pm 0,015^{\#}$	$0,43 \pm 0,016^{* \#}$	$0,34 \pm 0,022^*$

Примітки:

1. \* - ( $P < 0,05$ ) порівняно з інтактною групою;
2. # - ( $P < 0,05$ ) порівняно з контрольною групою.

Таким чином, ГЕЯС в дозі 150 мг/кг виявив на обраній моделі токсичного гепатиту виразну гепатопротекторну дію.

На відміну від ГЕЯС і карсилу, коригуючий вплив пепонену в дозі 100 мг/кг на показники окисного балансу, цитолізу та секреторного стану печінки уражених тетрахлорметаном тварин виявився незначним. Лікування цим фітозасобом лише незначною мірою коригувало окремі показники окисдантно-антиоксидантного балансу в печінці та сироватці крові тварин, уражених тетрахлорметаном. При цьому рівень ферментемії фактично залишався таким же, як і у тварин контрольної патології: АсАТ -  $1,28 \pm 0,11$  проти ( $1,52 \pm 0,10$ ) ммоль/л\*год ( $P > 0,05$ ); АлАТ -  $0,70 \pm 0,06$  проти ( $0,78 \pm 0,04$ ) ммоль/л год у нелікованих тварин ( $P > 0,05$ ).

На відміну від лікувальних ефектів ГЕЯС та карсилу, уведення цього фітозасобу також не сприяло відновленню жовчновидільної функції печінки, яка за показниками швидкості секреції жовчі, змінами вмісту холестерину та жовчних кислот в жовчі достовірно не відрізнялась від показників тварин контрольної патології, що вказує на практично відсутність у цього фітозасобу в дозі 100 мг/кг гепатопротекторних властивостей на даній моделі гепатиту.

Отже, отримані результати свідчать про виразні антиоксидантні властивості ГЕЯС в умовах модельованої патології, за якими цей фітозасіб не лише перевершує за ефективністю лікувальної дії препарат порівняння пепонен, але й класичний гепатопротектор з відомою антиоксидантною активністю карсил. Це цілком узгоджується з підтвердженими антиоксидантними властивостями комплексу фенольних і стероїдних сполук, що входять до складу ЛРС якрців сланких [13, 16, 89, 94, 116, 122, 131, 132, 137].

**3.9. Вивчення антиоксидантних властивостей ГЕЯС в умовах *in vitro* за інгібуванням окисної модифікації білка**

Для більш детальної і поглибленої оцінки антиоксидантних властивостей ГЕЯС додатково визначали його вплив на ОМБ, оскільки відомо, що зазвичай продукти ПОЛ нейтралізуються досить швидко, тоді як окиснені білки піддаються руйнації протягом тривалого часу. ОМБ є однією з ознак окиснювального стресу, а окисна модифікація білкових структур клітин призводить до порушення мембранного потенціалу та процесів деполяризації, десенситизації рецепторів, метаболізму клітини, мітохондріальної дисфункції, надалі до ініціації апоптозу [42, 47, 48, 173, 187]. Результатом окиснювальної деструкції білків є порушення їх нативної структури. Може відбуватись фрагментація білків, маркерами якої є альдегіднітрофенілгідрозони, і агрегація білків, маркерами якої є кетондинітрофенілгідрозони.

Одним з ключових механізмів дії багатьох антиоксидантів-цитопротекторів є їхня здатність гальмувати процеси ОМБ і накопичення маркерів окиснювальної модифікації білка – альдегідфенілгідрозонів (АФГ) і карбоксифенілгідрозонів (КФГ) [160, 161, 162, 173].

У зв'язку з цим, перспективним напрямом є пошук препаратів, що гальмують процеси ОМБ. Відомо, що біологічно активні речовини, виділені з *Tribulus Terrestris L.*, які мають передусім поліфенольну структуру, здатні до нейтралізації як активних форм кисню, так і гідрофільних вільних радикалів, що могло б позитивно вплинути на гальмування не тільки надлишкової ліпопероксидації, але й окисної модифікації білків.

Антиоксидантні властивості ГЕЯС оцінювали за інгібуванням в умовах *in vitro* окисної модифікації білка в цитозольній фракції печінки, викликаної реактивом Фентона [162]. Оцінку АОА досліджуваних субстанцій здійснювали шляхом кількісного визначення окиснених амінокислотних залишків білків за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразаном за довжини хвилі  $\lambda=270$  нм – альдегіддинітрофенілгідрозони (АФГ) і  $\lambda = 363$  нм – кетондинітрофенілгідрозони (КФГ). Як відомо, АФГ є ранніми маркерами окиснювального порушення білкової молекули, тоді як КФГ вважають пізніми маркерами даного процесу [189].

Експерименти *in vitro* показали, що ГЕЯС має високу здатність пригнічувати процес карбонілування білків в умовах окислювального стресу.

Застосування ГЕЯС в усіх дозах призводило до достовірного зниження ступеня ОМБ в цитозолі печінки експериментальних тварин.

При цьому збільшення у середовищі концентрації ГЕЯС з 5 мкг/мл до 10 мкг/мл і 20 мкг/мл супроводжується поступовим зростанням їх здатності гальмувати утворення продуктів ОМБ. Найвища здатність знижувати загальний рівень карбонільних похідних за умов *in vitro* була зафіксована в дозі ГЕЯС 20 мкг/мл і становила стосовно гальмування вмісту АФГ - 39,5 %, аКФГ – 54,8 % ( $P < 0,05$ ) (табл.3.12).

Таблиця 3.12.

**Антиоксидантна активність ГЕЯС в умовах *in vitro* за інгібуванням окисної модифікації білка в тканині печінки, ( $M \pm m$ ) (n=6)**

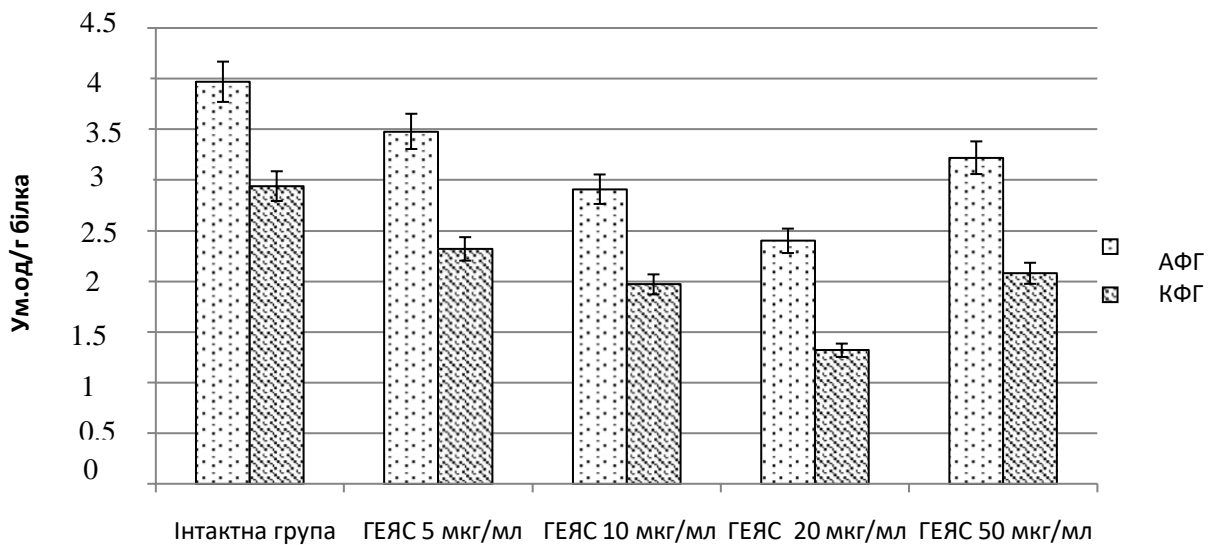
Група тварин		Показник			
		АФГ, ум.од/г білка	АОА, %	КФГ, ум.од/г білка	АОА, %
Інтактна група		3,97±0,11	-	2,94±0,08	-
ГЕЯС	5 мкг/мл	3,48±0,05*	12,3	2,32±0,07*	21,1
	10 мкг/мл	2,91±0,12*	26,7	1,97±0,08*	33,0
	20 мкг/мл	2,40±0,05*	39,5	1,32±0,06*	54,8
	50 мкг/мл	3,22±0,08*	18,9	2,08±0,09*	29,3

Примітка. \* -  $P < 0,05$  по відношенню інтактної групи.

Отже, зафіксоване майже дворазове зменшення кількості вторинних маркерів окиснювального стресу – з (2,94±0,08) ум.од/г білка до (1,32±0,06) ум.од/г білка ( $P < 0,05$ ), на відміну від первинних маркерів, може опосередковано свідчити про здатність ГЕЯС в зазначеній дозі пригнічувати агрегацію білків і таким чином протидіяти пізнім порушенням в процесі окиснювального стресу. Подальше збільшення концентрації ГЕЯС до 50



мкг/мл не виявило відповідного зростання антиокиснювальної активності цього фітозасобу. В зазначеній дозі ГЕЯС зменшував вміст АФГ лише на 18,9 %, а КФГ – лише на 29,3 % ( $P < 0,05$ ) (рис.3.8)



**Рис.3.8. Вплив ГЕЯС на вміст первинних (АФГ) і вторинних (КФГ) маркерів окисної модифікації білка в цитозольній фракції печінки щурів в умовах *in vitro* ( $M \pm m$ ) ( $n=6$ )**

Це вказує на непряму дозозалежність антиоксидантних ефектів ГЕЯС стосовно ОМБ, а можливо й негативний вплив більш високих концентрацій екстрактивних речовин, що входять до складу цього фітозасобу, на активність антиоксидантної системи печінки.

### **3.10. Дослідження мембранопротекторних властивостей ГЕЯС на моделі перекисного гемолізу еритроцитів**

Проведені вище дослідження, які показали високі антиоксидантні властивості ГЕЯС як в умовах модельної патології, так і за умов *in vitro*, здатність до корекції процесів ПОЛ, окисної модифікації білків та ферментемії, послужили обґрунтуванням для вивчення прямих мембраностабілізуючих властивостей цього фітозасобу. Найбільш зручними моделями в експериментальній фармакології для досліджень наявності мембранотропних ефектів у препаратів є мембрани еритроцитів. Тому

мембраностабілізуючі властивості різних доз ГЕЯС та препаратів порівняння оцінювали за їхньою здатністю до корекції гемолізу, який викликався на моделі перекисного гемолізу еритроцитів у щурів [166].

Дослідження виявили високі мембранопротекторні властивості ГЕЯС в усіх досліджуваних дозах. При цьому поступове збільшення дози з 25 мг/кг до 150 мг/кг супроводжувалось відповідним зростанням мембранопротекторних властивостей цього фітозасобу (табл.3.13).

Таблиця 3.13.

**Вплив ГЕЯС та фітозасобів порівняння на перекисну резистентність еритроцитів ( $M \pm m$ ) (n=8)**

Група тварин		% гемолізу	Мембранопротекторна активність, %
Інтактний контроль		13,92±0,88	-
ГЕЯС	25 мг/кг	9,90±0,68*#	28,9
	50 мг/кг	8,22±0,43*#	40,9
	100 мг/кг	7,32±0,60*	47,4
	150 мг/кг	6,18±0,78*	55,6
	200 мг/кг	9,04±0,89*#	35,1
Карсил	100 мг/кг	8,81±0,93*#	36,7
Пепонен	106 мг/кг	10,62±0,58*#	23,7

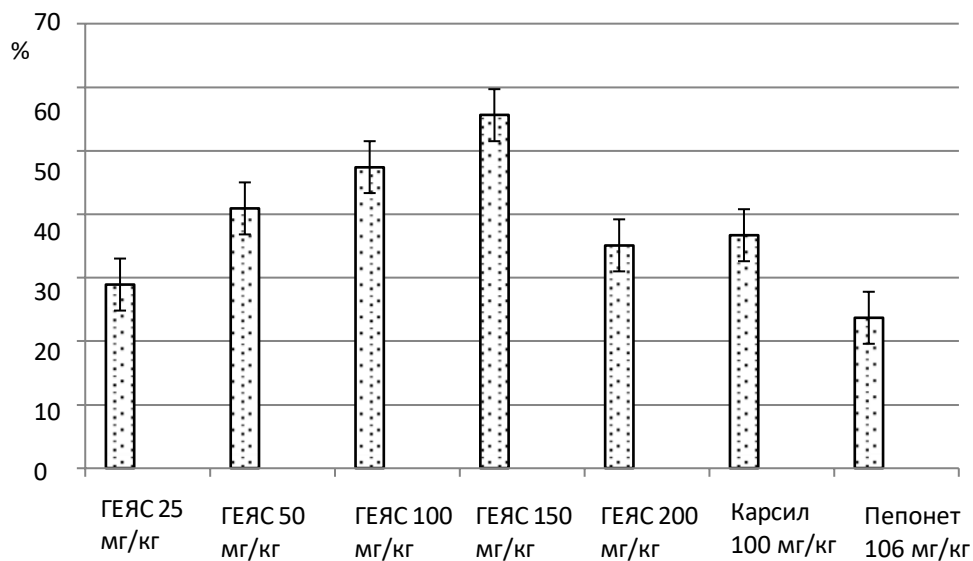
Примітки:

1. \* -  $P < 0,05$  по відношенню інтактної групи;
2. # -  $P < 0,05$  по відношенню групи ГЕЯС в дозі 150 мг/кг.

Найбільш виразною здатністю зменшувати перекисний гемоліз еритроцитів в умовах експерименту володів ГЕЯС в дозі 150 мг/кг. На фоні 5-добового щоденного уведення цього фітозасобу в зазначеній дозі відсоток перекисного гемолізу достовірно зменшувався з (13,92±0,88) % до (6,18±0,78) %, відповідно мембранопротекторна активність склала 55,6 %. Подальше

зростання дози ГЕЯС до 200 мг/кг не виявило посилення мембранопротекторної дії, при цьому активність фітозасобу зменшувалась до 35,1 %.

Препарати порівняння в застосованих терапевтичних дозах також виявили здатність достовірно зменшувати перекичний гемоліз еритроцитів, проте відповідна мембранопротекторна активність карсилу на рівні 36,7 % та пепонету на рівні 23,7 % суттєво поступалась перед аналогічним показником ГЕЯС в найбільш ефективній дозі 150 мг/кг (рис.3.9).



**Рис. 3.9. Мембранопротекторна активність ГЕЯС і фітозасобів порівняння на моделі перекисної резистентності еритроцитів у щурів (в %)( $M \pm m$ ) (n=8)**

Отримані результати цілком узгоджуються з раніше отриманими даними щодо дозозалежного впливу ГЕЯС на показники перекисної модифікації білка в умовах *in vitro*, де також встановлено, що значне підвищення дози ГЕЯС може зменшувати його антиоксидантні властивості.

Отже, підтверджені високі мембраностабілізуючі властивості ГЕЯС, які ймовірно обумовлені комплексом біологічно активних речовин з природними антиоксидантними властивостями (фенольні сполуки, зокрема флавоноїди, фенолкарбонові кислоти, а також сполуки терпенової природи, а саме стероїди), що входять до складу цього фітозасобу [94, 116, 122, 131, 132, 137].

### 3.11. Вивчення антимікробної активності ГЕЯС в умовах *in vitro*

Наявність антимікробної активності у фітозасобів, які використовують при лікуванні простатиту різної етіології могла б бути важливим фактором їхнього лікувального ефекту. Зазвичай при мікробіологічному обстеженні виділень при бактеріальному простатиті виявляють стафілокок, стрептокок, грибкову флору [27, 30, 52]. Антимікробну дію ГЕЯС досліджували в умовах *in vitro* класичним методом «колодязів» [158]. Для цієї мети використовували тест-штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25922, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 653/ 885, *Streptococcus pyogenes* Dick I.

Мікробне навантаження склало  $10^7$  мікробних клітин на 1 мл середовища і встановлювалось за стандартом McFarland. До роботи брали 18-24-годинну культуру мікроорганізмів. Для досліджень використовували агар Мюллера-Хінтона.

Антимікробну активність відносно досліджуваної мікрофлори оцінювали за діаметром зони затримки зростання кожного мікроорганізму, що викликається випробуванним препаратом.

При оцінюванні антибактеріальної активності застосовували наступні критерії:

- відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки, а також зони затримки до 10 мм вказували на те, що мікроорганізм не чутливий до препарату;
- зони затримки росту діаметром 10-15 мм вказували на малу чутливість культури до препарату;
- зони затримки росту діаметром 15-25 мм розцінювали як показник чутливості мікроорганізму до препарату;
- зони затримки росту, діаметр яких перевищував 25 мм свідчив про високу чутливість мікроорганізму до препарату.

Результати дослідів наведені в таблиці 3.14.

Таблиця 3.14.

**Антимікробна активність ГЕЯС в умовах in vitro**

Штами мікроорганізмів	Діаметри зон затримки росту, мм
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25922	28,8±1,1
<i>Esherichia coli</i> ATCC 25922	25,0±1,3
<i>Bacillus subtillis</i> ATCC 6633	21,8±0,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	20,1±1,2
<i>Streptococcus pyogenes</i> Dick I	18,3±1,8
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	28,0±1,2
<i>Candida albicans</i> ATCC 653/ 885	21,0±0,8

Оцінюючи наведені дані, можна зробити висновок, що ГЕЯС в умовах in vitro проявляє досить високі антимікробні властивості стосовно всіх тест-культур мікроорганізмів.

До ГЕЯС мають високу чутливість *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris* та *Esherichia coli*, діаметр зони затримки росту яких перевищував 25 мм. Всі інші мікроорганізми, а саме *Bacillus subtillis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes* та *Candida albicans* були чутливими до даного фітозасобу.

Слід зазначити, що найбільш високий антимікробний ефект ГЕЯС стосувався саме тої мікрофлори, яка за даними літератури, найчастіше виявляється самотійно, або в симбіозі з іншими мікроорганізмами в мікробіологічному пейзажі виділень при бактеріальному простатиті [27, 30]. При цьому привертає увагу встановлена висока чутливість до ГЕЯС з боку *Proteus vulgaris* – зона затримки росту склала (28,0±1,2) мм, оскільки, як відомо, простатит, в етіології виникнення якого бере участь грибкова мікрофлора, досить резистентний до антибактеріальної терапії.

Отже, в умовах in vitro ГЕЯС виявив високу антимікробну та протигрибкову активність, що дозволяє рекомендувати його застосування

при інфекційних захворюваннях, які викликані чутливими до нього організмами.

### **3.12. Вивчення імуотропної активності ГЕЯС в умовах *in vitro***

Пошук лікарських рослин та створення на їх основі перспективних лікарських засобів з імуномодулюючими властивостями залишається актуальною проблемою сучасної фітофармакології. Як відомо, рослинні імуномодулятори діють фізіологічно, не кумулюють, мають значний діапазон між терапевтичною та токсичною дозами [6, 7, 55, 64, 75, 84]. Подібні фітозасоби могли б не лише ефективно підвищувати адаптаційні можливості організму, але й позитивно впливати на перебіг багатьох запальних захворювань, у тому числі коригувати порушення імунологічної резистентності при гострих та хронічних запаленнях чоловічої статевої сфери, оскільки завдяки поєднанню різних біологічно активних речовин, вони здатні забезпечувати багатоплановий вплив на організм (імуномодулюючий, протизапальний, антимікробний, протівірусний, детоксикаційний та інші).

Метою досліджень стало з'ясування наявності у ГЕЯС імуотропних властивостей шляхом дослідження його впливу на трансформаційну і функціональну активність макрофагів периферичної крові в умовах *in vitro*.

Первинні культури імунокомпетентних клітин одержували з гепаринізованої крові щурів шляхом відстоювання при температурі 4 – 8 °С.

Мононуклеарні клітини крові культивували в середовищі 199 з 10 % фетальної сироватки. До живильного середовища додавали по 100 ОД/см натрієвої солі бензилпеніциліну та стрептоміцину, а також амфотеріцин В. ГЕЯС вносили до первинних культур імунокомпетентних клітин у кількості 10 мкг/мл, 25 мкг/мл, 50 мкг/мл і 100 мкг/мл та інкубували при 37 °С протягом 23 годин. З метою оцінки фагоцитарної активності макрофагів і їх попередників через 23 години культивування в культуру вносили

референтний штам *Staphylococcus aureus*-209P, інактивований прогріванням. Оцінку імуномодулюючої дії ГЕЯС на імунокомпетентні клітини проводили за наступними показниками: - ПМТМ - показник макрофагальної трансформації мононуклеарів; - фагоцитарний індекс (ФІ); - фагоцитарне число. Контроль включав постановку реакції макрофагальної трансформації мононуклеарів периферичної крові без додавання досліджуваного екстракту [167, 168].

Результати досліджень показали, що введення ГЕЯС в культури макрофагів та їх гематогенних попередників значною мірою стимулює трансформаційну та фагоцитарну активність мононуклеарних клітин периферичної крові (табл.3.15).

Таблиця 3.15.

**Вплив ГЕЯС на активність макрофагальної трансформації та показники фагоцитарної активності гематогенних попередників макрофагів за умов *in vitro***

Досліджуваний екстракт	Концентрація, мкг/мл	Фагоцитарний індекс, %	Фагоцитарне число	ПМТМ, %
Контроль		42,6 ± 3,1	8,7 ± 0,7	27,8 ± 3,0
ГЕЯС	10 мкг/мл	50,8 ± 4,6	10,4 ± 1,1	34,8 ± 3,6
	25 мкг/мл	53,0 ± 5,1	10,8 ± 1,2	36,0 ± 4,0
	50 мкг/мл	61,0 ± 5,0*	11,3 ± 0,9*	44,1 ± 4,1*
	100 мкг/мл	66,0 ± 4,9*	13,3 ± 1,2*	54,0 ± 3,7*

Примітка. \* –  $P < 0,05$  у порівнянні до показника контролю.

При внесенні ГЕЯС до первинної культури імунокомпетентних клітин в дозі 10 мкг/мл трансформаційна активність мононуклеарів периферичної крові зростала на 25,2 %, фагоцитарний індекс – на 19,2 %, фагоцитарне число – на 19,5 % порівняно з інтактним контролем. Проте зростання цих показників відносно контролю носило недостовірний характер.

При застосуванні ГЕЯС в дозі 25 мкг/мл трансформаційна активність

мононуклеарів периферичної крові відносно контролю зростала на 29,5 % ( $P > 0,05$ ), фагоцитарний індекс – на 24,4 % ( $P > 0,05$ ), фагоцитарне число – відповідно на 24,1 % ( $P > 0,05$ ).

Подальше збільшення дози ГЕЯС в інкубаційному середовищі до 50 мкг/мл призвело до більш вираженої стимуляції трансформаційної і фагоцитарної активності макрофагів і їх попередників. Зокрема в цій дозі ГЕЯС посилювала трансформаційну активність макрофагів відносно показника контролю на 58,6 % ( $P < 0,05$ ), фагоцитарний індекс – на 43,2 % ( $P < 0,05$ ), і фагоцитарне число – на 29,9 % ( $P < 0,05$ ).

Найбільш виразна стимуляція макрофагальної активності в умовах *in vitro* нами зафіксована при застосуванні в інкубаційному середовищі ГЕЯС в дозі 100 мкг/мл. За цих умов експерименту ПМТМ зростав відносно показника контролю у 1,94 раза – з  $(27,8 \pm 3,0)$  % до  $(54,0 \pm 3,7)$  % ( $P < 0,05$ ); фагоцитарний індекс відповідно у 1,55 раза - з  $(42,6 \pm 3,1)$  % до  $(66,0 \pm 4,9)$  % ( $P < 0,05$ ); фагоцитарне число зростало у 1,53 раза з  $(8,7 \pm 0,7)$  % до  $(13,3 \pm 1,2)$  % ( $P < 0,05$ ).

Отже, досліджена субстанція впливає на неспецифічну імунну відповідь, зокрема проявляє пряму дозозалежну стимулюючу дію на трансформаційну та фагоцитарну активність макрофагів і їх мононуклеарних попередників. Зі збільшенням дози ГЕЯС в інкубаційному середовищі в умовах *in vitro* стимулюючий ефект екстракту на функціональну активність макрофагів периферичної крові та їх попередників посилюється.

Одержані дані про наявність позитивної імуотропної активності ГЕЯС в умовах *in vitro* підтверджують перспективність подальших досліджень з метою розробки на основі ГЕЯС фітозасобів, здатних коригувати розлади імунологічної резистентності організму при широкому колі захворювань, у тому числі запальних процесах чоловічої статевої сфери.

Таким чином, підсумовуючи результати досліджень фармакодинаміки ГЕЯС, можемо констатувати, що цей фітозасіб володіє протизапальною,



аналгетичною, антиоксидантною, мембранопротекторною та антимікробною дією, що потенційно могло б обґрунтувати його застосування при лікуванні простатиту різного генезу.

Скринінгові дослідження протизапальної активності ГЕЯС на моделі карагенінового запалення встановили найбільш ефективну дозу 150 мг/кг, яка за виразністю протизапальної дії була співставна з аналогічним ефектом диклофенаку натрію в дозі 8,0 мг/кг, і показали здатність ГЕЯС в зазначеній дозі пригнічувати передусім виділення ранніх медіаторів запалення - біогенних амінів, а також в меншій мірі прозапальних простагландинів на більш пізніх етапах експерименту. Водночас пригнічення зимозанового запалення на початкових етапах його відтворення вказує на здатність цього фітозасобу до модуляції ліпоксигенази в осередку запалення. На моделі формалінового набряку, в розвитку якого, як відомо, провідну роль відіграє білкова деструкція мембран, ГЕЯС в дозах від 100 до 200 мг/кг виявляє значну антиексудативну та мембраностабілізуючу активність, за виразністю якої фактично не поступається диклофенаку натрію і переважає корвітин.

ГЕЯС в дозі 150 мг/кг володіє достатньо виразною антиальтеративною і репаративною активністю, за величиною якої, як на моделі неінфікованої площинної, так і лінійної різаної рани в усі терміни експерименту суттєво переважає лікувальний ефект диклофенаку натрію та корвітину.

ГЕЯС на моделі ватної гранульоми виявив помірну антипроліферативну активність, знижуючи утворення фіброзно-грануляційної тканини, але поступався за виразністю цієї дії перед диклофенаком натрію.

За здатністю до інгібування ПОЛ в системі жовткових ліпопротеїдів та окисної модифікації білка в умовах *in vitro*, а також за умов *in vivo* на моделі гострого тетрахлорметанового гепатиту у щурів підтверджені виразні антиокиснювальні властивості ГЕЯС, а на моделі перекисного гемолізу еритроцитів - його мембрано протекторна дія, за якою ГЕЯС в дозі 150 мг/кг перевершує активність референт – препаратів карсилу і пепонену.

При цьому фітозасіб володіє широким спектром антимікробної активності в умовах *in vitro* саме до тих штамів мікроорганізмів, які можуть бути етіологічним чинником бактеріальних простатитів. Зокрема до ГЕЯС мають високу чутливість *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris* та *Escherichia coli*. Всі інші мікроорганізми, а саме *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes* та *Candida albicans* є чутливими до даного фітозасобу.

Фітозасіб ГЕЯС в умовах *in vitro* в діапазоні доз 10 - 100 мкг/мл проявляє пряму імуностимулюючу дію, підвищуючи в інкубаційному середовищі у 1,19 – 1,94 раза трансформаційну і фагоцитарну активність макрофагів периферичної крові та їх попередників.

Отримані дані дозволяють припустити, що встановлений спектр фармакологічної дії ГЕЯС може забезпечити його лікувальний ефект шляхом впливу на основні патогенетичні механізми розвитку простатиту, що стало предметом подальших досліджень щодо вивчення специфічної фармакологічної активності цього фітозасобу в умовах експериментального простатиту.

Результати досліджень, наведені в розділі 3, знайшли своє відображення в наступних публікаціях:

1. Юнусова С.І., Рожковський Я.В. Протизапальна активність густого екстракту обмолоченої від плодів трави якірців сланких. *Сучасна клінічна фармакологія в фармакотерапії та профілактиці захворювань з позицій доказової медицини*: матеріали X Всеукр.наук.-практ. конф. за участю міжн. спеціалістів з клінічної фармакології, 7-8 листопада 2019 р, Вінниця, 2019 р. С.249-251. (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

2. Юнусова С.І. Дослідження протизапальної та знеболювальної активності густого екстракту якірців сланких в умовах експерименту. *Modern approach of experimental and preclinical pharmacology*: матеріали. Міжнар. дист. науково-практ. конф, 08 лютого 2021 р, Харків, НФАУ, 2021. С.218.

3. Юнусова С.І., Рожковський Я.В. Протизапальна активність густого екстракту якірців сланких на моделі формалінового набряку у щурів. *Клінічні протоколи та персоналізована медицина: як знайти золоту середину: матеріали XI Всеукр.наук.-практ. конф. за участю міжн. спеціалістів з клінічної фармакології*, 12-13 листопада 2021 р, Вінниця, 2021 р. С.236-238. (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

4. Юнусова С. І., Рожковський Я.В., Приступа Б.В., Богату С.В. Простатопротекторна дія густого екстракту якірців сланких на моделі кріотравми передміхурової залози у щурів. *Фітотерпія. Часопис.2022.№3.С.78-85. DOI: 10.33617/2522-9680-2022-3-78.* (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

5. Юнусова С. І. Вивчення антиальтеративної, репаративної та антипроліферативної дії густого екстракту якірців сланких в експерименті. *Фітотерпія. Часопис.2022.№4.С.97-103. DOI:10.33617/2522-9680-2022-4-97.*

6. Юнусова С.І., Рожковський Я.В. Антиоксидантні властивості густого екстракту якірців сланких за умов *in vitro* та *in vivo*. *Фармакологія та лікарська токсикологія. 2023.Т.17,№2.С.115-124. DOI: 10.33250/17.02.115* (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

7. Yunusova, S., Rozhkovskiy, Ya., Pristupa, B., Bohatu, S. (2023) Study of the anti-inflammatory properties of the thick extract of *Tribulus terrestris*. *Ceska Slov. Farm. 2023 Fall; 72(4):184-189. English. doi: https://doi.org/10.5817/CSF2023-4-184 PMID: 37805264. (Scopus, Q3).* (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

## РОЗДІЛ 4

### ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОСТАТОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ГЕЯС НА МОДЕЛІ КРІОТРАВМИ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ

Згідно з літературними даними, порушення місцевої гемодинаміки є одним з важливих етіологічних чинників запального процесу ПЗ. Простатит, який викликається шляхом зрошування передньої поверхні ПЗ аплікатором «Вартнер», є прямим кріоураженням тканини ПЗ з порушенням гемодинаміки та запаленням залозистої тканини, що відповідає деяким патогенетичним аспектам розвитку простатиту у чоловіків. З огляду на результати досліджень, викладені в попередньому розділі, що підтверджують ефективність ГЕЯС на моделях карагенінового, зимозанового і формалінового набряку у щурів, було доцільно визначити вплив цього фітозасобу на перебіг експериментального простатиту, викликаного кріотравмою ПЗ, що призводить до розвитку небактеріального запального процесу в цьому органі. Як відомо, модель кріотравми, яка відтворювалась у щурів, супроводжується ангіоспазмом, ішемією залозистої тканини, підвищенням проникності стінки судин, порушенням мікроциркуляції з подальшим розвитком вираженої запальної реакції та структурними змінами передусім вентральних відділів ПЗ [169].

Дослідження показали, що на 12-ту добу після альтерації у щурів, навіть при макроскопічному дослідженні були виявлені ознаки запалення ПЗ: зони некрозу, гнійні відділення. Останнє підтвердилось зміною гематологічних і морфологічних показників: лейкоцитозом, збільшенням показника швидкості зсідання еритроцитів, анемією, суттєвим зменшенням маси передміхурової залози та сім'яних пухирців.

Зокрема встановлено, що в умовах кріогенного ураження ПЗ у щурів розвивався значний запальний процес, який підтверджувався достовірним

збільшенням вмісту лейкоцитів в крові в 2,58 раза, ШОЕ – у 2,27 раза, зменшенням кількості еритроцитів на 29,6 % та гемоглобіну – на 19,7 % ( $P < 0,05$ ). Рівень С-реактивного білка зростав більш ніж утричі (табл.4.1).

Таблиця 4.1.

**Порівняльний вплив фітозасобів на гематологічні показники та вміст С реактивного білка в сироватці крові у щурів на моделі кріотравми передміхурової залози ( $M \pm m$ ) (n=8)**

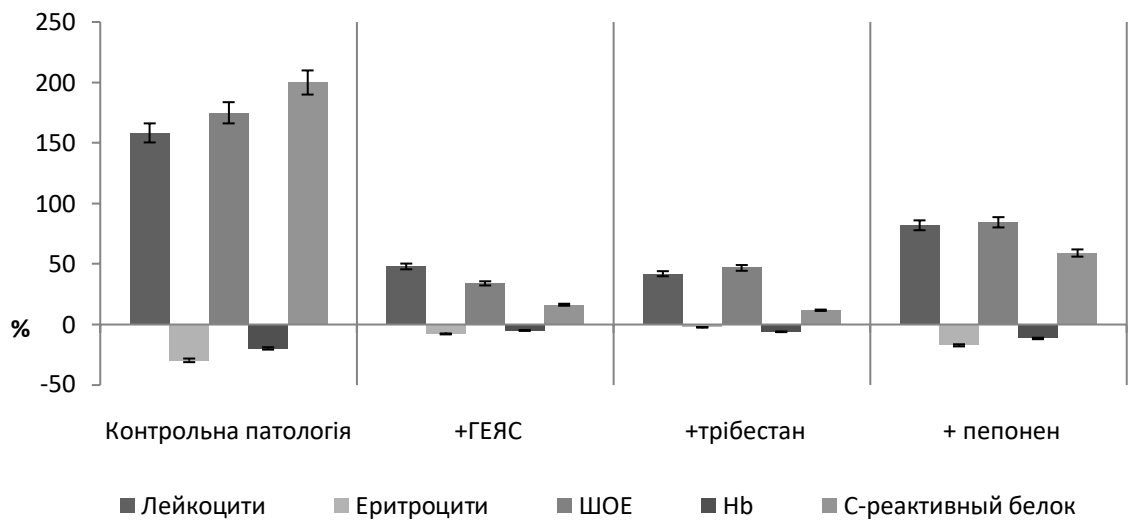
Показник	Інтактна група	Контроль на патологія	Засоби корекції		
			ГЕЯС 150 мг/кг	Трібестан 60 мг/кг	Пепонен 106 мг/кг
Лейкоцити, $10^9$ /л	9,48±0,91	24,49±2,03*	14,03±1,05* #	13,49±0,75* #	17,25±1,32* #
Еритроцити, $10^{12}$ /л	5,20±0,07	3,66±0,10*	4,80±0,15*#	5,08±0,22#	4,31±0,11*#
ШОЕ, мм/год	6,50±0,48	17,90±0,91*	8,72±0,42*#	9,55±1,03*#	12,0±0,88*#
Нь, г/л	151,3±3,6	121,5±4,1*	144,1±3,8#	142,2±4,4#	134,0±3,9*#
С-реактивний білок, мг/л	3,04±0,26	9,15±0,48*	3,54±0,36#	3,40±0,20#	4,84±0,40*#

Примітки:

1. \* - ( $P < 0,05$ ) порівняно з інтактною групою;
2. # - ( $P < 0,05$ ) порівняно з групою контрольної патології.

В умовах застосування ГЕЯС в дозі 150 мг/кг і трібестану в дозі 60 мг/кг у переважної більшості тварин передміхурова залоза при макроскопічному огляді мала нормальний вигляд, не мала осередків запалення і зон некрозу. При цьому спостерігалось значне покращення показників крові, порівняно з групою контрольної патології. ГЕЯС зменшував лейкоцитоз у 1,75 раза, ШОЕ – у 2,05 раза, підвищував вміст еритроцитів на 31,1 % і гемоглобіну на 18,6 % ( $P < 0,05$ ). Подібний стабілізуючий вплив на показники периферичної крові здійснював і препарат порівняння трібестан. За лікувального впливу цього фітозасобу вміст

лейкоцитів крові порівняно з нелікованою групою зменшувався у 1,82 раза, ШОЕ зменшувалась у 1,87 раза, а вміст еритроцитів і гемоглобіну достовірно не відрізнявся від показників інтактної групи.



**Рис. 4.1. Зміни гематологічних показників у щурів з кріотравмою ПЗ на фоні фітокорекції (в % відхилення від показників інтактної групи) ( $M \pm m$ )(n=8)**

В умовах лікування препаратом порівняння пепоненом в дозі 106 мг/кг також була встановлена його здатність зменшувати макроскопічні ознаки запального процесу в ПЗ. Протизапальна дія цього фітозасобу також проявлялась у достовірному зменшенні лейкоцитозу, ШОЕ, анемії, проте за виразністю стабілізації цих показників периферичної крові пепонен поступався перед ГЕЯС та трібестаном, а зазначені показники достовірно відрізнялись від аналогічних значень інтактної групи (рис.4.1).

Як відомо, виразний запальний процес може ініціювати вивільнення медіаторів запалення (цитокінів, «білків гострої фази» тощо), від яких і залежить показник ШОЕ. С-реактивний білок належить до головних реактантів гострої фази, за рівнем якого в сироватці крові можна оцінити стан і інтенсивність запалення. Оскільки період напіввиведення СРБ після його синтезу в печінці є постійним, то єдиним фактором його циркулюючої концентрації є швидкість синтезу, яка відображає інтенсивність патологічного процесу до стимулювання виробництва СРБ. Коли стимул

повністю припиняється, концентрація СРБ в крові швидко падає [180, 190, 191]. Тому визначення змін концентрації СРБ в сироватці крові є більш раннім і чутливим методом оцінки протизапальної дії лікувальних засобів.

Досліди показали, що у тварин групи контрольної патології концентрація СРБ в сироватці крові зростала втричі – з  $(3,04 \pm 0,26)$  мг/л  $(9,15 \pm 0,48)$  мг/л ( $P < 0,05$ ). На фоні застосування ГЕЯС вміст СРБ в сироватці крові тварин з кріотравмою залишався на рівні  $(3,54 \pm 0,36)$  мг/л, при застосуванні трібестану –  $(3,40 \pm 0,20)$  мг/мл, пепонену –  $(4,84 \pm 0,4)$  мг/мл, що додатково свідчить про наявність у ГЕЯС і трібестану більш виразних протизапальних властивостей, порівняно з фітозасобом порівняння пепоненом.

Враховуючи роль процесів вільнорадикального окиснення в патогенезі запальних захворювань статевої сфери у чоловіків, нами досліджувався вплив фітозасобів на показники оксидантно-антиоксидантного балансу в гомогенаті передміхурової залози та сироватці крові у щурів з експериментальним кріогенним простатитом (табл.4.2).

Аналіз біохімічних показників сироватки крові та гомогенату ПЗ в групі контрольної патології показав, що кріоураження залози викликає значну активацію процесів ПОЛ, зниження активності основних компонентів ферментної і неферментної складової АОС та супроводжується розвитком нітрозитивного стресу, який внаслідок активного нітрозилування білків та амінокислот у вогнищі запалення викликає накопичення в ПЗ первинних (АФГ) і вторинних (КФГ) продуктів окисної модифікації білка, що лежить в основі ушкодження мембран клітин ПЗ.

Зокрема у тварин цієї групи вміст ТБК-активних продуктів в гомогенаті і сироватці крові зростав відповідно у 2,03 і 2,15 раза, активність СОД зменшувалась у 1,86 раза, каталази – у 1,60 раза, глутатіонредуктази - відповідно у 1,55 раза ( $P < 0,05$ ). При цьому вміст неферментної складової антирадикального захисту - відновленого глутатіону і  $\alpha$ -токоферолу в гомогенаті ПЗ знижувався відповідно на 45,2 % та 40,5 % ( $P < 0,05$ ). На

фоні більш ніж дворазового збільшення концентрації оксиду азоту в сироватці крові - з  $(37,8 \pm 3,10)$  мкмоль/л до  $(80,5 \pm 5,40)$  мкмоль/л, вміст ранніх (АФГ) і пізніх (КФГ) маркерів окисної модифікації білка в тканинах ПЗ зростає відповідно на 84,6 % та 106,9 % ( $P < 0,05$ ) (табл.4.2).

Таблиця 4.2.

**Порівняльний вплив фітозасобів на показники оксидантно-антиоксидантного балансу в гомогенаті передміхурової залози та сироватці крові у щурів на моделі кріогенної травми ПЗ ( $M \pm m$ ) (n=8)**

Показник	Інтактна група	Контроль на патологія	Засоби корекції		
			ГЕЯС	Трібестан	Пепонен
Вміст МДА, мкмоль/г	$38,5 \pm 3,3$	$78,2 \pm 7,8^*$	$48,0 \pm 4,3^{* \#}$	$44,0 \pm 2,1^{\#}$	$52,7 \pm 3,7^{* \#}$
Вміст МДА, мкмоль/л	$0,40 \pm 0,03$	$0,86 \pm 0,06^*$	$0,50 \pm 0,04^{* \#}$	$0,46 \pm 0,04^{\#}$	$0,50 \pm 0,05^{* \#}$
Вміст ДК, мкмоль/г	$3,50 \pm 0,22$	$6,93 \pm 0,31^*$	$4,08 \pm 0,30^{* \#}$	$4,10 \pm 0,31^{* \#}$	$4,82 \pm 0,48^{* \#}$
Вміст ДК, мкмоль/л	$0,060 \pm 0,005$	$0,132 \pm 0,011^*$	$0,079 \pm 0,005^{* \#}$	$0,070 \pm 0,005^{\#}$	$0,080 \pm 0,006^{* \#}$
Активність СОД, ум.од./мг білка	$10,8 \pm 0,5$	$5,8 \pm 0,4^*$	$9,5 \pm 0,4^{* \#}$	$9,7 \pm 0,5^{* \#}$	$9,0 \pm 0,4^{* \#}$
Активність каталази, ммоль $H_2O_2$ /хв-г білка	$2,33 \pm 0,19$	$1,46 \pm 0,07^*$	$1,98 \pm 0,11^{* \#}$	$1,81 \pm 0,08^{* \#}$	$1,77 \pm 0,06^{* \#}$
Глутатіонредуктаза, мкмоль/хв./мг білка	$0,180 \pm 0,009$	$0,116 \pm 0,006^*$	$0,158 \pm 0,008^{* \#}$	$0,148 \pm 0,004^{* \#}$	$0,137 \pm 0,007^{* \#}$
Глутатіон відновлений, мкмоль/г	$0,146 \pm 0,012$	$0,080 \pm 0,006^*$	$0,119 \pm 0,011^{* \#}$	$0,120 \pm 0,007^{* \#}$	$0,101 \pm 0,005^{* \#}$
Вміст $\alpha$ -токоферолу, мкмоль/г	$0,42 \pm 0,03$	$0,25 \pm 0,02^*$	$0,40 \pm 0,05^{\#}$	$0,38 \pm 0,04^{* \#}$	$0,33 \pm 0,04^{* \#}$
АФГ, ум.од./г білку	$2,08 \pm 0,12$	$3,84 \pm 0,18^*$	$2,50 \pm 0,22^{* \#}$	$2,98 \pm 0,28^{* \#}$	$3,44 \pm 0,28^*$
КФГ, ум.од./г білку	$1,74 \pm 0,15$	$3,60 \pm 0,19^*$	$2,21 \pm 0,18^{* \#}$	$2,64 \pm 0,20^{* \#}$	$3,20 \pm 0,18^*$
NOx, мкмоль/л	$37,8 \pm 3,10$	$80,5 \pm 5,40^*$	$53,2 \pm 6,13^{* \#}$	$55,8 \pm 5,10^{* \#}$	$75,0 \pm 6,03^*$

Примітки:

1. \* - ( $P < 0,05$ ) порівняно з інтактною групою;

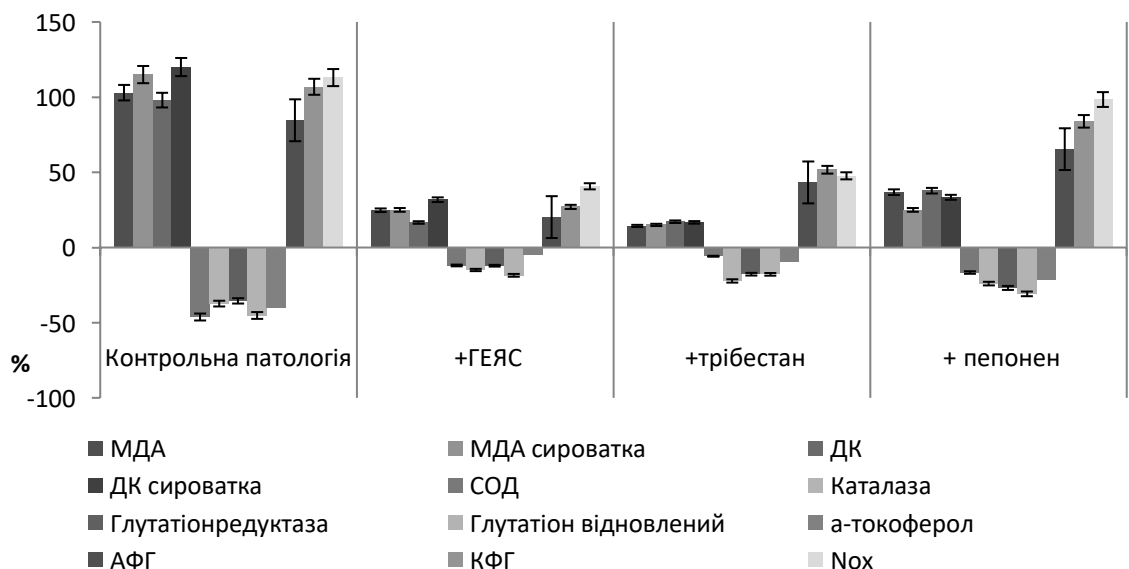
2. # - ( $P < 0,05$ ) порівняно з групою контрольної патології.

Фармакологічна корекція досліджуваними фітозасобами суттєво пригнічувала активацію окиснювальних процесів в ПЗ. Найбільш ефективно



коригували баланс ПОЛ/АОС у вогнищі запалення фітозасоби ГЕЯС і трібестан. Зокрема за лікувального впливу ГЕЯС вміст МДА в гомогенаті ПЗ зменшувався у 1,63 раза, ДК – у 1,70 раза, активність СОД зростала у 1,64 раза, каталази – у 1,36 раза, глутатіонредуктази – у 1,36 раза, вміст відновленого глутатіону – у 1,49 раза ( $P < 0,05$ ). При цьому вміст  $\alpha$ -токоферолу в ПЗ тварин під впливом ГЕЯС в умовах експериментального простатиту залишався на рівні показників інтактної групи, що, з огляду на мембранну локалізацію цього структурного антиоксиданту, могло б свідчити на користь збереження під впливом ГЕЯС структурно-функціонального стану клітин ПЗ.

Особливістю позитивної дії ГЕЯС на перебіг окиснювальних процесів в умовах нітрозитивного стресу, викликаного кріогенною травмою, стало виразне зменшення концентрації  $\text{NO}_x$  в сироватці крові та найбільш ефективно, порівняно з іншими фітозасобами, зниження вмісту АФГ і КФГ. Зокрема під впливом ГЕЯС вміст АФГ в ПЗ порівняно з показниками групи контрольної патології зменшувався у 1,54 раза, КФГ – у 1,63 раза ( $P < 0,05$ ) (рис.4.2).



**Рис.4.2. Порівняльний вплив фітозасобів на показники оксидантно антиоксидантного балансу в гомогенаті ПЗ та сироватці крові у щурів на моделі кріогенної травми ПЗ (в % відхилення від показників інтактної групи)**

Це може свідчити про високу здатність цього фітозасобу коригувати процеси окисної модифікації білка у вогнищі запалення. Можливо ГЕЯС шляхом найбільш ефективної корекції вмісту оксиду азоту і зменшення окиснювальних процесів здатний краще, ніж інші засоби порівняння запобігати розвитку ендотеліальної дисфункції, як одного з механізмів порушень гемодинаміки в умовах даної моделі простатиту.

Коригуючий ефект трібестану на порушення оксидантно-антиоксидантного балансу в ПЗ у тварин за своєю ефективністю був співзмірний з дією ГЕЯС, проте за здатністю зменшувати накопичення продуктів перекисного окиснення білка цей фітопрепарат дещо поступався перед дією ГЕЯС (рис.4.2).

Препарат порівняння пепонен виявив найменшу здатність до корекції порушеного балансу процесів ПОЛ/АОС в умовах патології. Він достовірно зменшував надмірне накопичення у вогнищі запалення продуктів ПОЛ, помірковано підвищував активність окремих компонентів антиоксидантного захисту організму (активність СОД, каталази, глутатіонредуктази, вміст відновленого глутатіону, вміст  $\alpha$ -токоферолу), проте не виявив здатності до корекції окисної модифікації білка у ПЗ тварин з експериментальним кріогенним простатитом. Порівняно з групою контрольної патології зафіксоване під впливом пепонену зниження вмісту первинних і вторинних продуктів окисної модифікації білка – АФГ - з  $(3,84 \pm 0,18)$  ум.од. /г білку до  $(3,44 \pm 0,28)$  ум.од. /г білку і КФГ - з  $(3,60 \pm 0,19)$  ум.од. /г білку до  $(3,20 \pm 0,18)$  ум.од. /г білку не набувало достовірного характеру.

Ймовірно, що менш виразна здатність пепонену, порівняно з іншими фітозасобами, коригувати порушення балансу ПОЛ/АОС в гомогенаті ПЗ в умовах оксидативного стресу, може бути пояснена тим, що на відміну від ГЕЯС і трібестану, фенольні сполуки, яким притаманні прямі і опосередковані антиоксидантні властивості, не є головними діючими речовинами цього фітозасобу [55, 56, 75, 192, 193].

Подібний порівняльний лікувальний ефект досліджуваних фітозасобів стосувався й відносно патологічних змін маси андрогензалежних органів у щурів під впливом кріотравми ПЗ. У тварин групи контрольної патології на 12-й день після кріотравми маса ПЗ зменшувалась на 26,0 %, маса сім'яних пухирців – на 29,9 %, а масовий коефіцієнт сім'яних пухирців – відповідно на 33,3 % ( $P < 0,05$ ) (табл.4.3).

Таблиця 4.3.

**Порівняльний вплив фітозасобів на зміни маси вентральної передміхурової залози і сім'яних пухирців на моделі кріотравми у щурів ( $M \pm m$ ) (n=8)**

Показник	Інтактна група	Контроль на патологія	Засоби корекції		
			ГЕЯС 150 мг/кг	Трібестан 60 мг/кг	Пепонен 106 мг/кг
Маса передміхурової залози, мг	385,6±20,1	285,6±16,1*	403,2±22,6#	413,4±17,5#	337,4±21,3*#
Маса сім'яних пухирців, мг	416,8±20,8	292,2±14,8*	390,4±14,2#	396,1±22,1#	340,1±16,3*#
МКСП	0,21±0,02	0,14±0,01*	0,20±0,01#	0,20±0,02#	0,17±0,01*#

Примітки:

1. \* - ( $P < 0,05$ ) порівняно з інтактною групою;
2. # - ( $P < 0,05$ ) порівняно з групою контрольної патології.

Під впливом усіх досліджуваних препаратів було відзначено збільшення масових показників ПЗ. Зокрема ГЕЯС і трібестан в умовах експерименту відновлювали у тварин з експериментальним кріогенним простатитом масу передміхурової залози, сім'яних пухирців та масовий коефіцієнт сім'яних пухирців до фізіологічного рівня. Лікувальний ефект пепонену був менш виразним, однак під впливом цього фітозасобу у тварин порівняно з нелікованою групою маса передміхурової залози зростала на 18,1 %, сім'яних пухирців – на 16,4 %, а масовий коефіцієнт сім'яних пухирців на 21,4 % ( $P < 0,05$ ). Це свідчить про здатність досліджуваних фітозасобів до можливого відновлення структурно-функціонального стану, андрогенної

чутливості та гонадо-простатичних зв'язків, порушених внаслідок кріотравми ПЗ.

Як відомо, запальний процес в ПЗ може супроводжуватися деструкцією епітелію простатичних залоз та внаслідок цього призводити до зміни рівня простатоспецифічного ферменту КФ в сироватці крові.

Таблиця 4.4.

**Порівняльний вплив фітозасобів на зміни окремих показників андрогенного статусу на моделі кріотравми передміхурової залози у щурів ( $M \pm m$ ) (n=8)**

Показник	Інтактна група	Контроль на патологія	Засоби корекції		
			ГЕЯС 150 мг/кг	Трібестан 60 мг/кг	Пепонен 106 мг/кг
Активність КФ у сироватці крові, ммоль/год л	0,96±0,08	1,75±0,15*	0,95±0,15#	0,90±0,12#	1,36±0,17*#
Активність ЛФ у сироватці крові ммоль/год л	2,80±0,27	3,56±0,20*	3,01±0,21#	2,90±0,27#	3,10±0,18#
КФ/ЛФ у сироватці крові	0,34	0,49	0,31	0,31	0,44
Активність КФ у гомогенаті ПЗ, ммоль/год г білка	1,73±0,21	1,20±0,16*	1,70±0,09#	1,65±0,10#	1,40±0,15
Активність ЛФ у гомогенаті ПЗ, ммоль/год г білка	2,23±0,24	3,18±0,25*	2,40±0,27#	2,68±0,20#	2,80±0,19*
КФ/ЛФ в гомогенаті ПЗ	0,78	0,38	0,71	0,62	0,50
Вміст фруктози у СП, ммоль/л	3,26±0,21	1,51±0,24*	2,85±0,21#	2,56±0,28*#	2,20±0,20*#
Вміст Тс, нмоль/л	22,06±1,48	13,00±1,51*	19,16±1,59#	19,01±1,24#	18,04±1,16*#

Примітки:

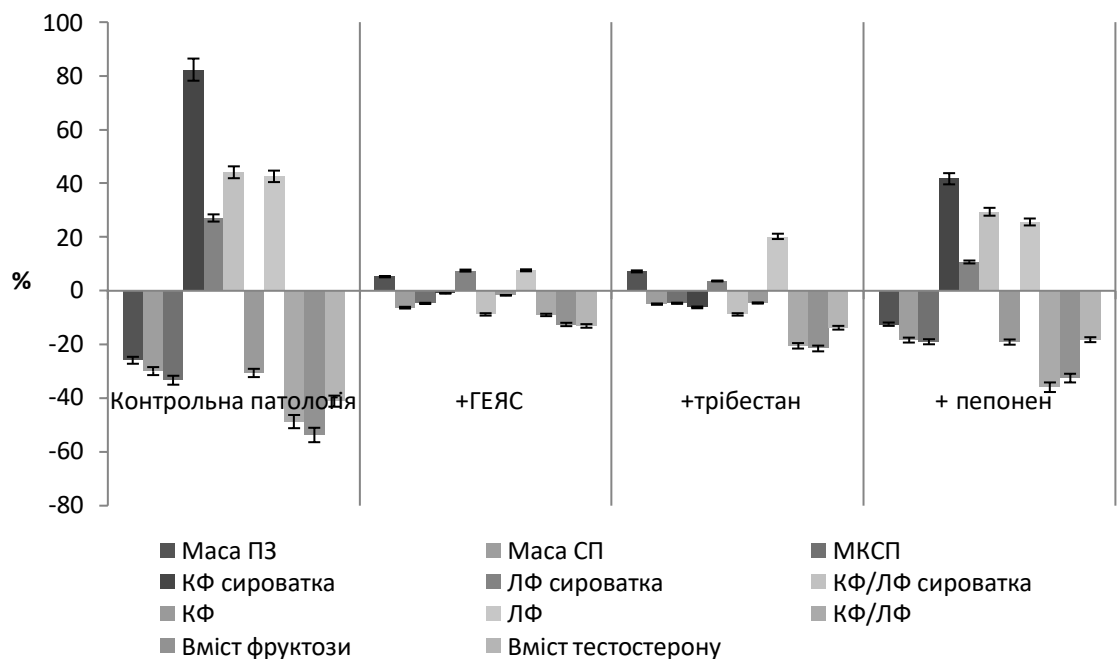
- \* - ( $P < 0,05$ ) порівняно з інтактною групою;
- # - ( $P < 0,05$ ) порівняно з групою контрольної патології.

Нами встановлено, що у тварин групи контрольної патології на фоні достовірного зменшення активності КФ в гомогенаті ПЗ у 1,44 раза, активність цього ферменту в сироватці зростає на 82,3 % ( $P < 0,05$ ), що може бути обумовлено підвищенням проникності мембран ацинусів і свідчити про

значне порушення функціонування ПЗ та зниження андрогенного статусу щурів в умовах запалення (табл.4.4).

Зниження андрогенної насиченості організму за умов кріогенної травми ПЗ підтверджується різнобічними змінами коефіцієнту КФ/ЛФ в сироватці крові та гомогенаті ПЗ, а також більш ніж дворазовим зменшенням вмісту фруктози в СП залози – з  $3,26 \pm 0,21$  до  $(1,51 \pm 0,24)$  ммоль/л та вмісту тестостерону в сироватці крові – з  $22,06 \pm 1,48$  до  $(13,00 \pm 1,51)$  нмоль/л ( $P < 0,05$ ). Це цілком узгоджується з раніше встановленими даними щодо зменшення маси андрогензалежних органів у щурів на фоні кріотравми ПЗ (табл.4.3).

Водночас зафіксоване зменшення вмісту КФ в сироватці крові з одночасним підвищенням активності цього ферменту в тканинах ПЗ, а також відносна стабілізація співвідношення КФ/ЛФ під впливом дії фітозасобів може свідчити про процеси відновлення порушеного функціонального стану ПЗ. На тлі застосування ГЕЯС спостерігалась найбільш ефективна стабілізація досліджуваних показників, які на тлі уведення цього фітозасобу достовірно не відрізнялись від інтактної групи (рис.4.3).



**Рис.4.3. Порівняльний вплив фітозасобів на зміни показників андрогенного статусу у щурів на моделі кріогенної травми ПЗ (в % відхилення від показників інтактної групи)**

Аналогічним дії ГЕЯС був лікувальний ефект трібестану, який за умов патології відновлював до фізіологічного рівня більшість показників андрогенного статусу, окрім вмісту фруктози в СП, який під впливом цього препарату достовірно зростав у 1,70 раза, проте залишався на 21,5 % нижчим, ніж у тварин інтактної групи ( $P < 0,05$ ) (рис.4.3).

Препарат пепонен також виявив здатність до стабілізації показників андрогенного статусу у щурів в умовах кріогенного простатиту. Під впливом цього фітозасобу у тварин на фоні кріотравми активність КФ в сироватці крові зменшувалась у 1,29 раза, та одночасно виявила тенденцію до підвищення в тканинах ПЗ на 16,7 % ( $P > 0,05$ ) відносно показників групи контрольної патології. Водночас вміст фруктози в СП та тестостерону в сироватці крові, як специфічних маркерів рівня андрогенізації та фертильності організму в умовах кріотравматичного простатиту, на фоні лікування цим засобом зростав відповідно на 45,7 % та 38,8 % ( $P < 0,05$ ), хоча і не досягав відповідного рівня показників інтактної групи, що свідчить про поміркований позитивний вплив цього препарату на структурно-функціональний стан ПЗ.

Отже, за виразністю ефекту щодо корекції порушень структурно-функціонального стану ПЗ, який оцінювався за змінами маси андрогензалежних органів та інтегральних показників андрогенного статусу у щурів на фоні кріоураження ПЗ, ГЕЯС не поступався перед фітозасобом порівняння трібестаном і переважав лікувальний ефект пепонену.

Негативні зміни функціонального стану ПЗ в умовах кріогенного простатиту в першу чергу позначаються на стані репродуктивної функції щурів. Відомо, що в умовах простатиту змінюються показники спермограми, оскільки секрет ПЗ є складовою частиною еякуляту, а за умов патології

пригнічується здатність сперматозоїдів до рухливості і запліднення [36, 37, 41, 43, 48, 49, 50]. У зв'язку з цим в умовах кріогенного простатиту проводились дослідження щодо можливостей корекції фітозасобами порушень сперматогенезу у щурів.

За умов кріогенного простатиту у щурів встановлені виразні зміни всіх досліджуваних показників сперматогенезу (табл.4.5).

Таблиця 4.5.

**Вплив фітозасобів на показники сперматогенезу у щурів з кріогенною травмою ПЗ ( $M \pm m$ ) (n=8)**

Група тварин		Концентрація сперматозоїдів млн/мл суспензії	Термін збереження рухливості, хв	Патологічні форми сперматозоїдів, %
Інтактна група		16,8±1,4	242±21	20,8±1,6
Контрольна патологія		11,2±1,1*	165±19*	27,8±1,7*
Засоби корекції	ГЕЯС 150 мг/кг	19,1±2,4#	250±24#	22,6±2,0#
	Трібестан 60 мг/кг	16,9±2,0#	240±18#	22,0±1,6#
	Пепонен 106 мг/кг	14,0±1,1	219±14#	26,0±1,3*

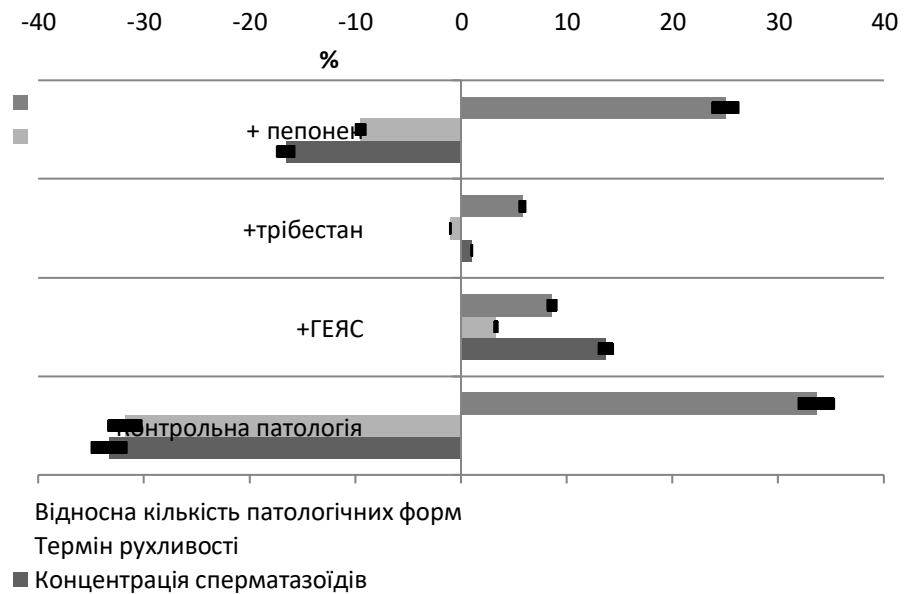
Примітки:

1. \* - ( $P < 0,05$ ) порівняно з інтактною групою;
2. # - ( $P < 0,05$ ) порівняно з групою контрольної патології.

Концентрація сперматозоїдів в суспензії придатків сім'яників знижувалась у 1,5 раза ( $P < 0,05$ ), термін збереження їхньої рухливості скорочувався на 31,8 % ( $P < 0,05$ ), кількість патологічних форм сперматозоїдів збільшувалась у 1,34 раза ( $P < 0,05$ ), що свідчить про виразні порушення сперматогенезу у щурів з кріогенним запаленням ПЗ.

Засоби корекції суттєво покращували показники сперматогенезу у щурів з кріотравмою ПЗ. Пепонен в умовах патології збільшував концентрацію сперматозоїдів у 1,25 раза ( $P > 0,05$ ), трібестан – у 1,51 раза ( $P < 0,05$ ), а ГЕЯС – у 1,71 раза ( $P < 0,05$ ). Під впливом ГЕЯС вміст сперматозоїдів за умов патології зберігався на рівні, який перевищував показник інтактної групи – (19,1±2,4) млн/мл проти (16,8±1,4) млн/мл у

інтактних тварин і  $(11,2 \pm 1,1)$  млн/мл у тварин групи контрольної патології ( $P < 0,05$ ). Це свідчить про виразний стимулюючий вплив цього фітозасобу на продукцію сперматозоїдів сім'яниками. При цьому всі фітозасоби в умовах експериментального простатиту сприяли збереженню рухливості сперматозоїдів протягом більш ніж 4 годин, що відповідає показникам інтактної групи



**Рис.4.3. Порівняльний вплив фітозасобів на зміни окремих показників сперматогенезу у щурів на моделі криогенної травми ПЗ (в % відхилення від показників інтактної групи)**

Фітозасоби суттєво зменшували кількість патологічних форм сперматозоїдів, вміст яких в умовах патології зростав з  $(20,8 \pm 1,6)$  % до  $(27,8 \pm 1,7)$  % ( $P < 0,05$ ). Зокрема під впливом ГЕЯС відносна кількість патологічних форм сперматозоїдів зменшувалась у 1,23 раза ( $P < 0,05$ ), трібестану – у 1,26 раза ( $P < 0,05$ ), пепонену – у 1,07 раза ( $P > 0,05$ ) порівняно з показниками групи контрольної патології.

Отже фітозасіб ГЕЯС за ефективністю корекції показників сперматогенезу у щурів з кріотравмою не поступається перед фітозасобом порівняння трібестаном і переважає за цією активністю фітозасіб пепонен, що



можливо пов'язано з більш виразними протизапальними властивостями цього фітозасобу, або прямим стимулюючим впливом на статеву систему окремих біологічно активних речовин, зокрема стероїдних сапонінів, що входять до його складу [10, 12, 14, 90, 102-105, 130].

Таким чином, результати проведених в розділі 4 досліджень дозволяють зробити наступні висновки:

1. В умовах експериментального кріотравматичного простатиту у щурів досліджувані фітозасоби проявляють протизапальну дію, що підтверджується зменшенням лейкоцитозу, анемії та рівня С-реактивного білка в сироватці крові тварин.

2. В умовах нітрозитивного стресу, викликаного кріогенною травмою, фітокорекція суттєво пригнічує активацію окиснювальних процесів в ПЗ (зменшує вміст ТБК-активних продуктів), ефективно коригує баланс ПОЛ/АОС шляхом активації ферментної (активність СОД, каталази, глутатіонредуктази) і неферментної (вміст  $\alpha$ -токоферолу, відновленого глутатіону) складової САЗ, а також знижує концентрацію оксиду азоту в сироватці крові та пригнічує накопичення в вогнищі запалення первинних і вторинних продуктів перекисної модифікації білка.

3. Досліджувані фітозасоби в умовах кріотравматичного простатиту спричиняють простатопротекторну дію: відновлюють масові коефіцієнти ПЗ і сім'яних пухирців та в умовах патології сприяють збереженню на рівні, близько до фізіологічних показників андрогенного статусу організму. Зокрема фітозасоби з різною ефективністю запобігають зниженню андрогенної насиченості організму: зменшують активність простатоспецифічної КФ в сироватці крові з одночасним підвищенням її вмісту в тканинах ПЗ, стабілізують співвідношення КФ/ЛФ, сприяють збереженню вмісту фруктози в гомогенаті СП та рівня тестостерону в сироватці крові, що може свідчити про відновлення порушеного морфофункціонального стану ПЗ на фоні лікування.

4 Засоби фітокорекції суттєво покращують показники сперматогенезу у

щурів з кріотравмою ПЗ. В умовах експериментального простатиту вони з різною ефективністю стимулюють продукцію сперматозоїдів, збільшують тривалість їхньої рухливості та зменшують відносну кількість патологічних форм сперматозоїдів, що вказує на їхній позитивний вплив на порушену в умовах патології репродуктивну функцію щурів.

5. Всі досліджувані фітозасоби виявили на моделі кріотравматичного простатиту у щурів простато- та гонадопротекторну активність. ГЕЯС в дозі 150 мг/кг за виразністю лікувальної дії не поступається перед закордонним аналогом на основі ЛРС якріців сланких трібестаном в дозі 60 мг/кг, а за позитивним впливом на окремі показники сперматогенезу (здатність зменшувати кількість патологічних форм сперматозоїдів) переважає обидва фітозасоби порівняння трібестан в дозі 60 мг/кг і пепонен в дозі 100 мг/кг, що можливо пов'язано з більш виразними протизапальними та антиоксидантними властивостями ГЕЯС, або прямим стимулюючим впливом на статеву систему окремих біологічно активних речовин, зокрема стероїдних сапонінів, що входять до його складу.

Фітозасіб пепонен в умовах експерименту виявив помірну простатопротекторну дію і поступався перед іншими фітозасобами за своїм коригуючим впливом на більшість з досліджуваних показників структурно-функціонального стану ПЗ.

Результати досліджень, наведені в розділі 4, знайшли своє відображення в наступних публікаціях:

1. Юнусова С. І. Простатопротекторна дія густого екстракту якріців сланких на моделі кріотравми передміхурової залози у щурів / С. І. Юнусова, Я. В. Рожковський, Б. В. Приступа, С. І. Богату// Фітотерапія. Часопис.-2022.- №3.-С.78-85. DOI: 10.33617/2522-9680-2022-3-78.

2. Юнусова С.І., Рожковський Я.В. Вплив густого екстракту якріців сланких на андрогенний статус та репродуктивну функцію самців щурів при експериментальному кріогенному простатиті. *Сучасна фармація: реалії сьогодення та перспективи розвитку*: матеріали Всеукраїнської науково-

практичної конференції з міжнародною участю, 9-12 квітня 2024 р., Одеса. С.165-168. (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

## РОЗДІЛ 5

### ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОСТАТОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ГЕЯС НА МОДЕЛІ ПРОСТАТИТУ, ВИКЛИКАНОГО УВЕДЕННЯМ СКИПИДАРУ

Відомо, що у гризунів, зокрема у піддослідних щурів, будова передміхурової залози відрізняється від людської. При цьому різні відділи ПЗ є гетерогенними за морфологією, вмістом рецепторів, гормональною регуляцією та інволюцією при зниженні концентрації андрогенів. Вважається, що вентральна частині ПЗ є андрогенозалежною, а дорсолатеральна – переважно естрогенозалежною. На відміну від моделі кріогенного ураження простати, яка моделює розвиток простатиту переважно в вентральній частці ПЗ, модель з ректальним уведенням скипидару з димексидом відтворює розвиток простатиту в дорсолатеральній частці ПЗ. За даними літератури, ця модель простатиту супроводжується одночасним порушенням гемодинаміки, патологічними зсувами імунологічного профілю та затримкою сечовиділення. Вона максимально відповідає клінічним проявам хронічного простатиту, а отже може широко використовуватись як для оцінки ефективності фармакотерапії, так і для скринінгу простатотропних лікарських речовин [169].

Відтворення скипидарної моделі хронічного абактерійного простатиту у щурів здійснювали одноразовим ректальним уведенням 1,0 мл суміші 10 % димексиду і скипидару у об'ємному співвідношенні 4 : 1, де скипидар виступав в ролі флогогену, а димексид – як пенетрант, який сприяє посиленню ефекту скипидару за рахунок активації його проникнення через слизову оболонку кишки, а також є знеболюючим засобом [169].

Для оцінки тяжкості стану щурів використовували гістологічний контроль, зміни маси простати, прижиттєву оцінку діурезу, а також відповідні зміни показників крові, сечі, оксидантно-антиоксидантного

балансу, інтегральних показників андрогенної насиченості організму та стану сперматогенезу.

### 5.1. Вплив ГЕЯС і фітозасобів порівняння на зміни гематологічних показників та діурезу у щурів з хронічним скипидарним простатитом

Нами встановлено, що через 30 діб після ректального уведення флогогену у всіх тварин спостерігалось важке запальне ураження ПЗ, яке виражалось в порушенні їхнього загального стану, сечовидільної функції, а також усіх досліджуваних показників гомеостазу тварин.

Таблиця 5.1.

#### Порівняльний вплив фітозасобів на гематологічні показники та вміст С- реактивного білка в сироватці крові у щурів на моделі скипидарного простатиту ( $M \pm m$ ) (n=8)

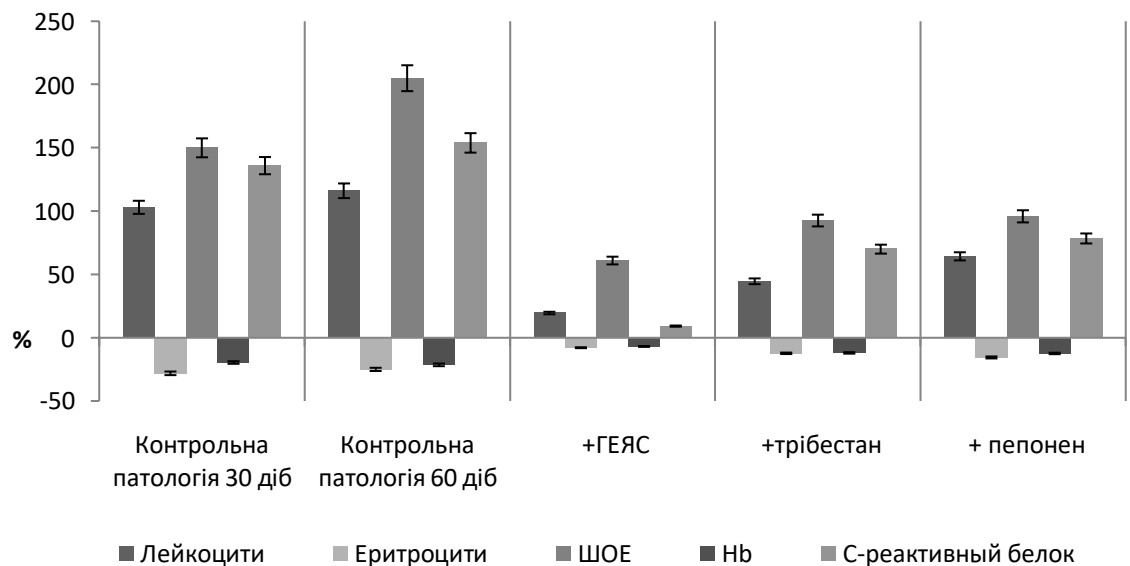
Показник	Інтактна група	Контроль на патологія 30 діб	Контроль на патологія 60 діб	Засоби корекції		
				ГЕЯС 150 мг/кг	Трібес тан 60 мг/кг	Пепонен 106 мг/кг
Лейкоцити, $10^9$ /л	11,20± 1,05	22,75± 1,45*	24,20± 3,02*	13,40± 1,12#	16,21± 0,80*#	18,40± 1,20*#
Еритроцити, $10^{12}$ /л	4,88± 0,06	3,51± 0,28*	3,66± 0,25*	4,50± 0,12*#	4,28± 0,20*#	4,12± 0,15*#
ШОЕ, мм/год	7,27± 0,50	18,18± 1,40*	22,20± 2,80*	11,70± 0,82*#	14,00± 1,43*#	14,25± 1,04*#
Нь, г/л	146,0± 3,2	117,5± 3,7*	114,9± 5,4*	136,1± 4,0*#	128,6± 4,5*#	128,0± 5,0*#
С-реактивний білок, мг/л	2,88± 0,38	6,80± 0,35*	7,27± 0,47*	3,15± 0,33#	4,90± 0,40#	5,14± 0,48*#

Примітки:

- \* - ( $P < 0,05$ ) порівняно з інтактною групою;
- # - ( $P < 0,05$ ) порівняно з групою контрольної патології (30 діб).

Як і за попередньої моделі експериментального простатиту, у тварин зі скипидарним простатитом спостерігалась анемія, лейкоцитоз, та виразне зростання ШОЕ і вмісту С-реактивного білка. При цьому гематологічні показники запального процесу у тварин, які не отримували лікування на 30-ту і 60-ту добу експерименту достовірно не відрізнялись, що вказує на хронічний характер запалення (табл.5.1).

Фармакотерапія, яка здійснювалась з 30-ту по 60-ту добу експерименту, показала здатність фітозасобів з різною ефективністю зменшувати виразність запального процесу в ПЗ. Найбільш ефективно коригував гематологічні показники фітозасіб ГЕЯС, який зменшував лейкоцитоз протягом терміну лікування на 44,6 %, ШОЕ – на 47,3 %, вміст С-реактивного білка на 56,7 % ( $P < 0,05$ ). На фоні лікувального впливу цього фітозасобу у тварин зменшувалась анемія: вміст еритроцитів порівняно з нелікованою групою зростав на 23,0 %, гемоглобіну – на 18,5 % ( $P < 0,05$ ).



**Рис.5.1. Зміни гематологічних показників у щурів на моделі скіпидарного хронічного простатиту на фоні фітокорекції (в % відхилення від показників інтактної групи)**

Ефективність трібестану і пепонену стосовно корекції гематологічних показників в зазначених умовах була співзмірною, проте за виразністю

меншою, порівняно з ГЕЯС. Це стосувалось у першу чергу їхньої достовірно нижчої, порівняно з ГЕЯС, здатності до стабілізації в умовах скипидарного простатиту вмісту лейкоцитів, ШОЕ та С-реактивного білка (рис.5.1).

Слід зазначити, що моделювання експериментального хронічного простатиту супроводжувалось суттєвим зниженням добового діурезу у щурів на 30-ту добу з моменту уведення флогогену, що ймовірно пов'язано зі збільшенням масових показників ПЗ. Зокрема через 30 діб діурез в умовах нелікованої патології зменшувався більш ніж на 47,9 % з  $(18,10 \pm 1,35)$  мл/добу до  $(9,43 \pm 1,39)$  мл/добу. За умов подальшого розвитку простатиту порушення діурезу ще більш посилювалось і на 60-ту добу він додатково зменшувався до  $(6,12 \pm 1,17)$  мл/добу ( $P < 0,05$ ). Суттєво зростала протеїнурія - з  $(163,1 \pm 21,0)$  мг/добу у інтактних тварин до  $(824,4 \pm 80,7)$  мг/добу через 30 діб і  $(1024 \pm 115,0)$  мг/добу через 60 діб після уведення флогогену (табл.5.2).

Таблиця 5.2.

**Зміни показників добового діурезу і екскретованого з сечею білка у щурів в умовах фармакологічної корекції експериментального простатиту, викликаного уведенням скипидару ( $M \pm m$ ) (n=8)**

Показник	Інтактна група	Контроль на патологія 30 діб	Контроль на патологія 60 діб	Засоби корекції		
				ГЕЯС 150 мг/кг	Трібестан 60 мг/кг	Пепонен 106 мг/кг
Діурез, мл/добу	$18,10 \pm 1,35$	$9,43 \pm 1,39$ *	$6,12 \pm 1,17$ *	$21,40 \pm 2,18$ #@	$14,20 \pm 1,30$ *#@	$11,46 \pm 1,52$ *#@
Білок сечі, мг/добу	$163,1 \pm 21,0$	$824,4 \pm 80,7$ *	$1024,0 \pm 115,0$ *	$282,2 \pm 44,5$ *#@	$440,7 \pm 51,0$ *#@	$603,0 \pm 48,8$ *#@

Примітки:

1. \* - ( $P < 0,05$ ) порівняно з інтактною групою;
2. # - ( $P < 0,05$ ) порівняно з групою контрольної патології (30 діб);
3. @ - ( $P < 0,05$ ) порівняно з групою контрольної патології (60 діб).

На нашу думку, суттєве збільшення протеїнурії за умов патології є наслідком виходу запального ексудату в просвіт уретри та попаданням його

компонентів у сечу.

В умовах хронічного простатиту ГЕЯС виявив найбільшу ефективність щодо стабілізації діурезу, відновлюючи його протягом 30 діб лікування до фізіологічного рівня – з  $6,12 \pm 1,17$  до  $(21,40 \pm 2,18)$  мл/добу. Застосування цього фітозасобу протягом 30-денного курсу більш ніж у 3,6 раз – з  $(1024,0 \pm 115,0)$  мг/добу до  $(282,2 \pm 44,5)$  мг/добу зменшувало добову екскрецію з сечею білку, що цілком узгоджується з результатами попередніх досліджень щодо позитивного впливу цього фітозасобу на гематологічні показники запального процесу. Водночас трібестан і пепонен за аналогічних умов лікування хронічного простатиту достовірно збільшували діурез відповідно у 2,32 і 1,87 раз та зменшували протеїнурію відповідно на 57,0 % і 41,1 % порівняно з аналогічними показниками нелікованих тварин. Отже, всі фітозасоби виявили лікувальні властивості, але за виразністю лікувального ефекту стосовно відновлення показників діурезу і зниження супутньої протеїнурії ГЕЯС в умовах даної моделі простатиту достовірно переважав відповідні властивості трібестану і пепонену.

## **5.2. Вплив ГЕЯС і фітозасобів порівняння на показники оксидантно-антиоксидантного балансу у щурів з хронічним скипидарним простатитом**

Як і за умов попередньої експериментальної моделі, відтворення у щурів хронічного скипидарного простатиту супроводжувалось виразними змінами оксидантно-антиоксидантного балансу, як в гомогенаті ПЗ, так і сироватці крові тварин. Нами досліджувався порівняльний вплив фітозасобів на активність окиснювальних процесів та стан антиоксидантної системи у тварин з хронічним простатитом відповідно через 30 та 60 діб після ректального уведення флогогенного фактора, а також на фоні лікування



простатиту, яке здійснювалось у терміні з 30-ї по 60-ту добу експерименту.

Досліди показали, що зафіксований дисбаланс окиснювальних процесів та системи антирадикального захисту у тварин з модельованим простатитом на 30-ту добу експерименту в умовах подальшого прогресування патології додатково посилювався (табл.5.3).

Таблиця 5.3.

**Порівняльний вплив фітозасобів на показники окисдантно-антиоксидантного балансу в гомогенаті передміхурової залози та сироватці крові у щурів на моделі хронічного простатиту, викликаного введенням скипидару ( $M \pm m$ ) (n=8)**

Показник	Інтактна група	Контрольна патологія 30 діб	Контрольна патологія 60 діб	Засоби корекції		
				ГЕЯС 150 мг/кг	Трібестан 60 мг/кг	Пепонен 106 мг/кг
Вміст МДА, мкмоль/г	31,0± 4,1	66,2± 6,8*	87,1± 5,8*#	44,4± 3,3*#@	48,0± 2,9*#@	55,1± 3,3*#@
Вміст МДА, мкмоль/л	0,46± 0,05	0,86± 0,06*	1,18± 0,10*#	0,60± 0,05*#@	0,55± 0,04#@	0,68± 0,05*#
Вміст ДК, мкмоль/г	3,06± 0,28	7,01± 0,25*	8,12± 0,25*#	4,44± 0,33*#@	4,00± 0,30*#@	5,88± 0,50*#@
Вміст ДК, мкмоль/л	0,046± 0,004	0,128± 0,016*	0,144± 0,015*	0,066± 0,006*#@	0,079± 0,008#@	0,102± 0,007*#@
Активність СОД, ум.од./мг білка	12,3± 0,6	6,2± 0,3*	5,2± 0,3*#	10,5± 0,6*#@	11,4± 0,5*#@	8,0± 0,5*#@
Активність каталази, ммольН <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /хв·г білка	2,87± 0,24	1,35± 0,07*	1,22± 0,06*	2,44± 0,19*#@	2,21± 0,09*#@	1,77± 0,06*#@
Глутатіонредуктаза, мкмоль/хв./мг білка	0,224± 0,014	0,146± 0,010*	0,126± 0,012*	0,190± 0,015*#@	0,184± 0,008*#@	0,160± 0,008*#@
Глутатіон відновлений, мкмоль/г	0,182± 0,016	0,118± 0,009*	0,098± 0,008*	0,180± 0,015#@	0,158± 0,009#@	0,130± 0,008*#@
Вміст α-токоферола, мкмоль/г	0,54± 0,04	0,25± 0,03*	0,28± 0,03*	0,45± 0,04#@	0,39± 0,03*#@	0,40± 0,03*#@
АФГ, ум.од./г білку	2,48± 0,17	3,59± 0,25*	4,44± 0,18*#	2,70± 0,25#@	3,30± 0,20*#@	3,90± 0,22*#@
КФГ, ум.од./г білку	1,53± 0,17	2,72± 0,23*	3,37± 0,20*#	1,57± 0,18#@	2,20± 0,23*#@	2,65± 0,16*#@
NOx, мкмоль/л	46,2± 3,80	90,7± 4,4*	98,2± 6,20*	48,8± 5,2*#	50,2± 6,3*#	80,1± 7,1*

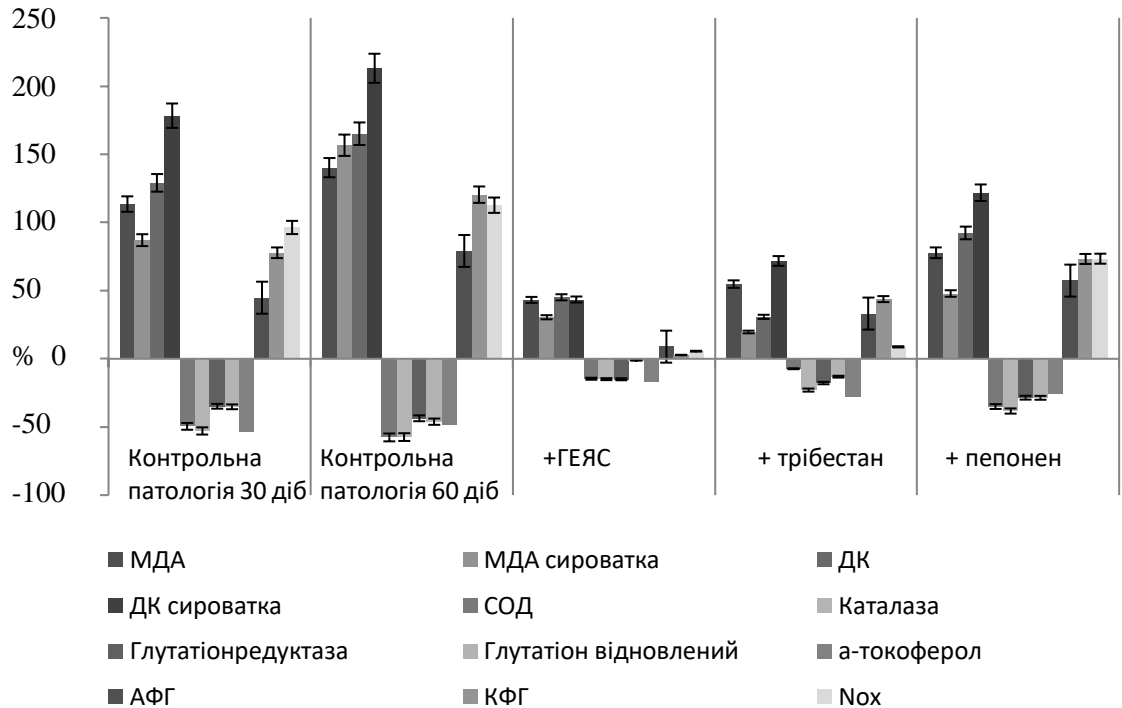
## Примітки:

1. \* - ( $P < 0,05$ ) порівняно з інтактною групою;
2. # - ( $P < 0,05$ ) порівняно з групою контрольної патології (30 діб);
3. @ - ( $P < 0,05$ ) порівняно з групою контрольної патології (60 діб).

Зокрема в групі контрольних тварин, яка не лікувалась протягом наступних 30 діб спостерігалось додаткове достовірне зростання рівня МДА в простаті на 31,6 %, в сироватці – на 37,2 %, вмісту ДК в простаті – на 15,8 %, підвищення вмісту продуктів перекисної модифікації білка АФГ і КФГ відповідно на 23,7 % та 20,2 % на фоні зниження активності СОД і вмісту відновленого глутатіону в простаті відповідно на 19,2 % і 20,4 % ( $P < 0,05$ ). Стосовно інших досліджуваних показників це додаткове посилення дисбалансу в системі ПОЛ/АОС не набувало достовірного характеру. Фармакологічна корекція досліджуваними фітозасобами суттєво пригнічувала активацію окиснювальних процесів в ПЗ Як і за умов попередньої експериментальної моделі простатиту, лікувальна ефективність ГЕЯС стосовно стабілізації показників окисдантно-антиоксидантного балансу в ПЗ щурів виявилась вищою, порівняно з референс-препаратами. Зокрема за лікувального впливу ГЕЯС вміст МДА в гомогенаті ПЗ зменшувався у 1,96 раза, ДК – у 1,83 раза, активність СОД зростала у 2,02 раза, каталази – у 2 рази, глутатіонредуктази – у 1,51 раза, вміст відновленого глутатіону – у 1,84 раза ( $P < 0,05$ ). При цьому вміст  $\alpha$ - токоферолу в ПЗ тварин, які отримували ГЕЯС залишався на найвищому рівні –  $(0,45 \pm 0,04)$  мкмоль/г, який у 1,61 раза перевершував вміст цього антиоксиданту у тварин, які протягом експерименту лікування не отримували.

В умовах хронічного простатиту, викликаного уведенням скипидару, ГЕЯС сприяв суттєвому зменшенню концентрації оксиду азоту в сироватці крові та відповідно вмісту продуктів окисної модифікації білка. Зокрема на фоні 30-добової терапії ГЕЯС вміст АФГ в ПЗ порівняно з показниками групи контрольної патології зменшувався у 1,64 раза, КФГ – у 2,15 раза ( $P < 0,05$ ) (рис.5.2).

У тварин, яким на фоні «скипидарної» моделі простатиту здійснювали лікування трібестаном, порушення оксидантно-антиоксидантного балансу в ПЗ також були мінімальними, проте за ефективністю гальмування накопичення вторинних продуктів перекисного окиснення білків в тканинах ПЗ цей фітозасіб достовірно поступався перед ГЕЯС.



**Рис.5.2. Порівняльний вплив фітозасобів на показники оксидантно-антиоксидантного балансу в гомогенаті передміхурової залози та сироватці крові на моделі скипидарного простатиту у щурів (в % відхилення від показників інтактної групи)**

Препарат пепонен на фоні 30-добового застосування також виявив антиоксидантні властивості, сприяв відновленню вмісту структурних антиоксидантів та активності антиоксидантних ферментів, проте за ефективністю корекції порушеного балансу ПОЛ/АОС достовірно поступався перед ГЕЯС та трібестаном. Зокрема пепонен не виявив активності щодо стабілізації в умовах патології надлишкового перекисного окиснення білків, про що свідчить збереження в ПЗ пролікованих цим препаратом щурів високого вмісту первинних і вторинних продуктів білкового окиснення (табл.5.3). Це може вказувати на інший характер

стабілізуючої дії цього фітозасобу, який може бути обумовлений іншим складом його фармакологічно активних речовин [14, 90, 102-105, 130].

### 5.3. Вплив ГЕЯС і фітозасобів порівняння на зміну маси ПЗ та показників андрогенного статусу у щурів з хронічним скипидарним простатитом

Подібний порівняльний лікувальний ефект досліджуваних фітозасобів стосувався й відносно їхнього впливу на зміну маси простати у щурів на фоні лікування ХП. Зважування ПЗ через 30 діб після моделювання простатиту показало істотне збільшення маси залози у порівнянні з нормальними показниками – у 1,60 раза ( $P < 0,05$ ) внаслідок її запалення та набряку і є важливим критерієм тяжкості патологічного процесу. Адже відомо, що запропонована модель ХП відображає патогенетичні зміни, обумовлені індукцією першої фази запалення - альтерації (ушкодження) тканин і клітин шляхом секреції медіаторів та венозної гіперемії (порушенням місцевої гемодинаміки) передміхурової залози [169].

Таблиця 5.4.

#### Порівняльний вплив фітозасобів на зміни маси передміхурової залози у щурів при лікуванні експериментального хронічного простатиту, викликаного ректальним уведенням скипидару з димексидом ( $M \pm m$ ) ( $n=8$ )

Показник	Інтактна група	Контрольна патологія 30 діб	Контрольна патологія 60 діб	Засоби корекції		
				ГЕЯС 150 мг/кг	Трібестан 60 мг/кг	Пепонен 106 мг/кг
Маса передміхурової залози, мг	526,0±22,7	840,3±26,6*	866,8±30,1*	570,4±28,8#	618,4±20,0*#	750,1±32,0*#
Зміна маси ПЗ порівняно з контрольною патологією (60 діб), %				-34,2	-28,7	-13,5

Примітки:

1. \* - ( $P < 0,05$ ) порівняно з інтактною групою;
2. # - ( $P < 0,05$ ) порівняно з групою контрольної патології (60 діб).

Проте подальше спостереження протягом наступних 30 діб не виявило достовірних змін маси цього органу порівняно з показником попередньої групи тварин, що може свідчити на хронічний характер запалення, яке зберігається в тканинах ПЗ навіть через 60 діб після уведення флогогену (табл.5.4).

На фоні лікування маса ПЗ відносно показника нелікованої групи (60 діб) зменшувалась під впливом ГЕЯС на 34,2 % ( $P < 0,05$ ), під впливом трібестану – на 28,7 % ( $P < 0,05$ ) і пепонену – на 13,5 % ( $P < 0,05$ ), що опосередковано може свідчити про позитивний вплив фітозасобів на перебіг запального процесу у цьому органі. Досліджувані препарати в умовах 30-денного застосування активно відновлювали показники андрогенного статусу, які зазнавали суттєвих змін на фоні хронічного простатиту.

«Скипидарна» модель хронічного простатиту характеризувалась ще більшим зростанням рівня простатоспецифічного ферменту КФ в сироватці крові, що свідчить про виразну деструкцію епітелію простатичних залоз на 30-ту добу після уведення флогогену. Встановлено, що в групі тварин, яким протягом наступних 30 діб фармакотерапія не проводилась, активність цього ферменту в гомогенаті залози зменшувалась, але в сироватці крові продовжувала додатково зростати з  $(1,66 \pm 0,12)$  ммоль/год\*л до  $(2,13 \pm 0,15)$  ммоль/год\*л ( $P < 0,05$ ), що може свідчити про посилення цитолітичних процесів та подальший розвиток ушкоджень епітелію простатичних залоз в умовах запалення.

Суттєве порушення андрогенної насиченості організму за умов досліджуваної моделі хронічного простатиту підтверджується різнобічними змінами коефіцієнту КФ/ЛФ в сироватці крові та гомогенаті ПЗ, а також більш ніж дворазовим зменшенням вмісту фруктози в СП залози – з  $(3,76 \pm 0,25)$  до  $(1,70 \pm 0,20)$  ммоль/л на 30-ту добу і до  $(1,21 \pm 0,18)$  ммоль/л - на

60-ту добу спостережень після уведення скипидару. Це корелювало з аналогічною динамікою зменшення вмісту тестостерону в сироватці крові – з  $25,1 \pm 1,7$  до  $(14,00 \pm 1,1)$  нмоль/л ( $P < 0,05$ ) на 30-ту добу експерименту, яка посилювалась і через 60 діб після уведення флогогену рівень тестостерону знижувався до  $(11,2 \pm 1,1)$  нмоль/л ( $P < 0,05$ ) (табл.5.5).

Таблиця 5.5.

**Порівняльний вплив фітозасобівт на зміни окремих показників андрогенного статусу у щурів при лікуванні хронічного простатиту, викликаного ректальним уведенням скипидару з димексидом ( $M \pm m$ ) ( $n=8$ )**

Показник	Інтактна група	Контрольна патологія 30 діб	Контрольна патологія 60 діб	Засоби корекції		
				ГЕЯС 150 мг/кг	Трібестан 60 мг/кг	Пепонен 106 мг/кг
Активність КФ у сироватці крові, ммоль/год л	$0,80 \pm 0,07$	$1,66 \pm 0,12$ *	$2,13 \pm 0,15$ *	$0,98 \pm 0,10$ #	$1,20 \pm 0,10$ *#	$1,70 \pm 0,12$ *#
Активність ЛФ у сироватці крові ммоль/год л	$3,04 \pm 0,21$	$3,98 \pm 0,18$ *	$4,10 \pm 0,22$ *	$3,31 \pm 0,21$ #	$3,27 \pm 0,24$ #	$3,66 \pm 0,20$ *#
КФ/ЛФ у сироватці крові	0,26	0,42	0,52	0,29	0,37	0,46
Активність КФ у гомогенаті ПЗ, ммоль/год г білка	$1,95 \pm 0,18$	$1,16 \pm 0,10$ *	$0,90 \pm 0,10$ *	$1,58 \pm 0,08$ *#	$1,65 \pm 0,10$ #	$1,28 \pm 0,12$ *#
Активність ЛФ у гомогенаті ПЗ, ммоль/год г білка	$2,50 \pm 0,20$	$3,44 \pm 0,21$ *	$3,77 \pm 0,20$ *	$2,80 \pm 0,23$ #	$2,99 \pm 0,20$ *#	$3,00 \pm 0,14$ *#
КФ/ЛФ в гомогенаті ПЗ	0,78	0,34	0,24	0,56	0,55	0,43
Вміст фруктози у СП, ммоль/л	$3,76 \pm 0,25$	$1,70 \pm 0,20$ *	$1,21 \pm 0,18$ *	$3,10 \pm 0,28$ *#	$3,12 \pm 0,25$ *#	$2,07 \pm 0,27$ *#
Вміст Тс, нмоль/л	$25,1 \pm 1,7$	$14,0 \pm 1,1$ *	$11,2 \pm 1,1$ *	$20,0 \pm 1,5$ * #	$20,8 \pm 1,4$ * #	$14,8 \pm 1,2$ * #

Примітки:

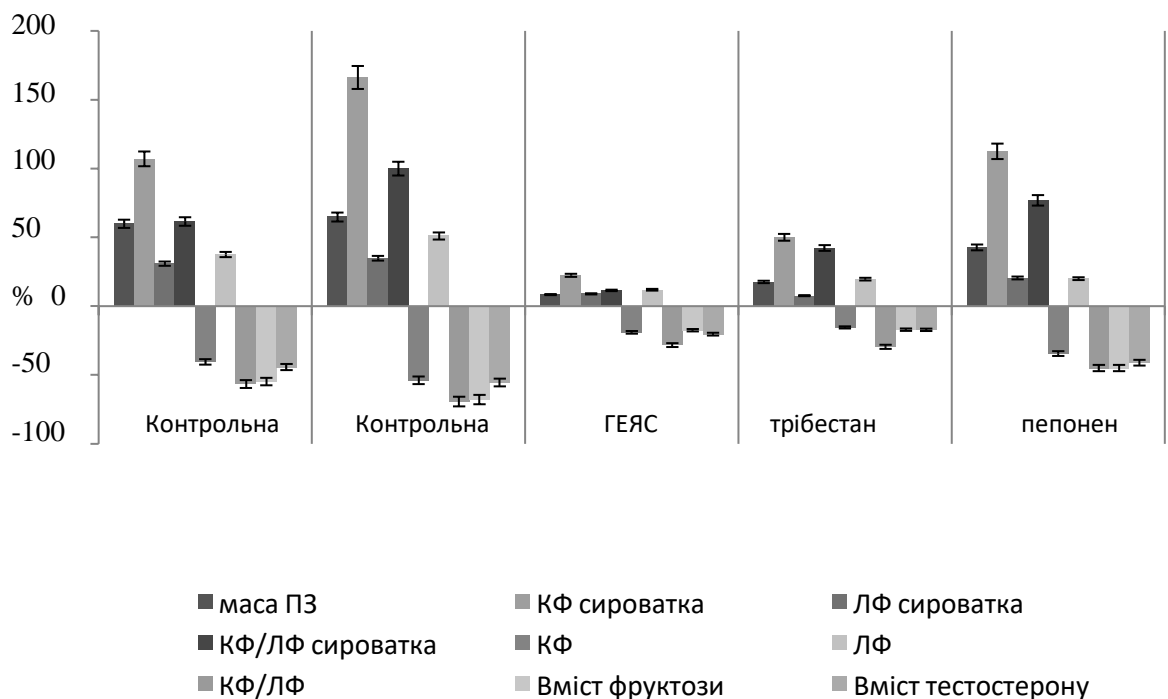
1. \* - ( $P < 0,05$ ) порівняно з інтактною групою;

2. # - ( $P < 0,05$ ) порівняно з групою контрольної патології (60 діб).

Отже, не зважаючи на збільшення маси ПЗ в умовах запропонованої

моделі хронічного простатиту, показники андрогенного статусу зазнають змін, які можуть свідчити про функціональну недостатність статевої системи організму.

На тлі 30-добової терапії фітозасобом ГЕЯС спостерігалось ефективне відновлення порушених показників андрогенного статусу. Зменшувався до рівня інтактної групи вміст КФ в сироватці крові з одночасним підвищенням активності цього ферменту в тканинах ПЗ, спостерігалась стабілізація коефіцієнту КФ/ЛФ. На фоні застосування ГЕЯС вміст фруктози в СП у тварин з хронічним простатитом зростав у 2,56 раза ( $P < 0,05$ ), а рівень тестостерону – у 1,79 раза ( $P < 0,05$ ) (рис.5.3).



**Рис.5.3. Порівняльний вплив фітозасобів на зміни показників андрогенного статусу при лікуванні щурів з хронічним простатитом, викликаним ректальним уведенням скипидару з димексидом (в % відхилення від показників інтактної групи) ( $M \pm m$ ) (n=8)**

Інший препарат на основі ЛРС якірців сланких – трібестан за

виразністю стабілізуючого впливу на показники андрогенного статусу тварин в умовах запропонованої моделі простатиту не поступався перед ГЕЯС. Терапія цим препаратом, яка здійснювалась протягом 30 діб, стабілізувала показники цитолізу, відновлювала природне співвідношення активності простатоспецифічного ферменту КФ в тканинах залози і в сироватці крові та підвищувала рівень фруктози і тестостерону в організмі пролікованих тварин фактично до показників інтактної групи.

Найменш ефективним в умовах експерименту виявився лікувальний ефект пепонену. Терапія цим засобом призводила до зменшення активності КФ в сироватці крові у 1,25 раза ( $P < 0,05$ ) з одночасним підвищенням активності цього ферменту в тканинах ПЗ у 1,42 раза ( $P < 0,05$ ), що вказує про зменшення інтенсивності процесів цитолізу в клітинах ендотелію ПЗ. На фоні лікування цим препаратом достовірно зменшувалась активність лужної фосфатази, покращувалось співвідношення КФ/ЛФ, вміст фруктози в СП зростав на 71,1 % ( $P < 0,05$ ), а рівень тестостерону в сироватці крові збільшувався на 32,1 % ( $P < 0,05$ ). Проте за ефективністю корекції цих специфічних маркерів рівня андрогенізації та фертильності організму в умовах хронічного простатиту пепонен поступався перед ГЕЯС і трібестаном, що вказує на поміркований позитивний вплив цього препарату на структурно-функціональний стан ПЗ.

#### **5.4. Вплив ГЕЯС і фітозасобів порівняння на зміни показників сперматогенезу у щурів з хронічним простатитом**

В умовах досліджуваної моделі експериментального хронічного простатиту суттєво страждала й репродуктивна функція щурів, яка оцінювалась за характерними змінами спермограми. Нами встановлено, що через 30 діб після уведення флогогену концентрація сперматозоїдів в



еякуляті піддослідних щурів зменшувалась у 1,65 раза ( $P < 0,05$ ), їх рухлива здатність знижувалась у 1,51 раза ( $P < 0,05$ ), а відносна кількість патологічних форм сперматозоїдів зростала з  $(20,8 \pm 1,6) \%$  до  $(28,1 \pm 3,0) \%$  ( $P < 0,05$ ).

У тварин, яким протягом наступних 30 діб експерименту лікування не проводилось, негативні зміни спермограми посилювались – концентрація сперматозоїдів в еякуляті додатково зменшувалась з  $(10,2 \pm 1,3)$  млн/мл суспензії до  $(8,6 \pm 1,2)$  млн/мл суспензії ( $P > 0,05$ ), тривалість їхньої рухливості скорочувалась на 18,7 % ( $P > 0,05$ ), а кількість патологічних форм в суспензії придатків сім'яників зростала з  $(28,1 \pm 3,0) \%$  до  $(35,8 \pm 3,7) \%$  ( $P > 0,05$ ).

Отже, негативні зміни репродуктивної функції щурів за показниками спермограми при хронічному «скипидарному» простатиті є більш виразними, порівняно з простатитом, викликаним кріогенною травмою (Розділ 3), і при відсутності терапії мають тенденцію до поглиблення.

Фармакотерапія хронічного простатиту, яка здійснювалась з 30-ї по 60-ту добу після уведення тваринам скипидару спричиняла позитивний вплив на показники спермограми. Концентрація сперматозоїдів при лікуванні ГЕЯС у порівнянні з нелікованою групою збільшувалась у 1,74 раза ( $P < 0,05$ ), при лікуванні трібестаном – у 1,80 раза ( $P < 0,05$ ), пепоненом – у 1,29 раза ( $P > 0,05$ ), що свідчить про їх виразний позитивний вплив на продукцію сперматозоїдів сім'яниками. Терапія хронічного простатиту фітопрепаратами на основі якріців сланких також відновлювала до фізіологічного рівня рухливість сперматозоїдів та зменшувала відносну кількість їх патологічних форм при застосуванні ГЕЯС – у 1,51 раза і трібестану – у 1,49 раза ( $P < 0,05$ ) (табл.5.6).

Таблиця 5.6.

**Порівняльний вплив фітозасобів на зміни показників сперматогенезу у щурів при лікуванні хронічного простатиту, викликаного ректальним уведенням скипидару з димексидом ( $M \pm m$ ) ( $n=8$ )**

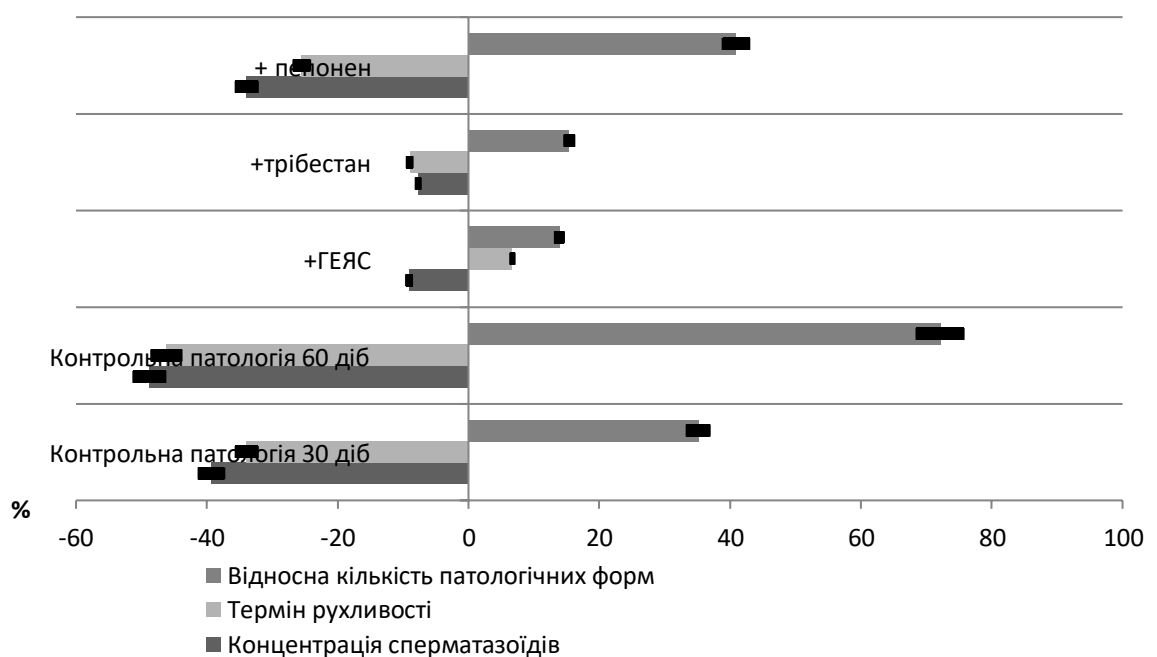
Група тварин		Концентрація сперматозоїдів в млн/мл суспензії	Термін збереження рухливості, хв	Патологічні форми сперматозоїдів, %
Інтактна група		16,8±1,4	242,0±21	20,8±1,6
Контрольна патологія 30 діб		10,2±1,3*	160±14*#	28,1±3,0*
Контрольна патологія 60 діб		8,6±1,2*	130,1±11*	35,8±3,7*
Засоби корекції	ГЕЯС 150 мг/кг	15,0±2,1#	258,1±26#	23,7±2,0#
	Трібестан 60 мг/кг	15,5±2,0#	220,2±20#	24,0±3,0#
	Пепонен 106 мг/кг	11,1±0,9*	180,4±16*#	29,3±3,1*

Примітки:

1. \* - ( $P < 0,05$ ) порівняно з інтактною групою;

2. # - ( $P < 0,05$ ) порівняно з групою контрольної патології (60 діб).

У тварин, яким лікування проводили пепоненом також спостерігалась позитивна динаміка змін показників спермограми: у 1,39 раза ( $P < 0,05$ ) збільшувалась тривалість рухливості сперматозоїдів, на 18,2 % ( $P > 0,05$ ) зменшувалась кількість патологічних форм цих клітин, проте на відміну від ефектів ГЕЯС і трібестану, цей фітозасіб не відновлював досліджувані показники спермограми до рівня інтактної групи (рис.5.4).



**Рис.5.4. Порівняльний вплив фітозасобів на зміни окремих показників сперматогенезу у щурів при лікуванні хронічного «скипидарного» простатиту (в % відхилення від показників інтактної групи) ( $M \pm m$ ) (n=10)**

Отже нами встановлено, що досліджуваний фітозасіб ГЕЯС за ефективністю корекції показників спермограми у щурів з хронічним простатитом, який змодельований ректальним введенням скипидару з димексидом, не поступається перед фітозасобом порівняння трібестаном і переважає за лікувальною ефективністю фітозасіб пепонен. Ймовірно, що зафіксована нами більш висока лікувальна ефективність препаратів на основі якріців сланких (ГЕЯС і трібестан) порівняно з пепоненом пов'язана з особливостями стимулюючого впливу на репродуктивну систему окремих фармакологічно активних речовин – флавоноїдів, стероїдних сапонінів, що входять до їхнього складу [14, 90, 102-105, 130].

### **5.5. Вплив ГЕЯС і фітозасобів порівняння на фізіологічний стан ендотелію судин у щурів з хронічним простатитом**

На сьогоднішній день відомо, що однією з ключових ланок у патогенезі хронічного простатиту є порушення гемодинаміки та мікроциркуляції передміхурової залози [1, 2, 4, 20-24, 34, 51]. Тому для оцінки простатопротекторної дії обраних нами фітозасобів було важливим оцінити їхній порівняльний вплив на функціональний стан ендотелію судин в умовах скипидарного простатиту у щурів. Для оцінки функціонального стану ендотелію судин в крові тварин з експериментальним хронічним простатитом досліджували зміни вмісту S-нітрозотіолів (S-NO) та ендотеліну-1, які, як відомо, є фізіологічними маркерами відповідно вазодилатації та вазоконстрикції [162, 172], а також оцінювали зміни активності ендотеліальної та індуцибельної синтази оксиду азоту [173, 174].

Дослідження показали, що ХП супроводжується розвитком виразного дисбалансу між процесами вазодилатації та вазоконстрикції. Вміст нітрозотіолів на 30-ту добу після уведення щурам скипидару достовірно знижувався у 1,65 раза. У тварин, які протягом наступних 30 днів лікування не отримували спостерігалось додаткове подальше зменшення в крові вмісту S-NO з  $(0,26 \pm 0,01)$  нмоль/мг білка до  $(0,20 \pm 0,02)$  нмоль/мг білка ( $P < 0,05$ ), що свідчить про погіршення здатності судин до вазодилатації. При цьому зменшення рівня ендогенного регулятора вазодилатації спостерігається на фоні суттєвого зростання рівня фактора вазоконстрикції – ендотеліну-1 з  $(6,26 \pm 0,14)$  пг/мл у інтактних тварин до  $(7,10 \pm 0,40)$  пг/мл у тварин на 30-ту добу і до  $(7,88 \pm 0,25)$  пг/мл на 60-ту добу після уведення тваринам флогогену.

Дослідження рівня ендотеліну-1 поряд з аналізом вмісту S-NO обумовлено тим, що, як зазначалось, застійні процеси в судинному руслі передміхурової залози є однією із ключових ланок в патогенезі хронічного простатиту. Отже нами показано, що хронічний простатит, викликаний ректальним уведенням щурам скипидару супроводжується розвитком запального процесу в тканинах ПЗ та ендотеліальної дисфункції внаслідок дисбалансу між процесами вазодилатації і вазоконстрикції.

Фармакотерапія хронічного простатиту обраними фітозасобами суттєво зменшувала виразність цього дисбалансу. Найбільш ефективно впливав на порушену ендотеліальну функцію ГЕЯС. Застосування цього фітозасобу з 30-ї по 60-ту добу експерименту відновлювало в сироватці крові тварин до фізіологічного рівня вміст S-NO та сприяло нормалізації вазоконстрикторного потенціалу - у 1,86 раза з  $7,88 \pm 0,25$  до  $(4,24 \pm 0,20)$  пг/мл ( $P < 0,05$ ) зменшувало рівень ендотеліну-1 (табл.5.7).

Таблиця 5.7.

**Порівняльний вплив фітозасобів на зміни вмісту S-нітрозотіолів та ендотеліну-1 в крові у щурів при лікуванні хронічного простатиту, викликаного ректальним уведенням скипидару з димексидом ( $M \pm m$ ) (n=8)**

Група тварин		Вміст (S-NO) нмоль/мг білка	Вміст ендотеліну-1 пг/мл
Інтактна група		0,43±0,03	3,26±0,14
Контрольна патологія 30 діб		0,26±0,01*#	7,10±0,40*
Контрольна патологія 60 діб		0,20±0,02*	7,88±0,25*
Засоби	ГЕЯС 150 мг/кг	0,40±0,02#	4,24±0,20*#
корекц	Трібестан 60 мг/кг	0,33±0,03*#	4,50±0,21*#
ії	Пепонен 106 мг/кг	0,28±0,01*#	6,04±0,18*#

Примітки:

1. \* - ( $P < 0,05$ ) порівняно з інтактною групою;
2. # - ( $P < 0,05$ ) порівняно з групою контрольної патології (60 діб).

Подібним, але дещо меншим за виразністю лікувальної дії, виявився ефект трібестану. Терапія цим засобом збільшувала вміст S-NO у 1,65 раза ( $P < 0,05$ ) та відповідно зменшувала у 1,75 раза ( $P < 0,05$ ) рівень ендотеліну-1 порівняно з групою тварин, які лікування не отримували, що може свідчити на користь його позитивного впливу на процеси гемодинаміки та мікроциркуляції в ПЗ тварин з хронічним простатитом.

Лікування тварин пепоненом також виявило його позитивний вплив на ендотеліальну функцію, порушену в умовах хронічного простатиту, але цей ефект був мінімальним. Вміст S-NO та ендотеліну-1 в крові у тварин, залишався на рівні, який свідчить про збереження на фоні лікування цим препаратом дисбалансу між вазодилатацією та вазоконстрикцією, а отже про нездатність цього фітозасобу повністю усувати ендотеліальну дисфункцію, зафіксовану нами в умовах хронічного скипидарного простатиту.

В умовах патології в крові у щурів з хронічним простатитом нами також встановлені різнобічні зміни активності ендотеліальної і індукцибельної NO-синтази. Найбільш виразні зміни активності цих ферментів фіксувались через 30 діб після моделювання патологічного процесу. У цьому періоді спостережень активність eNO-синтази зменшувалась з  $(0,88 \pm 0,03)$  мкмоль/л/годину до  $(0,31 \pm 0,01)$  мкмоль/л/годину ( $P < 0,05$ ), у той час як

активність іNO-синтази відповідно зростала з  $(0,22 \pm 0,02)$  мкмоль/л/годину до  $(0,46 \pm 0,02)$  мкмоль/л/годину ( $P < 0,05$ ). Протягом наступних 30 діб спостережень у тварин контрольної патології на 60-ту добу виявлений дисбаланс активності зазначених ферментів дещо знижувався, що характерно для хронічного простатиту, але все ж активність eNO-синтази у 1,83 раза була нижчою ( $P < 0,05$ ), а іNO-синтази – у 1,64 раза ( $P < 0,05$ ) перевищувала відповідний показник інтактної групи. Зафіксоване зниження активності ендотеліальної NO-синтази при змодельованому патологічному процесі при одночасному підвищенні активності індукцибельної NO-синтази підтверджує їх компенсаторний взаємозв'язок [172].

Відомо, що синтез оксиду азоту із L-аргініну відбувається під дією NO-синтаз. Ендотеліальна NO-синтаза забезпечує синтез оксиду азоту у нормальних фізіологічних умовах і зниження її активності свідчить про порушення нормального функціонування ендотеліоцитів. Водночас індукцибельна NO-синтаза активується як відповідь на дію патогенних факторів, зокрема при запальному процесі [172, 173]. Надлишкова концентрація NO, яка виробляється внаслідок активації іNOS, негативно впливає на метаболізм ендотелію судин ПЗ, спричиняючи дефіцит енергії. Також при гіперпродукції оксиду азоту його токсичний ефект підсилюється пероксинітридом, який здатний ініціювати апоптоз [47, 48, 50, 172, 174, 194]. Отже, встановлене нами підвищення активності індукцибельної синтази оксиду азоту підтверджує наявність запального процесу та розвиток ендотеліальної дисфункції при експериментальному хронічному простатиті. Отже, отримані в нашому дослідженні дані свідчать про те, що при експериментальному хронічному простатиті відбувається порушення роботи ендотелію судин.

Фармакотерапія, яка проводилась з 30-ї по 60-ту добу перебігу хронічного простатиту суттєво зменшувала, а при застосуванні ГЕЯС повністю нівелювала встановлений вище дисбаланс активності ендотеліальної і індукцибельної NO-синтази (табл.5.8).

**Порівняльний вплив фітозасобів на активність ендотеліальної і індукцйбельної NO-синтази в крові у щурів при лікуванні хронічного «скипидарного» простатиту, (мкмоль/л/годину), (M ± m) (n=8)**

Група тварин		Активність eNO-синтази	Активність iNO-синтази	Коефіцієнт eNO/iNO
Інтактна група		0,88±0,03	0,22±0,02	4,00±0,21
Контрольна патологія 30 діб		0,31±0,01*#	0,46±0,02*#	0,67±0,10*#
Контрольна патологія 60 діб		0,48±0,03*	0,36±0,03*	1,33±0,12*
Засоби корекції	ГЕЯС 150 мг/кг	0,92±0,04#	0,23±0,01#	4,02±0,24#
	Трібестан 60 мг/кг	0,83±0,03#	0,28±0,01*#	2,96±0,24*#
	Пепонен 106 мг/кг	0,60±0,02*#	0,33±0,02*	1,82±0,16*#

Примітки:

1. \* - (P < 0,05) порівняно з інтактною групою;
2. # - (P < 0,05) порівняно з групою контрольної патології (60 діб).

Зокрема у тварин, які отримували ГЕЯС, активність eNO-синтази зростала у 1,92 раза, а iNO-синтази – зменшувалась відповідно у 1,28 раза порівняно з цим показником у тварин, які лікування не отримували. На фоні терапії ГЕЯС коефіцієнт eNO/iNO підвищувався з 1,33±0,12 у нелікованій групі до фізіологічного рівня - 4,02±0,24, що може свідчити про ефективну корекцію цим фітозасобом запального процесу в ПЗ та відновлення фізіологічного стану ендотелію судин у тварин.

Лікування тварин референс-препаратом трібестаном також виявило його здатність до корекції зафіксованого в умовах хронічного простатиту дисбалансу активності ендотеліальної і індукцйбельної NO-синтази. Цей фітозасіб в умовах курсового 30-денного застосування відновлював до фізіологічного рівня у хворих на простатит щурів активність eNO-синтази, зменшував у 1,29 раза (P < 0,05) надмірну активність iNO-синтази, підвищував з 1,33±0,12 до рівня 2,96±0,24 коефіцієнт eNO/iNO, проте за виразністю стабілізуючої дії стосовно досліджуваних показників ендотеліальної

дисфункції все ж достовірно поступався перед ГЕЯС.

Найменш ефективно при лікуванні хронічного простатиту коригував порушену активність досліджуваних ферментів препарат пепонен. На фоні його 30-денного застосування активність eNO-синтази достовірно зростала порівняно з нелікованою групою у 1,25 раза, однак активність iNO-синтази у щурів зазначеної групи залишалась на рівні, який достовірно не відрізнявся від активності цього ферменту у нелікованих тварин, що вказує на нездатність цього фітозасобу ефективно коригувати в умовах патології активність індукцибельної NO-синтази. Це частково може свідчити про менш виразні протизапальні властивості цього препарату та його меншу здатність до корекції зафіксованої нами ендотеліальної дисфункції в умовах хронічного простатиту.

Отже, нами встановлено, що фармакотерапія обраними фітозасобами, яка виявилась найбільш ефективною при застосуванні ГЕЯС, нормалізує функціональний стан ендотелію судин у тварин з експериментальним хронічним простатитом шляхом стабілізації вмісту S-NO та ендотеліну-1, відновлення природного співвідношення вазодилатаційно - вазоконстрикторного потенціалу, необхідного для нормального функціонування передміхурової залози, а також реалізується за рахунок корекції дисбалансу активності маркерів ендотеліальної дисфункції - ендотеліальної і індукцибельної NO-синтази.

### **5.6. Вплив ГЕЯС на показники імунологічної резистентності щурів в умовах хронічного скипидарного простатиту**

Безперечним є той факт, що імунні реакції є провідними в комплексі адаптивно-компенсаторних механізмів, що забезпечують захист організму в умовах дії екстремальних факторів [175]. Тому не викликає жодних сумнівів участь імунних процесів в патогенетичних механізмах розвитку і перебігу



хронічного простатиту. Зокрема відомо, що здатність лейкоцитів та лімфоцитів крові до проліферації може бути важливим критерієм перебігу запального процесу та виступати одним з критеріїв ефективності запропонованих методів лікування [31, 32, 33, 44-46, 197]. Для з'ясування участі імунних механізмів у забезпеченні лікувальної дії досліджуваних фітозасобів, у тварин з хронічним скипидарним простатитом досліджували їхній вплив на проліферативну активність лімфоцитів периферичної крові, функціональну активність нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові в спонтанному та індукованому НСТ-тесті, а також на фоні лікування оцінювали відповідні зміни вмісту Ig, ЦК та цитокінового профілю в сироватці крові.

#### **5.6.1. Порівняльний вплив фітозасобів на проліферативну активність лімфоцитів периферичної крові у щурів з хронічним скипидарним простатитом**

Однією з об'єктивних характеристик, яка відображає функціональну активність лімфоцитів є їх здатність до проліферації під впливом різних комітогенних факторів [175]. Одним з таких факторів є конканавалін-А, який широко використовується в експериментах, оскільки здатний спричиняти специфічний лімфоцитаактивуючий вплив, передусім на Т-лімфоцити.

Здатність лімфоцитів до проліферації оцінювали за результатами проби з внутрішньошкірним уведенням Кон А (табл.5.9).

Таблиця 5.9.

**Порівняльний вплив фітозасобів на проліферативну активність лімфоцитів периферичної крові щурів з хронічним простатитом, ( $M \pm m$ ) (n=10)**

Показник	Інтактна група	Контрольна патологія 30 діб	Контрольна патологія 60 діб	Засоби корекції		
				ГЕЯС 150 мг/кг	Трібестан 60 мг/кг	Пепонен 106 мг/кг
Процент збільшення ваги (%)	36,5±1,7	22,0±1,3 *	21,9±1,0 *	34,4±1,4 #	27,2±1,3 *#	27,9±1,4 *#

Примітки:

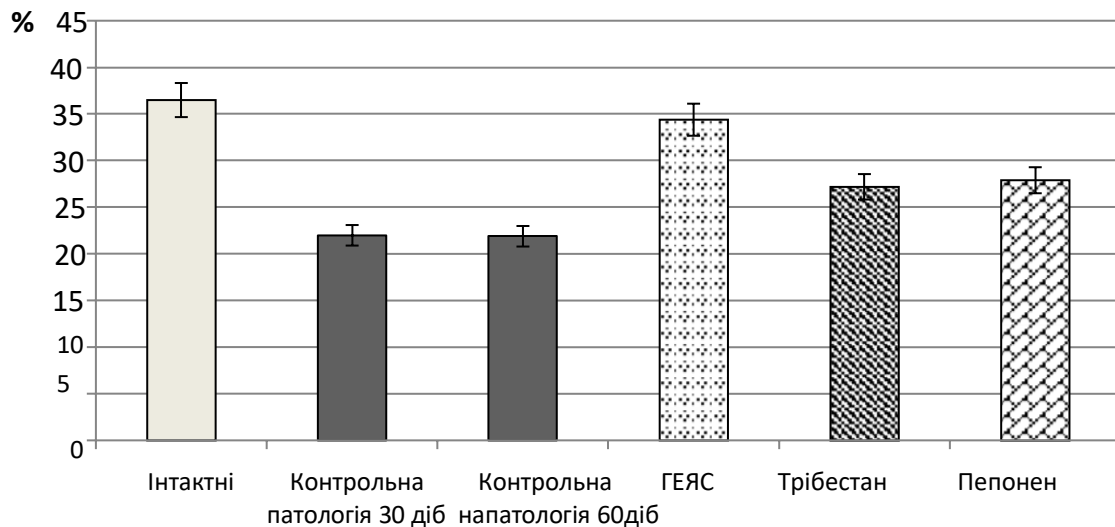
1. \* - ( $P < 0,05$ ) порівняно з інтактною групою;
2. # - ( $P < 0,05$ ) порівняно з групою контрольної патології (60 діб).

Результати досліджень показали, що внутрішньошкірне введення Кон-А інтактним щурам у вуха викликало утворення інфільтрату і збільшувало вагу вуха на 36,50 % ( $P < 0,05$ ). Вивчення мітогенного впливу Кон-А у щурів з ХП здійснювали на 30-ту і 60-ту добу після ректального уведення скипидару. Облік реакції проводили через 48 годин після внутрішньошкірного уведення щурам Кон А. Лікування хронічного простатиту здійснювалось шляхом щоденного одноразового внутрішньощлункового уведення ГЕЯС і препаратів порівняння протягом місяця з 30-ї по 60-ту добу експерименту.

Встановлено, що у щурів через 30 діб після ректального уведення флогогену проліферативна активність Т-лімфоцитів знижувалась у 1,66 раза ( $P < 0,05$ ) і при відсутності лікування залишалась на цьому ж низькому рівні до закінчення експерименту. Лікування хронічного простатиту за допомогою ГЕЯС, яке здійснювалось з 30-ї по 60-ту добу експерименту, відновлювало до фізіологічного рівня пригнічену в умовах патології проліферативну активність лімфоцитів, збільшуючи її до (34,4±1,4) % порівняно з (21,9±1,0) % ( $P < 0,05$ ) у тварин, які терапії не отримували.

Лікування ХП фітозасобом ГЕЯС усувало негативні зміни проліферативної активності лімфоцитів більш радикально, порівняно з аналогічним ефектом референс-препаратів. Зокрема у тварин, пролікованих трібестаном, збільшення ваги інфільтрату становило (27,2±1,3) %, при

лікуванні пепоненом  $-(27,9 \pm 1,4)$  %, що відповідно у 1,26 раза ( $P < 0,05$ ) і 1,23 раза ( $P < 0,05$ ) нижче, ніж при аналогічному застосуванні ГЕЯС (рис.5.5).



**Рис. 5.5. Зміни проліферативної активності лімфоцитів периферичної крові щурів з хронічним скипидарним простатитом на фоні лікування за даними проби з Кон А (в % збільшення ваги інфільтрованого органу)( $M \pm m$ ) (n=8)**

Отже, досліджувані лікувальні засоби суттєво зменшують негативний вплив хронічного запального процесу в ПЗ тварин на здатність лімфоцитів периферичної крові до проліферації, що може розглядатися, як прояв імунокоригуючої дії та один з ймовірних механізмів їхнього позитивного впливу на перебіг цього захворювання.

### **5.6.2. Порівняльний вплив фітозасобів на функціональну активність нейтрофільних гранулоцитів в НСТ-тесті щурів з хронічним скипидарним простатитом**

Відомо, що спонтанний НСТ-тест є показником загального подразнення фагоцитуючих клітин. В той час як індукований ліполісахаридом клітинної стінки *E.coli* НСТ-тест є критерієм можливості фагоцитів завершити фагоцитоз [175].

Дослідження показали, що в групі інтактних тварин спонтанний НСТ-тест нейтрофільних гранулоцитів дорівнював  $(11,50 \pm 0,60)$  %, у той як стимуляція цих клітин ліпополісахаридом *E. Coli* призводила до додаткового зростання цього показника у 1,25 раза – до  $(14,40 \pm 0,70)$  %, ( $P < 0,05$ ).

У тварин з хронічним простатитом на 30-ту добу після відтворення експерименту показник спонтанного НСТ-тесту достовірно не змінювався, проте додаткова стимуляція цих клітин вже не супроводжувалась зростанням їхньої функціональної активності в НСТ-тесті: цей показник був у 1,32 раза нижчим порівняно з індукованим НСТ-тестом у інтактних тварин і дорівнював  $(10,9 \pm 0,75)$  % ( $P < 0,05$ ).

В групі тварин, які протягом наступних 30 діб лікування не отримували, негативні зміни функціонального стану нейтрофілів ще більш посилювались: показник спонтанного НСТ-тесту знижувався до  $(8,10 \pm 0,85)$  % порівняно з  $(11,50 \pm 0,60)$  % в інтактній групі ( $P < 0,05$ ), а стимульованого НСТ-тесту - знижувався відповідно до  $(6,40 \pm 0,74)$  % порівняно з  $(14,40 \pm 0,70)$  % у інтактних щурів ( $P < 0,05$ ) (табл. 5.10).

Отримані результати свідчать, що в умовах запропонованої моделі хронічного простатиту спостерігається пригнічення функціональної активності та неспроможність фагоцитуючих клітин сформувати адекватну відповідь на антигенну стимуляцію цих клітин ліпополісахаридом *E. Coli*, а також вказує на суттєве зниження їх здатності завершити фагоцитоз.

Лікування хронічного простатиту за допомогою ГЕЯС повністю відновлювало функціональну активність нейтрофілів в спонтанному НСТ-тесті та збільшувало цей показник в індукованому тесті з  $(6,40 \pm 0,54)$  % у нелікованій групі до  $(14,80 \pm 0,53)$  % ( $P < 0,05$ ) у тварин, що отримували ГЕЯС. При цьому ГЕЯС виявився єдиним фітозасобом, який достовірно відновлював у повному обсязі показник індукованого НСТ-тесту, а отже максимально сприяв завершеності фагоцитозу. Під впливом ГЕЯС нейтрофіли пролікованих тварин активно відповідали підсиленням

фагоцитозу і у відповідь на додаткову зовнішню стимуляцію ліпополісахаридом E. Coli збільшували цей показник до  $(14,80 \pm 0,53)$  % проти  $(11,18 \pm 0,58)$  % - без стимуляції ( $P < 0,05$ ) (табл.5.10).

Таблиця 5.10.

**Вплив ГЕЯС і препаратів порівняння на функціональну активність нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові в НСТ-тесті у щурів з хронічним простатитом ( $M \pm m, n=10$ )**

Показники	Групи тварин					
	Інтактні тварини	Контроль на патологія 30 діб	Контроль на патологія 60 діб	ГЕЯС 150 мг/кг	Трібестан 60 мг/кг	Пепонен 106 мг/кг
Спонтанний НСТ-тест (%)	$11,50 \pm 0,60$	$10,21 \pm 0,65$	$8,10 \pm 0,45^*$	$11,18 \pm 0,58$	$10,50 \pm 0,58$	$10,35 \pm 0,37$
Індукований НСТ-тест (%)	$14,40 \pm 0,70^\#$	$10,9 \pm 0,75^*$	$6,40 \pm 0,54^*$	$14,80 \pm 0,53^\#$	$12,00 \pm 0,38^*$	$9,30 \pm 0,66^*$

Примітки:

1. \*-  $P < 0,05$  стосовно показника інтактної групи;
2. # -  $P < 0,05$  стосовно показників спонтанного НСТ-тесту.

Курсове застосування з 30-ї по 60-ту добу експерименту трібестану також виявило його позитивний вплив на функціональну активність нейтрофільних гранулоцитів у щурів з хронічним простатитом. У тварин цієї дослідної групи з  $(8,10 \pm 0,45)$  % до  $(10,50 \pm 0,58)$  % ( $P < 0,05$ ) підвищувався показник спонтанного НСТ-тесту та відповідно майже вдвічі - з  $(6,40 \pm 0,54)$  % до  $(12,00 \pm 0,38)$  % ( $P < 0,05$ ) - індукованого НСТ-тесту, що також може свідчити про здатність цього фітозасобу, нарівні з ГЕЯС, сприяти завершеності фагоцитозу. Проте нейтрофіли тварин, які отримували при лікуванні трібестан реагували на додаткову стимуляцію ліпополісахаридом E. Coli не так активно, як нейтрофіли тварин, що отримували терапію ГЕЯС.

Відмінності між показниками спонтанного і індукованого НСТ-тесту нейтрофільних гранулоцитів в групі тварин, яка отримувала трібестан були недостовірними – відповідно  $(10,50 \pm 0,58)$  % проти  $(12,00 \pm 0,38)$  % ( $P > 0,05$ ).

На фоні лікування хронічного простатиту у тварин препаратом пепонен показник спонтанного НСТ-тесту нейтрофілів зростав з  $(8,10 \pm 0,45)$  % до  $(10,35 \pm 0,37)$  % ( $P < 0,05$ ), проте, на відміну від інших фітозасобів, додаткова стимуляція клітин у тварин цієї групи не викликала збільшення фагоцитозу. Показник стимульованого НСТ-тесту у тварин цієї групи становив  $(9,30 \pm 0,66)$  % і був найнижчим, порівняно з іншими фітозасобами, що може свідчити про поміркований характер його впливу на завершеність фагоцитозу та відновлення функціональної активності цих клітин протягом лікування.

Таким чином, нами встановлено, що фармакотерапія хронічного простатиту досліджуваними фітозасобами створює умови для відновлення функціональної активності нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові, що може розглядатись як прояв їхньої імунотропної дії. Ймовірно, що подібна активність фітозасобів, яка у першу чергу притаманна фітозасобу ГЕЯС, може сприяти зменшенню супутньої ендогенної інтоксикації та посиленню адаптивних можливостей організму в умовах цієї патології.

### **5.6.3. Вплив ГЕЯС та фітозасобів порівняння на зміни показників гуморального імунітету та цитокінового профілю у щурів в умовах експериментального хронічного простатиту**

Одним з об'єктивних показників функціонального стану імунної системи організму є здатність імунокомпетентних клітин до секреції регуляторних цитокінів [175]. При простатитах різної етіології порушується локальний і системний метаболізм, гемодинаміка, мають місце імунологічні і нейрорегуляторні розлади, що є наслідком індукції прозапальних тканинних цитокінів, активації хемоатрактантів і втягнення в патологічний процес прозапальних клітин [31, 32, 44, 195].

Тому зміни цитокінового профілю можуть відображати глибину порушень резистентності організму в умовах хронічного простатиту і водночас бути одним з критеріїв ефективності запропонованих методів фармакологічної корекції цього захворювання.

Результати досліджень показали, що в умовах відтворення хронічного простатиту гуморальна ланка імунітету у тварин зазнавала істотних змін. Через 30 діб після ректального уведення щурам флогогену концентрація Ig A в сироватці крові тварин порівняно з інтактною групою зростала у 1,44 раза, Ig M – у 1,62 раза, Ig G – у 1,50 раза ( $P < 0,05$ ) (табл.5.11).

Як відомо, імуноглобуліни, перш за все класу G є основними представниками антитіл. Зафіксоване нами підвищення рівня всіх імуноглобулінів може свідчити про активацію ефекторної ланки імунітету в умовах досліджуваної патології у відповідь на посилене антигенне навантаження, яке виникає за рахунок пошкодження тканини ПЗ в умовах патології [175]. Внаслідок цього можливі прояви автоімунних реакцій та поява протиорганних антитіл, що й супроводжується підвищенням вмісту циркулюючих імунних комплексів [31-33, 45]. Зокрема в деяких працях показано, що G-клас імуноглобулінів найбільшою мірою бере участь в утворенні циркулюючих імунних комплексів. Але перед тим як елімінувати з організму, ЦК спричиняють додатковий патогенний вплив на тканини ПЗ [175, 195]. За результатами досліджень рівень ЦК у тварин на 30-ту добу експерименту після ректального уведення тваринам скипидару зростав у 1,74 раза – з  $(70,9 \pm 4,05)$  ум.од до  $(123,5 \pm 8,00)$  ум.од ( $P < 0,05$ ) (табл.5.11).

Таблиця 5.11.

**Вплив ГЕЯС і фітозасобів порівняння на показники гуморального імунітету у щурів з експериментальним хронічним простатитом ( $M \pm m$ ,  $n=8$ )**

Показники	Групи тварин					
	Інтактні тварини	Контроль на патологія 30 діб	Контроль на патологія 60 діб	ГЕЯС 150 мг/кг	Трібестан 60 мг/кг	Пепонен 106 мг/кг
Ig A, г/л	0,25± 0,02	0,36± 0,02*#	0,45± 0,03*	0,22± 0,02#	0,26± 0,03#	0,34± 0,04*#
Ig M, г/л	0,80± 0,03	1,30± 0,11*	1,45± 0,09*	0,93± 0,03*#	1,05± 0,04*#	1,20± 0,04*#
Ig G, г/л	13,9± 1,02	20,8± 1,14*#	26,3± 1,34*	15,0± 1,30#	15,5± 1,22#	22,1± 1,17*
ЦК, ум.од	70,9± 4,05	123,5± 8,00*#	167,0± 10,12*	74,9± 5,05#	90,3± 4,20*#	110,0± 4,71*#

Примітки:

1. \*- P<0,05 стосовно показника інтактної групи;
2. # - P<0,05 стосовно показників групи контрольної патології 60 діб.

У дослідній групі тварин, які протягом наступних 30 діб фармакотерапію не отримували, зафіксовані негативні зміни гуморального імунітету достовірно ще більш посилювались. Зокрема у тварин цієї групи рівень Ig A додатково зростав з (0,36±0,02) г/л до (0,45±0,03) г/л (P<0,05), рівень Ig G – з (20,8±1,14) г/л до (26,3±1,34) г/л (P<0,05), тоді як вміст ЦК підвищувався до (167,0±10,12) ум.од, що у 2,36 раза (P<0,05) перевершує аналогічний показник у інтактних тварин і відповідно у 1,35 раза (P<0,05) рівень ЦК в групі тварин контрольної патології 30 діб.

В умовах відтворення скипидарної моделі хронічного простатиту нами також виявлений суттєвий дисбаланс продукції в організмі тварин про- та антизапальних цитокінів. Найбільш виразні зміни цитокінового профілю фіксувались в групі тварин з контрольною патологією 60 діб, тобто у щурів,



які протягом терміну спостереження фармакотерапію не отримували (табл.5.12).

Таблиця 5.12.

**Вплив ГЕЯС і фітозасобів порівняння на рівень цитокінів (пг/мл) в сироватці крові у щурів з експериментальним хронічним простатитом (M±m, n=8)**

Показники	Групи тварин					
	Інтактні тварини	Контроль на патологія 30 діб	Контроль на патологія 60 діб	ГЕЯС 150 мг/кг	Трібестан 60 мг/кг	Пепонен 106 мг/кг
ФНП -α	32,16± 4,48	280,6± 26,6*	358,0± 30,2*	65,5± 8,20*#	76,6± 6,31*#	201,0± 18,2*#
IL-1β	20,12 ±3,96	86,12± 4,88*#	129,4± 8,00*	48,64± 5,26*#	60,70± 4,00*#	80,10± 4,80*#
IL-4	24,05± 3,16	13,05± 1,45*	9,65± 1,44*	22,50± 2,75#	23,74± 2,11#	15,05± 1,28*#
IL-10	20,80± 1,95	12,0± 1,10*#	7,07± 0,88*	18,92± 2,20#	14,51± 1,20*#	11,40± 0,68*#

Примітки:

1. \*- P<0,05 стосовно показника інтактної групи;
2. # - P<0,05 стосовно показників групи контрольної патології 60 діб.

В сироватці крові тварин цієї групи рівень прозапального цитокіну гострої фази запалення ФНП-α зростав відносно інтактної групи у 11,1 раза (P<0,05), а рівень IL-1β – відповідно у 6,43 раза (P<0,05).

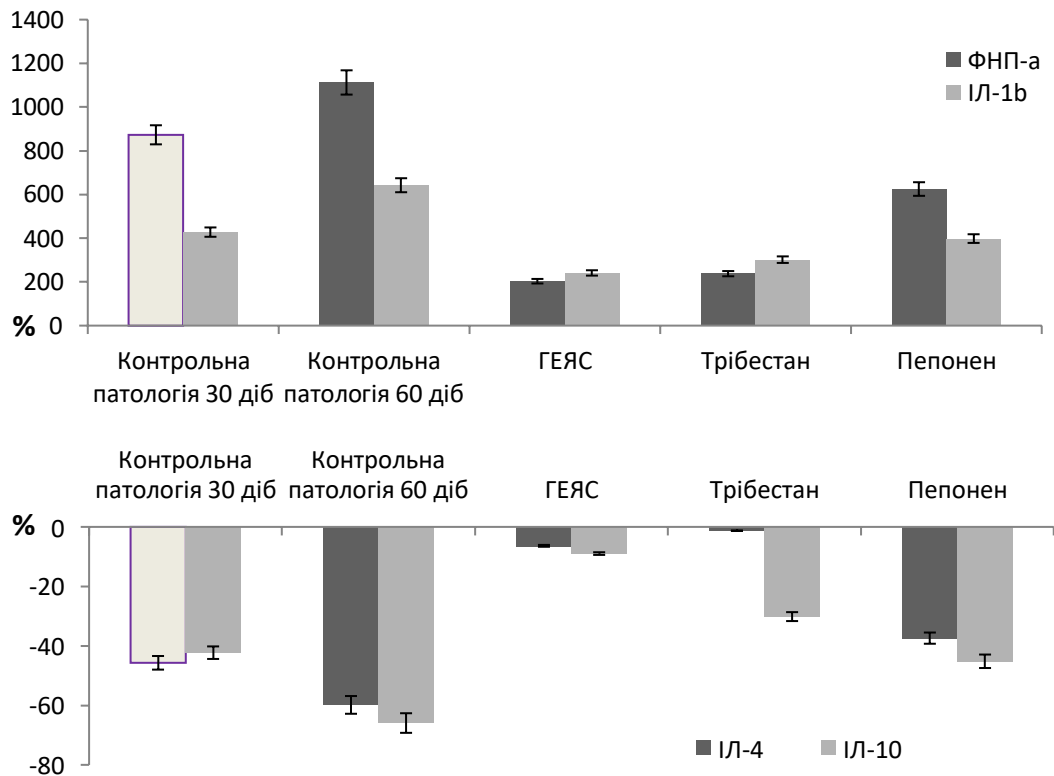
Водночас вміст протизапального цитокіну IL-4 зменшувався у 2,49 раза з (24,05±3,16) пг/мл до (9,65±1,44) пг/мл, а рівень IL-10 знижувався у 2,94 раза з (20,80±1,95) пг/мл до (7,07±0,88) пг/мл (P<0,05). В періоді спостереження від 30-ї до 60-ї доби експерименту негативні зміни

дисбалансу про- та антизапальних цитокінів ще більш посилювались. При цьому зазначені відмінності між групами контрольної патології 30 діб і контрольної патології 60 діб стосовно подальших змін рівня ІЛ-1 $\beta$  та ІЛ-10 набували статистично достовірного характеру.

Отже, можна узагальнити, що в умовах хронічного простатиту імунна реактивність організму зазнає суттєвих змін – в сироватці крові збільшується вміст імуноглобулінів класу А, М та G, циркулюючих імунних комплексів і виникає дисбаланс між продукцією прозапальних і антизапальних цитокінів. При цьому в разі переходу гострого простатиту в хронічну форму при тривалому запальному процесі в тканинах ПЗ негативні зміни з боку гуморального імунітету та цитокінового профілю можуть посилюватись.

Лікування тварин фітозасобом ГЕЯС, яке здійснювалось з 30-ї по 60-тудобу експерименту, найбільш вдало усувало зазначені вище патологічні зміни гуморального імунітету та цитокінового профілю. Зокрема в сироватці крові у тварин, які були проліковані ГЕЯС повністю відновлювався рівень Іg А та Іg G, до фізіологічних значень стабілізувався вміст ЦК та рівень протизапальних цитокінів ІЛ-4 та ІЛ-10. При цьому вміст прозапальних цитокінів - ФНП- $\alpha$  та ІЛ-1 $\beta$  знижувався порівняно з нелікованими тваринами у 5,47 раза ( $P < 0,05$ ) і 2,66 раза ( $P < 0,05$ ) відповідно.

Фармакотерапія експериментального простатиту препаратом порівняння трібестан також суттєво покращувала стан гуморального імунітету та зменшувала у тварин з простатитом дисбаланс про- та антизапальних цитокінів. У тварин цієї групи в сироватці крові зменшувався рівень Іg А – у 1,73 раза ( $P < 0,05$ ), Іg М – у 1,38 раза ( $P < 0,05$ ), Іg G – у 1,70 раза ( $P < 0,05$ ), проте, на відміну від аналогічного ефекту ГЕЯС, рівень ЦК протягом терміну лікування трібестаном остаточно не відновлювався і достовірно перевищував цей показник в групі тварин, які лікувались фітозасобом ГЕЯС (рис.5.6).



**Рис.5.6. Порівняльний вплив фітозасобів на баланс про- та антизапальних цитокінів в сироватці крові при лікуванні щурів з хронічним «скипидарним» простатитом (в % відхилення від показників інтактної групи) ( $M \pm m$ ) (n=8)**

Пепонен за ефективністю корекції виявлених порушень гуморального імунітету та цитокінового балансу суттєво поступався перед ГЕЯС та трібестаном. За регулюючим впливом на більшість досліджуваних показників терапія цим фітозасобом запобігала подальшому розвитку негативних зрушень з боку досліджуваних показників імунологічної резистентності організму, які були встановлені нами в періоді від 30-ї по 60-ту добу експерименту, що відповідав переходу гострого перебігу простатиту в хронічний. При застосуванні пепонену абсолютний вміст імуноглобулінів, ЦІК, вміст прозапальних цитокінів - ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$  та антизапальних цитокінів ІЛ-4, ІЛ-10 залишався в межах, які достовірно не відрізнялись від аналогічних значень групи тварин контрольної патології 30 діб.

Отже, нами встановлено, що на моделі хронічного «скипидарного» простатиту у щурів ГЕЯС та препарати порівняння з різною ефективністю проявляють імунопротекторну дію, яка реалізується шляхом підвищення проліферативної активності лімфоцитів периферичної крові в тесті з Кон-А, відновлення функціональної активності нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові в НСТ-тесті і сприяння завершеності фагоцитозу, а також шляхом корекції в сироватці крові у тварин вмісту імуноглобулінів (Ig A, Ig M, Ig G) та стабілізації порушеного в умовах патології балансу прозапальних (ФНП- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) та протизапальних (IL-4, IL-10) цитокінів.

Ймовірно, що встановлений імунотропний ефект досліджуваних фітозасобів в умовах хронічного простатиту пов'язаний з їх загально метаболічним впливом. З огляду на результати вище проведених досліджень (Розділ 3 і 4), можемо дійти висновку, що у препаратів на основі якріців сланких (ГЕЯС, трібестан) спектр цього регулюючого впливу є більш широким, порівно з препаратом порівняння пепонен. Окрім того більш висока імунопротекторна активність ГЕЯС в умовах досліджуваної патології може бути також пов'язана з прямими імуностимулюючими ефектами цього фітозасобу в умовах *in vitro*, що встановлено попередніми дослідженнями (Розділ 3).

Таким чином, результати проведених в розділі 5 досліджень дозволяють зробити наступні висновки:

1. На моделі хронічного «скипидарного» простатиту у щурів фітозасоби з різною ефективністю зменшують виразність запального процесу, що підтверджується зниженням у піддослідних тварин рівня лейкоцитозу, ШОЕ, вмісту С-реактивного білка, анемії, протеїнурії та відновленням протягом терміну терапії показників добового діурезу.

2. Досліджувані фітозасоби, передусім ГЕЯС і трібестан, при їх застосуванні в умовах хронічного «скипидарного» простатиту виявили виразні антиоксидантні властивості: в тканинах ПЗ та сироватці крові

піддослідних тварин знижувався надмірний рівень ТБК-активних продуктів, стабілізувалась активність каталази, СОД, глутатіонредуктази, відновлювався вміст в тканинах ПЗ відновленого глутатіону та  $\alpha$ -токоферолу, а також на фоні суттєвого зниження маркера нітрозитивного стресу – NOx стабілізувався рівень продуктів білкового катаболізму АФГ і КФГ.

3. В умовах терапії хронічного «скипидарного» простатиту фітозасоби з різною ефективністю відновлюють порушені показники андрогенного статусу організму: стабілізують масу ПЗ, зменшують рівень простатоспецифічного ферменту КФ в сироватці крові з одночасним його підвищенням в тканинах ПЗ, сприяють відновленню коефіцієнту КФ/ЛФ, підвищують вміст фруктози в СП та рівень тестостерону в сироватці крові.

4. Фармакотерапія хронічного простатиту спричиняє позитивний вплив на репродуктивну функцію щурів і покращує показники їхньої спермограми: збільшується кількість сперматозоїдів, на фоні застосування ГЕЯС і трібестану повністю відновлюється порушена рухливість цих клітин та суттєво зменшується відносна кількість патологічних форм сперматозоїдів.

5. Досліджувані фітозасоби при їхньому застосуванні в умовах хронічного «скипидарного» простатиту у щурів виявляють простатопротекторну і гонадопротекторну дію, яка за регулюючим впливом на більшість досліджуваних показників виявилась більш виразною у препаратів на основі якірців сланких (ГЕЯС в дозі 150 мг/кг та трібестан в дозі 60 мг/кг) порівняно з аналогічною дією пепонена в дозі 106 мг/кг.

6. Фармакотерапія обраними фітозасобами, яка виявилась найбільш ефективною при застосуванні ГЕЯС, нормалізує функціональний стан ендотелію судин у тварин з експериментальним хронічним простатитом шляхом стабілізації вмісту S-NO та ендотеліну-1, відновлення природного співвідношення вазодилатаційно - вазоконстрикторного потенціалу, необхідного для нормального функціонування передміхурової залози, а також реалізується за рахунок корекції дисбалансу активності маркерів ендотеліальної дисфункції - ендотеліальної і індукцибельної NO-синтази.

7. Імунопротекторна дія ГЕЯС в умовах порушення імунологічної резистентності при хронічному «скипидарному» простатиті реалізується шляхом підвищення проліферативної активності лімфоцитів периферичної крові в тесті з Кон-А, відновлення функціональної активності нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові в НСТ-тесті і сприяння завершеності фагоцитозу, корекції в сироватці крові у тварин вмісту імуноглобулінів (Ig A, Ig M, Ig G) та стабілізації порушеного в умовах патології балансу прозапальних (ФНП- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) та протизапальних (IL-4, IL-10) цитокінів.

Результати досліджень, наведені в розділі 5, знайшли своє відображення в наступних публікаціях:

1. Юнусова С.І. Вплив густого екстракту якірців сланких на фізіологічний стан ендотелію судин у щурів з хронічним скипидарним простатитом. *Запорізький фармацевтичний форум*: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, 23 - 24 листопада 2023 року, Запоріжжя, 2023. С.151.

2. Юнусова С.І., Рожковський Я.В. Імунотропні властивості густого екстракту якірців сланких в умовах експериментального хронічного простатиту. *Фармацевтична освіта, наука та практика: стан, проблеми, перспективи розвитку*: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 25-річчю фармацевтичного факультету Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, 19-20 грудня 2023 року, Київ, 2023.С.48-50. (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

3 Юнусова С.І., Приступа Б.В., Богату С.І., Рожковський Я.В. Імунопротекторна дія густого екстракту *Tribulus terrestris L.* у щурів на моделі хронічного скипидарного простатиту. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*:

матеріали VI Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, 12 квітня 2024 р., Харків, 2024. С.198-199. (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

## РОЗДІЛ 6

### ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ І ХРОНІЧНОЇ ТОКСИЧНОСТІ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ ЯКІРЦІВ СЛАНКИХ

Враховуючи той факт, що хронічний простатит характеризується тривалим перебігом і відповідно потребує тривалої фармакотерпії, для встановлення безпечності нового лікарського засобу наступним кроком стало вивчення токсичних властивостей ГЕЯС, як потенційного простатопротектора. При впровадженні в клінічну практику нових лікарських засобів в Україні, в межах доклінічних досліджень обов'язковим є визначення параметрів їх гострої та хронічної токсичності. На підставі отриманих даних можна оцінити потенційну небезпеку досліджуваного препарату для організму в умовах одноразового та баготоразового введення та гарантувати безпеку наступних клінічних досліджень.

В Україні доклінічні дослідження проводяться відповідно до статті 9 Закону України «Про лікарські засоби» [196], «Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» [197] та Настанови «Лікарські засоби. Належна лабораторна практика. СТ-Н МОЗУ:2008» [198]. Отримані результати дозволяють оцінити клас токсичності досліджуваного лікарського засобу.

#### 6.1. Гостра токсичність ГЕЯС

Дослідження проведене на 24 білих безпородних щурах обох статей масою 180-200 г. Щурів розділили на 4 групи, кожна з яких включала по 6 тварин (табл.6.1). Згідно з методичними рекомендаціями ДЕЦ МОЗ України [158] при виборі доз для внутрішньошлункового введення лімітуючим показником у ході визначення ЛД<sub>50</sub> є максимальна доза четвертого класу



токсичності (малотоксичні речовини) – 5000 мг/кг. Якщо за цих умов при введенні тваринам зазначеної дози не відбувається їхня загибель, то введення більшої дози є недоцільним.

Таблиця 6.1.

### Рандомізація щурів в дослідах при визначенні гострої токсичності ГЕЯС

Умови досліджу	Доза мг/кг	Кількість щурів	
		Самці	Самки
Контрольна група		6	6
Дослідна група (ГЕЯС)	5000	6	6

За добу до уведення досліджуваного фітозасобу щурів позбавляли їжі. Тваринам дослідної групи ГЕЯС вводили натще в дозі 5000 мг/кг у вигляді суспензії одноразово внутрішньошлунково за допомогою металічного зонду. Тварини контрольної групи отримували аналогічний об'єм питної води. Після уведення фітозасобу у першу добу досліджу тварини знаходились під постійним наглядом. За тваринами спостерігали протягом наступних 14 діб, оцінюючи їх летальність, загальний стан та зміну маси тіла на 3-ю, 7-му та 14-ту добу спостережень. Після виведення тварин з експерименту і виділення внутрішніх органів проводили їх макроскопічну оцінку, визначали масу та розраховували масові коефіцієнти внутрішніх органів.

Дослідження показали, що після внутрішньошлункового введення ГЕЯС в дозі 5000 мг/кг ознак інтоксикації у щурів не спостерігали. При спостереженні за тваринами протягом 2 тижнів не було встановлено загибелі в жодній з експериментальних груп (табл.6.2). Всі тварини дослідної групи були активними, охайними, мали задовільний апетит, реагували на звукові та світлові подразники, сечовиділення і дефекація були в нормі, порушення дихання та судом не спостерігали. Рефлекторна активність у всіх тварин також була збережена. Порівняння поведінки щурів, а також споживання

води та їжі показало відсутність відмінностей між піддослідно контрольною групами тварин.

Таблиця 6.2.

**Результати дослідження гострої токсичності ГЕЯС при його одноразовому внутрішньошлунковому уведенні**

Шлях уведення	Тварини	Стать	Доза мг/кг	Загиблі тварини/тварини, які вижили
Внутрішньошлунковий	Щури	Самці	5000	0/6
		Самки	5000	0/6

Спостереження за динамікою маси тіла щурів, які отримували ГЕЯС в дозі 5000 мг/кг, також показало відсутність відмінностей при порівнянні з групою контролю, тварини обох груп рівномірно набирали масу (табл.6.3).

Таблиця 6.3.

**Динаміка зміни маси тіла у щурів при вивченні гострої токсичності ГЕЯС при його внутрішньошлунковому уведенні в дозі 5000 мг/кг ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )**

Експериментальна група	Маса тварин, г			
	Вихідні дані	3-а доба	7-а доба	14-а доба
Самці				
Контрольна група	184±6	195±5	202±6	209±4
ГЕЯС	188±4	195±8	205±5	210±5
Самки				
Контрольна група	186±3	192±4	198±4	206±4
ГЕЯС	190±5	195±3	200±3	212±6

Розтин та макроскопічне дослідження внутрішніх органів щурів проводили через 14 діб після початку експерименту. Дослідження показали,

що за кольором, розміром, консистенцією, а також розташуванням внутрішні органи тварин контрольної та дослідної груп не виходили за межі фізіологічної норми і не відрізнялися між собою.

Після розрахунку коефіцієнтів маси внутрішніх органів було встановлено, що у контрольній і дослідній групі обоїх статей цей показник достовірно не відрізнявся (табл. 6.4).

Таблиця 6.4.

**Зміни масових коефіцієнтів внутрішніх органів щурів після внутрішньошлункового уведення ГЕЯС в дозі 5000 мг/кг ( $M \pm m$ ,  $n=6$ )**

Масові коефіцієнти органів, г/100 г	Експериментальна група			
	Самці		Самки	
	Контрольна група	ГЕЯС	Контрольна група	ГЕЯС
Печінка	3,50±0,16	3,58±0,22	3,71±0,15	3,72±0,18
Права нирка	0,370±0,006	0,362±0,005	0,364±0,006	0,359±0,004
Ліва нирка	0,366±0,004	0,358±0,007	0,347±0,006	0,349±0,007
Селезінка	0,470±0,024	0,455±0,029	0,460±0,025	0,453±0,030
Легені	0,460±0,022	0,470±0,031	0,446±0,030	0,435±0,027
Серце	0,351±0,005	0,365±0,011	0,344±0,012	0,356±0,014
Тимус	0,136±0,024	0,141±0,013	0,148±0,012	0,156±0,010
Надниркові залози	0,025±0,002	0,027±0,002	0,028±0,002	0,028±0,001
Правий сім'яник	0,740±0,022	0,742±0,029	-	-
Лівий сім'яник	0,726±0,020	0,729±0,017	-	-

Отже, результати вивчення гострої токсичності ГЕЯС свідчать про відсутність будь-яких токсичних проявів при його внутрішньошлунковому введенні щурам - самцям та самкам в дозі 5000 мг/кг. Згідно з токсикологічною класифікацією речовин К. К. Сидорова [179], ГЕЯС належить до V класу токсичності – практично нешкідливі речовини при внутрішньо-шлунковому введенні ( $LD_{50} > 5000$  мг/кг). Отримані результати

безпеки ГЕЯС створюють перспективу подальшого вивчення різних видів його фармакологічної активності.

## **6.2. Вивчення хронічної токсичності ГЕЯС**

Хронічну токсичність ГЕЯС при пероральному уведенні вивчали відповідно до методичних рекомендацій [158]. Досліди проводили на 20 білих нелінійних щурах обох статей масою 180-220 г, розподілених на 2 групи: 1-а група - інтактні тварини, які щоденно отримували відповідний об'єм питної води, та 2-а група – тварини, яким протягом 3 місяців один раз на добу внутрішньо-шлунково вводили ГЕЯС у вигляді суспензії в умовно-терапевтичній дозі 150 мг/кг.

Дослідження проводили в динаміці: на початку досліду, через 30-ту, 60-ту, та 90-ту діб. Контролем була інтактна група та початкові показники самих тварин. Протягом всього експерименту тварини знаходились в однакових умовах на стандартному харчовому раціоні віварію.

Показниками можливої токсичної дії препарату слугували: загальний стан і поведінка тварин, динаміка маси тіла, системи периферичної крові та функціональний стан печінки і нирок.

Зважування щурів проводили через кожних 2 тижні. На 30, 60 та 90 добу експерименту у піддослідних тварин досліджували поведінкову активність в тесті «відкрите поле», а також функціональний стан серця, печінки і нирок. Окрім того, у тварин забирали кров з хвостової вени для вивчення гематологічних показників та проведення біохімічних аналізів.

### **6.2.1. Вплив курсового уведення ГЕЯС в дозі 150 мг/кг на загальний стан, динаміку маси тіла та поведінку тварин**

Спостереження за тваринами, яким протягом 3 місяців щоденно вводили ГЕЯС в терапевтичній дозі не виявили суттєвих відхилень від

тварин контрольної групи за станом волосяного покриву, слизових, вживання їжі та природних потреб.

Вимірювання динаміки маси тіла протягом 3 місяців виявило природне її збільшення за весь час проведення спостережень у інтактних тварин на 18,0 % ( $P < 0,05$ ), а у тварин, які отримували ГЕЯС - на 18,2 % ( $P < 0,05$ ). Достовірних відмінностей в темпах зростання маси тіла між обома групами не виявлено (табл.6.5).

Таблиця 6.5.

**Вплив ГЕЯС при в/шлунковому уведенні шурам в дозі 150 мг/кг на динаміку маси тіла щурів ( $M \pm m$ ) (n=10)**

Термін дослідження	Маса тіла тварин, г			
	Інтактні тварини		ГЕЯС	
Початкові дані	186,2±5,4	-	193,2±6,4	-
Через 30 діб	197,0±6,6	+5,8%	203,8±10,0*	+5,5%
Через 60 діб	208,5±5,9	+12,0%	216,0±9,6*	+11,8%
Через 90 діб	219,7±9,0	+18,0%	230,4±9,1*	+19,3%

Примітка. \* -  $P > 0,05$  по відношенню до інтактних тварин.

Це вказує на відсутність токсичного впливу дослідженої дози ГЕЯС на трофічні процеси. При аналізі впливу ГЕЯС на поведінкову активність щурів в тесті «відкрите поле» встановлено, що достовірні відмінності показників експериментальної групи відносно інтактних тварин спостерігались тільки на 30-ту добу експерименту і стосувались достовірних змін лише показників горизонтальної (+35,5 %) і пошукової (+42,9 %) активності щурів ( $P < 0,05$ ), однак в наступні терміни дослідження зазначені показники достовірно не відрізнялись від рівня показників поведінкової діяльності інтактних тварин (табл.6.6). Отже нами встановлено, що уведення ГЕЯС в умовно-терапевтичній дозі 150 мг/кг протягом 3 місяців не змінює показники поведінкової діяльності піддослідних тварин.

**Вплив ГЕЯС при в/шлунковому уведенні в дозі 150 мг/кг на поведінкову активність щурів в тесті «відкрите поле», ( $M \pm m$ ) (n=10)**

Термін дослідження	Досліджувані показники	Інтактні тварини (контроль)	ГЕЯС
Через 30 діб	Вертикальна активність	5,32±1,28	6,26±1,30
	Горизонтальна активність	40,6±2,82	55,0±5,2*
	Пошукова активність	4,20±0,28	6,0±0,70*
	Грумінг	1,46±0,23	1,58±0,22
	Емоційна активність (болюси)	1,55±0,12	1,60±0,20
Через 60 діб	Вертикальна активність	5,28±0,96	6,29±1,30
	Горизонтальна активність	27,8±1,99	30,1±5,02
	Пошукова активність	4,50±0,29	3,66±0,50
	Грумінг	1,35±0,11	1,70±0,44
	Емоційна активність (болюси)	1,67±0,16	1,70±0,23
Через 90 діб	Вертикальна активність	6,21±1,30	5,80±1,12
	Горизонтальна активність	35,0±5,14	36,1±3,4
	Пошукова активність	4,90±0,40	3,69±0,84
	Грумінг	1,67±0,48	2,20±0,66
	Емоційна активність (болюси)	1,80±0,26	1,50±0,36

Примітка. \* -  $P < 0,05$  по відношенню до інтактних тварин.

**6.2.2. Вплив курсового уведення ГЕЯС в дозі 150 мг/кг ГЕЯС на функціональний стан серця тварин**

Функціональний стан серця піддослідних тварин оцінювали за показниками електрокардіограми. Електрокардіографію проводили у другому стандартному відведенні на тепловому одноканальному

електрокардіографі – модель 060. Про скорочувальну здатність міокарду судили за змінами інтервалу R-R (сек), QRS (сек), QRST (сек), TP(сек), PQ(сек), висоті зубця R (мв). За інтервалом R-R розраховували частоту серцевих скорочень (табл.6.7).

Таблиця 6.7.

**Вплив курсового введення ГЕЯС в дозі 150 мг/кг на показники електрокардіограми щурів, ( $M \pm m$ ) (n=10)**

Термін дослідження	Досліджувані показники	Інтактні тварини (контроль)	ГЕЯС
Через 30 діб	Частота серцевих скорочень (уд/хв)	320,0±12,5	340,5±18,0
	Висота зубця R ,(мв)	0,68±0,08	0,70±0,06
	QRS, (сек)	0,02±0,002	0,02±0,001
	QRST, (сек)	0,06±0,005	0,07±0,004
Через 60 діб	Частота серцевих скорочень (уд/хв)	338,2±15,3	348,7±7,55
	Висота зубця R ,(мв)	0,68±0,04	0,65±0,13
	QRS, (сек)	0,02±0,002	0,015±0,004
	QRST, (сек)	0,08±0,010	0,08±0,005
Через 90 діб	Частота серцевих скорочень (уд/хв)	340,3±10,0	346,7±9,3
	Висота зубця R ,(мв)	0,57±0,08	0,55±0,11
	QRS, (сек)	0,02±0,002	0,02±0,001
	QRST, (сек)	0,06±0,01	0,07±0,005

Аналіз електрокардіограм в усі терміни проведення хронічного експерименту не виявив достовірних відмінностей між експериментальними групами тварин, що вказує на відсутність впливу досліджуваного фітозасобу на показники функціональної активності серця.

**6.2.3. Вплив курсового введення ГЕЯС в дозі 150 мг/кг ГЕЯС на показники периферичної крові щурів**

У тварин експериментальних і контрольних груп проводили забір крові починаючи з першої доби і через кожних 30 діб до закінчення хронічного експерименту. Досліджувався комплекс гематологічних показників периферичної крові. Отримані дані наведені в таблиці 6.8.

Таблиця 6.8.

**Вплив курсового уведення ГЕЯС в дозі 150 мг/кг ГЕЯС на показники периферичної крові щурів, ( $M \pm m$ ) (n=10)**

Термін дослідження	Досліджувані показники	Інтактні тварини (контроль)	ГЕЯС
1	2	3	4
Початок	Еритроцити, $10^{12}/л$	5,51±0,48	5,76±0,47
	Гемоглобін, г/л	122,0±4,3	118,0±7,0
	ШОЕ, мм/год	4,22±0,40	4,40±0,55
	Лейкоцити, $10^9/л$	6,30±0,42	6,40±0,44
	Палички, %	3,12±0,34	3,25±0,50
	Сегменти, %	16,00±2,22	16,88±2,00
	Еозинофіли, %	3,50±0,51	3,76±0,40
	Базофіли, %	0,20±0,08	0,20±0,09
	Моноцити, %	2,00±0,32	2,10±0,15
	Лімфоцити, %	73,95±2,12	74,26±2,10
Через 30 діб	Еритроцити, $10^{12}/л$	5,33±0,30	5,70±0,50
	Гемоглобін, г/л	123,2±6,1	114,8±9,0
	ШОЕ, мм/год	4,50±0,52	4,92±0,50
	Лейкоцити, $10^9/л$	5,10±0,40	5,05±0,22
	Палички, %	3,16±0,22	3,38±0,40
	Сегменти, %	15,02±2,53	16,81±2,50
	Еозинофіли, %	2,34±0,35	2,70±0,41
	Базофіли, %	0,40±0,17	0,60±0,21
	Моноцити, %	1,26±0,30	1,60±0,30
	Лімфоцити, %	73,80±4,12	72,00±2,86



Продовження табл.6.8

1	2	3	4
Через 60 діб	Еритроцити, $10^{12}/л$	5,40±0,24	5,60±0,30
	Гемоглобін, г/л	118,0±5,1	124,3±5,1
	ШОЕ,мм/год	4,28±0,30	4,08±0,24
	Лейкоцити, $10^9/л$	6,16±0,23	6,50±0,52
	Палички,%	3,27±0,28	3,90±0,50
	Сегменти,%	16,0±2,43	14,8±2,05
	Еозинофіли,%	2,58±0,55	3,00±0,47
	Базофіли,%	1,28±0,40	1,58±0,50
	Моноцити,%	1,80±0,31	1,39±0,49
	Лімфоцити,%	71,00±5,88	76,03±5,40
Через 90 діб	Еритроцити, $10^{12}/л$	5,55±0,20	5,80±0,33
	Гемоглобін, г/л	120,4±5,8	115,3±5,2
	ШОЕ,мм/год	4,44±0,31	4,70±0,40
	Лейкоцити, $10^9/л$	6,50±0,28	7,00±0,42
	Палички,%	3,63±0,55	2,98±0,46
	Сегменти,%	17,00±2,55	16,40±3,50
	Еозинофіли,%	3,14±0,21	2,76±0,38
	Базофіли,%	1,03±0,28	0,68±0,28
	Моноцити,%	1,30±0,31	1,81±0,43
	Лімфоцити,%	75,18±5,44	70,56±4,58

Досліди показали, що тривале уведення тваринам ГЕЯС в умовно-терапевтичній дозі не впливало на показники периферичної крові експериментальних і контрольних груп тварин. Досліджувані гематологічні показники не виходили за межі фізіологічної норми.

#### **6.2.4. Вплив курсового уведення ГЕЯС в дозі 150 мг/кг ГЕЯС на біохімічні показники крові та функціональний стан печінки піддослідних тварин**

Досліджувався вплив курсового уведення ГЕЯС на зміни вмісту глюкози, загального холестерину, білірубіну, сечовини, креатиніну, білка

плазми крові, а також активність лужної фосфатази та аланін-і аспаратамінотрансфераза сироватки крові (табл.6.9).

Функціональний стан печінки, а саме її детоксикуючі властивості, оцінювали за результатами тестової діагностичної проби «гексеналовий сон».

Таблиця 6.9.

**Вплив курсового уведення ГЕЯС в дозі 150 мг/кг на біохімічні показники крові щурів, ( $M \pm m$ ) (n=10)**

Термін дослідження	Досліджувані показники	Інтактні тварини (контроль)	ГЕЯС
1	2	3	4
Початок	Загальний білок,г/л	60,81±1,29	63,18±1,20
	Глюкоза, ммоль/л	5,15±0,20	5,44±0,30
	Креатинін, мкмоль/л	60,80±2,96	55,90±4,03
	Сечовина, ммоль/л	6,25±0,30	6,10±0,33
	Загальний холестерин, ммоль/л	1,03±0,30	0,98±0,31
	АлАТ, мкмоль/мл*год	1,60±0,14	1,50±0,13
	АсАТ, мкмоль/мл*год	1,30±0,14	1,21±0,10
	Лужна фосфатаза, мкмоль/мл*год	1,47±0,15	1,55±0,18
Через 30 діб	Загальний білок,г/л	63,23±2,12	64,91±2,44
	Глюкоза, ммоль/л	5,09±0,25	5,34±0,40
	Креатинін, мкмоль/л	63,12±5,62	59,18±6,15
	Сечовина, ммоль/л	7,16±0,27	6,66±0,30
	Загальний холестерин, ммоль/л	1,00±0,12	0,85±0,10
	АлАТ, мкмоль/мл*год	1,35±0,25	1,40±0,13
	АсАТ, мкмоль/мл*год	1,26±0,15	1,30±0,11
	Лужна фосфатаза, мкмоль/мл*год	1,57±0,20	1,60±0,20
Через 60 діб	Загальний білок,г/л	65,50±2,10	65,03±3,02
	Глюкоза, ммоль/л	5,20±0,32	5,51±0,22
	Креатинін, мкмоль/л	65,70±4,12	56,06±4,30
	Сечовина, ммоль/л	6,89±0,20	6,05±0,20*
	Загальний холестерин, ммоль/л	1,05±0,12	0,73±0,11*
	АлАТ, мкмоль/мл*год	1,29±0,28	1,20±0,22
	АсАТ, мкмоль/мл*год	1,30±0,20	1,44±0,13
	Лужна фосфатаза, мкмоль/мл*год	1,66±0,21	1,48±0,12

Продовження табл.6.9

1	2	3	4
Через 90 діб	Загальний білок, г/л	65,0±2,15	66,03±2,00
	Глюкоза, ммоль/л	4,96±0,23	5,12±0,15
	Креатинін, мкмоль/л	59,71±3,99	50,40±4,70
	Сечовина, ммоль/л	6,74±0,23	5,32±0,39*
	Загальний холестерин, ммоль/л	1,06±0,15	0,66±0,17*
	АлАТ, мкмоль/мл*год	1,33±0,10	1,29±0,12
	АсАТ, мкмоль/мл*год	1,26±0,11	1,40±0,14
	Лужна фосфатаза, мкмоль/мл*год	1,48±0,14	1,40±0,10

Примітка. \* -  $P < 0,05$  по відношенню до інтактних тварин.

Результати досліджень, наведені в таблиці 6.9, свідчать про відсутність суттєвого впливу ГЕЯС в умовах його тривалого уведення на біохімічні показники крові щурів. Протягом терміну експерименту на 60-ту добу нами зафіксоване достовірне зниження відносно контрольної групи рівня сечовини на 10,7 % та загального холестерину – на 30,5 %. На 90-ту добу експерименту зміни цих показників посилювались: рівень сечовини в сироватці крові тварин, які отримували ГЕЯС, знижувався відносно контрольної групи на 17,8 %, а загального холестерину – на 37,7 % відповідно ( $P < 0,05$ ). Ймовірно, що за умов тривалого курсового уведення ГЕЯС, може позитивно впливати на показники азотного балансу і посилювати виведення продуктів азотного обміну з організму. Достовірний гіпохолестеринемічний ефект ГЕЯС, зафіксований нами на 60-ту і 90-ту добу експерименту, цілком відповідає існуючим уявленням про вплив на ліпідний обмін стероїдних сапонінів та флавоноїдів, які є головними біологічно активними речовинами, що входять до складу цього фітозасобу [10, 121, 135, 199, 200, 201].

Функціональний стан та детоксикаційні властивості печінки дослідних тварин оцінювали за результатами тестової діагностичної проби «гексеналовий сон». Тваринам вводили 10 % водний розчин гексеналу у розрахунку 70 мг/кг в/очеревинно і фіксували швидкість настання та тривалість бокового положення тварини в хвиликах.

Результати впливу фітозасобу ГЕЯС на тривалість «гексеналового сну» наведені в таблиці 6.10.

Таблиця 6.10.

**Вплив курсового уведення ГЕЯС в дозі 150 мг/кг на показники гексеналової проби у щурів ( $M \pm m$ ) (n=10)**

Термін дослідження	Інтактні тварини (контроль)		ГЕЯС	
	Латентний період (хв.)	Тривалість сну (хв.)	Латентний період (хв.)	Тривалість сну (хв.)
Початок	4,40±0,30	23,03±1,23	4,50±0,51	22,15±0,31
Через 30 діб	4,55±0,34	21,50±0,45	3,50±0,25	23,3±1,00
Через 60 діб	3,89±0,40	22,1±1,02	3,80±0,60	22,70±0,50
Через 90 діб	4,11±0,41	23,12±1,00	4,34±0,58	23,2±1,12

Згідно отриманим даним, при проведенні тесту «гексеналова проба», тривалість латентного періоду і сну в усі періоди спостережень в усіх дослідних групах щурів не змінювалась, що свідчить про відсутність негативного впливу ГЕЯС на функціональний стан та детоксикаційні властивості печінки.

#### **6.2.5. Вплив курсового уведення ГЕЯС в дозі 150 мг/кг на функціональний стан нирок піддослідних тварин**

Одним з важливих критеріїв оцінки функціонального стану нирок є зміни вмісту в сироватці крові сечовини і креатиніну. Згідно результатам досліджень впливу фітозасобу ГЕЯС на біохімічні показники крові, нами на 60-ту і 90-ту добу експерименту зафіксована тенденція до зниження в сироватці крові рівня креатиніну і достовірне зменшення вмісту сечовини, що частково може свідчити про деяке зниження білкового катаболізму або про більш інтенсивне виділення цих метаболітів з організму (табл.6.9).

Окрім того, у піддослідних тварин протягом 3 місяців визначали діурез і проводили клінічний аналіз сечі. В день досліду, а також на 30-ту, 60-ту і 90-ту добу тваринам давали водне навантаження (5,0 мл очищеної води на 100 г маси тіла) і збирали сечу протягом 4 годин. В сечі визначали рН, питому вагу та наявність білка. Результати досліджень наведені в таблиці 6.11.

Таблиця 6.11.

**Вплив курсового уведення ГЕЯС в дозі 150 мг/кг на показники функціонального стану нирок щурів, ( $M \pm m$ ) (n=10)**

Термін дослідження	Досліджувані показники	Інтактні тварини (контроль)	ГЕЯС
Початок	рН сечі	5,70±0,40	5,90±0,39
	Діурез (за 4 години), мл	3,88±0,44	3,70±0,45
	Питома вага сечі, г/мл	1,010±0,003	1,012±0,003
	Білок сечі, г/л	-	-
Через 30 діб	рН сечі	5,80±0,30	6,01±0,24
	Діурез (за 4 години), мл	4,04±0,30	5,86±0,40*
	Питома вага сечі, г/мл	1,012±0,002	1,010±0,003
	Білок сечі, г/л	-	-
Через 60 діб	рН сечі	6,04±0,34	5,92±0,31
	Діурез (за 4 години), мл	4,05±0,40	5,13±0,43
	Питома вага сечі, г/мл	1,013±0,004	1,010±0,003
	Білок сечі, г/л	-	-
Через 90 діб	рН сечі	6,05±0,24	5,88±0,51
	Діурез (за 4 години),мл	4,12±0,29	4,70±0,30
	Питома вага сечі, г/мл	1,011±0,001	1,012±0,002
	Білок сечі, г/л	-	-

Примітка. \* -  $P < 0,05$  по відношенню до інтактних тварин.

Як показали проведені дослідження, тривале протягом 3 місяців уведення піддослідним щурам ГЕЯС в умовно-терапевтичній дозі суттєво не змінювали показників клінічного аналізу сечі. На 30-ту добу експерименту було зареєстроване підвищення діурезу на 45,0 % ( $P < 0,05$ ), що ймовірно, пов'язано з посиленням фільтраційної здатності нирок, однак у наступні терміни спостереження зазначені зміни діурезу не набували достовірного характеру. У тварин дослідної і контрольної групи в усі терміни спостережень білок в сечі не виявлявся, зміни рН та питомої ваги сечі не фіксувались.

Отже, зафіксовані протягом експерименту коливання вмісту сечовини, креатиніну та показників клінічного аналізу сечі, які знаходились в межах фізіологічних норм, свідчать про відсутність токсичного впливу ГЕЯС при його тривалому застосуванні на функціональний стан нирок піддослідних тварин.

Таким чином, на підставі проведених досліджень можна зробити висновок, що фітозасіб ГЕЯС при його щоденному внутрішньо-шлунковому уведенні в дозі 150 мг/кг на протязі 90 діб не спричиняє ознак токсичного впливу на організм експериментальних тварин, а саме: не впливає на загальний стан, поведінку тварин та динаміку маси тіла, не викликає негативної дії на систему периферичної крові і не змінює біохімічні показники крові, не порушує функціональний стан серця, печінки і нирок.

Отже, фітозасіб ГЕЯС за ступенем токсичності слід віднести до нетоксичних речовин.

Результати досліджень, наведені в розділі 6, знайшли своє відображення в наступній публікації:

1. Юнусова Саидабону Ілхомжон кизи. Дослідження гострої і хронічної токсичності густого екстракту якірців сланких. *Ліки – людині*: матеріали VII міжнародної науково-практичної конференції на базі кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації Національного фармацевтичного університету, 21-22 березня 2024 р., Харків, 2024. С.306-308.

## РОЗДІЛ 7

### АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Одним з найпоширеніших захворювань чоловічої статевої сфери є хронічний простатит (ХП), який призводить не лише до розвитку еректильної дисфункції, але й безпліддя [1-4]. На сучасному фармацевтичному ринку України вибір вітчизняних препаратів для лікування ХП вкрай обмежений, що обумовлює актуальність розробки нових лікарських засобів. Найбільш перспективним напрямком у лікуванні ХП є застосування лікарської рослинної сировини (ЛРС) та фітозасобів, які містять БАР з широким спектром фармакологічної активності: протизапальна, антимікробна, репаративна, імуномодуюча, гормонорегулююча, антисклеротична тощо, і здатні забезпечити комплексний лікувальний вплив на перебіг ХП [5-9]. Такою лікарською рослиною (ЛР) є якірці сланкі, фітопрепарати з якої традиційно використовуються у лікуванні еректильної дисфункції та атеросклерозу. До складу ЛРС якірців сланких входять у значній кількості поліфенольні сполуки, фітостероли, стероїдні сапоніни, комплекс макро- і мікроелементів з потенційними протизапальними, антиоксидантними та антимікробними властивостями. Серед існуючих показань у фітозасобів, представлених на фармацевтичному ринку України, до складу яких входить сировина якірців сланких, головними є еректильна дисфункція, деякі ендокринні форми безпліддя, клімактеричний синдром, порушення жирового балансу [145-151].

На кафедрі загальної і клінічної фармакології та фармакогнозії Одеського національного медичного університету у науковому співробітництві з кафедрою фармакогнозії та нутриціології Національного фармацевтичного університету (м. Харків) отримано і стандартизовано

«Густий екстракт обмолоченої від плодів трави якірців сланких» (ГЕЯС) та попередньо підтверджена його протизапальна і антимікробна дія [17-19]. Отже, виходячи з провідної ролі запалення в патогенезі ХП, а також з огляду на широкий спектр загально метаболічних ефектів фітозасобів на основі сировини якірців сланких, які добре узгоджуються з патогенезом ХП і могли б позитивним чином вплинути на його перебіг, було доцільним дослідити можливість застосування ГЕЯС в умовах ХП та визначити перспективи створення на його основі нового вітчизняного простатопротектора, здатного проявляти комплексний вплив на захворювання, забезпечувати виразну багато спрямовану фармакологічну дію і водночас не проявляти побічних ефектів та бути фармако-економічно вигідним.

Об'єктом дослідження стала розробка нового лікарського фітозасобу для лікування хронічного простатиту, а метою роботи - експериментальне вивчення фармакологічних властивостей та обґрунтування доцільності застосування густого екстракту трави якірців сланких при лікуванні експериментального хронічного простатиту.

Різні фармакологічно активні речовини, у першу чергу стероїдні сапоніни та поліфенольні сполуки, які входять до складу ГЕЯС, можуть визначити його протизапальні властивості. Зокрема доведена здатність окремих флавоноїдів, виділених з лікарської сировини якірців сланких, зменшувати синтез прозапальних цитокінів макрофагами периферичної крові [12, 15, 16, 91, 133, 202]. При цьому деякі флавоноїди можуть спричиняти протизапальну дію шляхом пригнічення активності ферментів синтезу ейкозаноїдів: циклооксигенази та ліпооксигенази [11, 12, 154, 203]. Встановлено, що кверцетин може пригнічувати в активованих тучних клітинах та базофілах вивільнення гістаміну та серотоніну [153, 154]. В інших дослідженнях була оцінена протизапальна дія трибулусаміду D, виділеного з плодів *Tribullus terrestris L.* і встановлено, що протизапальний ефект відбувався через зниження регуляції ферментів, відповідальних за вироблення цитокінів і медіаторів запалення [202]. Протизапальний ефект



діючих речовин ГЕЯС також може бути реалізованим за рахунок пригнічення гуалуронідази, стабалазації клітинних мембран, пригнічення активності фосфоліпази А<sub>2</sub>, гальмування інактивації адреналіну, що сприяє подовженню та підсиленню його протизапальної дії тощо [10-13, 15, 89, 94, 120, 134, 203].

Однією з головних вимог, що висувається при створенні сучасних лікарських форм, є забезпечення максимального терапевтичного ефекту. Враховуючи вищенаведене та провідну роль запалення в патогенезі хронічного простатиту, першим кроком досліджень було експериментальне вивчення протизапальних властивостей ГЕЯС. Зокрема скринінгові дослідження з визначення найбільш ефективної дози фітозасобу були проведені на моделі карагінінового набряку у щурів з використанням доз ГЕЯС 50 мг/кг, 100 мг/кг, 150 мг/кг і 200 мг/кг та препарату порівняння диклофенака натрію - 8,0 мг/кг, оскільки цей засіб, як класичний інгібітор ЦОГ, найчастіше використовують як в експериментальних дослідженнях, так і в традиційній протизапальній терапії ХП [18, 87, 136, 152].

На моделі гострого ексудативного карагінінового запалення у щурів була виявлена досить виразна протизапальна дія ГЕЯС, яка збільшується в діапазоні доз від 50 мг/кг до 150 мг/кг. Подальше підвищення дози ГЕЯС до 200 мг/кг суттєво не посилює протизапальні властивості цього фітозасобу.

На початкових етапах карагінінового запалення, яке, як відомо відображає циклооксигеназні механізми запального процесу, антифлогістична активність ГЕЯС в дозах від 100 мг/кг до 200 мг/кг була співставна з аналогічним ефектом диклофенаку натрію в дозі 8,0 мг/кг, що вказує на високу здатність ГЕЯС в зазначених дозах пригнічувати активність циклооксигенази передусім за рахунок негативного впливу на виділення ранніх медіаторів запалення - біогенних амінів, таких як гістамін і серотонін, а також в меншій мірі, за рахунок пригнічення синтезу прозапальних простагландинів на більш пізніх етапах експерименту.

Для розширення уявлення про механізми протизапальної дії ГЕЯС була використана модель зимозанового запалення, яка дозволяє дослідити вплив на обидва шляхи перетворення арахідонової кислоти: ліпоксигеназний і

циклооксигеназний [158, 184]. В зазначеній серії експериментів досліджувалась порівняльна протизапальна активність ГЕЯС в різних дозах з референс-препаратами - диклофенаком натрія в дозі 8 мг/кг і класичним блокатором 5-ЛО корвітином в дозі 10 мг/кг, який, як відомо, володіє виразною протизапальною дією зі специфічним гальмівним впливом на активність ліпоксигенази [153, 154, 203].

Встановлена здатність ГЕЯС в дозах від 50 до 200 мг/кг до пригнічення зимозанового запалення протягом усього терміну експерименту. При цьому найвища протизапальна активність фітозасобу фіксується на початкових етапах (1 година) після уведення цього флогогену, що вказує на його здатність гальмувати також і ліпоксигеназний шлях метаболізму арахідонової кислоти. За виразністю цього гальмуючого впливу у першу годину запалення препарат ГЕЯС не поступається перед класичним блокатором 5-ЛО корвітином і переважає аналогічний ефект диклофенаку.

На більш пізніх етапах експерименту (3-я -6-а година), який, як відомо, відображає активність циклооксигенази, ефект диклофенаку натрію очікувано виявився вищим, що цілком відповідає відомим механізмам протизапальної дії цього НПЛЗ, які пов'язані з його переважним впливом на синтез простагландинів, які за умов зимозанового запалення максимально продукуються саме у цьому періоді.

Таким чином нами встановлено, що ГЕЯС спричиняє гальмуючий вплив на обидві ланки зимозанового запалення. При цьому протизапальна активність ГЕЯС в дозах від 100 до 200 мг/кг за даної моделі запалення виявилась співзмірною.

Також нами була досліджена протизапальна дія ГЕЯС на формаліновій моделі запалення, яка, як відомо, відображає деструкцію мембранних білків. Показано, що ГЕЯС в дозах від 100 до 200 мг/кг виявляє в умовах формалінового набряку у щурів значну антиексудативну та мембраностабілізуючу активність, яка за своєю виразністю фактично не поступається перед диклофенаком натрію і переважає корвітин.

Встановлена нами протизапальна активність ГЕЯС на моделях карагінінового, зимозанового та формалінового запалення цілком відповідає існуючим уявленням про протизапальні властивості БАР, які входять до складу цих фітозасобів, зокрема значної кількості фенольних сполук - флавоноїдів, сітостеролів та інших [10-13, 15, 16]. Механізм протизапальної дії цих фенольних сполук пов'язують з їх окиснювально-відновлювальним потенціалом, який, в свою чергу, відповідає за інгібування ЦОГ-1, ЦОГ-2 та 5-ЛО, і за умов надлишкової активації окиснювальних процесів може сприяти збереженню структурно-функціонального стану клітинних мембран [10, 113, 114, 122, 132, 137, 181, 203].

Слід зазначити, що біль є одним з провідних симптомів при хронічному простатиті, тому безумовною перевагою при виборі простатопротектора є можлива наявність у нього окрім антиексудативної, ще й анальгезуючої дії. Дослідження анальгетичної активності ГЕЯС проводили на моделі оцтовокислих корчів у мишей, яка відтворює гострий вісцеральний біль і дозволяє оцінити вплив фітозасобів на периферичні механізми формування болю. Препаратами порівняння були диклофенак натрія в дозі 8 мг/кг і пепонен в дозі 106 мг/кг. Встановлено, що за здатністю зменшувати кількість корчів у тварин ГЕЯС в дозі 150 мг/кг був найбільш ефективним, порівняно з іншими дозами цього препарату. При цьому за анальгетичною активністю ГЕЯС дещо поступався перед відповідним ефектом диклофенака натрію, але більш ніж удвічі перевершував за цим критерієм фітозасіб порівняння пепонен в дозі 106 мг/кг. Як відомо, внутрішньоочеревинне уведення оцтової кислоти спричиняє запалення та вивільнення простагландинів і лейкотриєнів, а розвиток болю пов'язаний з виділенням простаглантину  $PGI_2$  та простагландину E [158]. Отже анальгетична дія ГЕЯС може свідчити про здатність цього фітозасобу пригнічувати синтез простагландинів в осередку запалення і підтверджує наявність у нього периферичної анальгетичної дії.

Узагальнення результатів експериментів на моделях карагінінового, зимозанового і формалінового набряків та моделі оцтовокислих корчів

дозволило зробити висновок, що ГЕЯС в різних дозах – від 50 мг/кг до 200 мг/кг володіє досить виразними антиексудативними властивостями, які пов'язані у першу чергу з його гальмівним впливом на вивільнення біогенних амінів, пригніченням 5-ЛЮ та зменшенням деструкції мембранних білків, а також у меншій мірі – з пригніченням активності циклооксигенази. Подібна активність ГЕЯС, з огляду на тривалий перебіг хронічного простатиту, доводить перевагу його використання порівняно з нестероїдними протизапальними лікарськими засобами, враховуючи відомі побічні ефекти останніх, які пов'язані з переважним пригніченням ЦОГ та продукції простагландинів з цитопротекторною функцією. Найбільш значна антифлогістична дія ГЕЯС реалізується в діапазоні доз від 100 мг/кг до 200 мг/кг. Збільшення дози ГЕЯС в діапазоні від 100 мг/кг до 200 мг/кг не супроводжується більш значним зростанням протизапальної активності фітозасобу, проте найбільш виразна аналгетична дія ГЕЯС на моделі оцтовокислих корчів була зафіксована саме в дозі 150 мг/кг. Очевидно, що ця доза й була нами обрана для подальших досліджень, оскільки виходячи з провідної ролі запалення і болю в клінічному перебігу простатиту, могла б одночасно забезпечити максимальний протизапальний і аналгетичний ефект.

Проте, окрім аналгетичної дії, в комплексному лікуванні ХП надзвичайно важливою є наявність у обраного простатопротектора супутньої ранозагоювальної функції. Тому подальшим етапом досліджень було вивчення антиальтеративної дії ГЕЯС на моделі асептичної дерматомної рани шкіри та репаративної дії на моделі лінійної різаної рани у щурів [158].

Результати проведених дослідів показали, що ГЕЯС в дозі 150 мг/кг спричиняє антиальтеративну і ранозагоювальну дію на площинні асептичні рани шкіри у щурів. Встановлено, що виразністю антиальтеративної дії, яка оцінювалась за показником повного закриття ранового дефекту, ГЕЯС в дозі 150 мг/кг переважає препарат порівняння корвітин в дозі 10 мг/кг в 1,5 раза і скорочує удвічі термін епітелізації рани порівняно з нелікованими тваринами. Диклофенак натрію антиальтеративною дією не володіє і

уповільнює загоєння дерматомної асептичної рани. Водночас, за час лікування різаних асептичних ран було встановлено, що більш повноцінне їх загоєння відбувалося у тварин, які отримували ГЕЯС в дозі 150 мг/кг. За показником репаративної активності, яка вимірювалась через 7 діб після відтворення лінійної різаної рани ГЕЯС у 1,71 раза переважав корвітин і 2,96 раза диклофенак натрія, через 14 діб репаративна активність ГЕЯС переважала лікувальний ефект корвітину у 2,09 раза, а диклофенаку натрію – відповідно у 14,81 раза ( $P < 0,05$ ). Отже ГЕЯС володіє достатньо виразною антиальтеративною і репаративною активністю, за величиною якої, як на моделі неінфікованої площинної, так і лінійної різаної рани в усі терміни експерименту суттєво переважає лікувальний ефект диклофенаку натрію та фітозасобу порівняння корвітину.

Паралельне дослідження антипроліферативної активності фітозасобів на моделі ватної гранульоми у щурів виявило здатність ГЕЯС і корвітину знижувати відповідно у 1,36 раза ( $P < 0,05$ ) і 1,39 раза ( $P < 0,05$ ) утворення фіброзно-грануляційної тканини, проте за антипроліферативною активністю ці фітозасоби поступались перед диклофенаком натрію.

Окисний стрес і запалення – фактори, які нерозривно пов'язані між собою та є невід'ємною частиною у патогенезі простатитів різної етіології. Окисний стрес викликає запалення, яке, в свою чергу, посилює процеси ПОЛ [42, 47, 48, 156, 187, 189, 194]. Тому підтримка природного балансу між продукцією вільних радикалів та рівнем функціонування антиоксидантної системи дозволяє зменшити запальний процес при ХП, що обумовлює зростання ролі антиоксидантів в комплексній терапії цього захворювання [42, 157, 187]. Проте традиційне застосування класичних синтетичних антиоксидантів не завжди підвищує ефективність лікування у зв'язку з можливими побічними ефектами останніх. Зокрема є дані літератури, які свідчать, що синтетичні антиоксиданти можуть розпізнаватись системою цитохрому Р-450 як ксенобіотики з наступною ініціацією каскаду вільних радикалів і виявленням прооксидантного ефекту замість антиоксидантного

[204-206]. Водночас рослинні антиоксиданти такою дією не володіють, що робить їхній вибір в умовах клінічного застосування більш безпечним і обґрунтованим.

Слід зазначити, що хімічна структура біологічно активних речовин, у першу чергу фенольних сполук, які входять до складу ГЕЯС, дозволяє припустити, що вони можуть володіти антиоксидантними властивостями. Зокрема показана властивість окремих флавоноїдів ГЕЯС блокувати вільнорадикальні процеси за рахунок наявності в молекулах гідроксильних груп, з'єднаних з ароматичними кільцями, які володіють вираженим відновним потенціалом, що гальмує ланцюгову реакцію утворення вільних радикалів [12, 16, 94, 116, 131, 137]. Враховуючи вищенаведене, вважалось доцільним дослідити антиоксидантні властивості ГЕЯС за умов *in vitro* та *in vivo*.

Проведене дослідження дозволило встановити, що ГЕЯС в умовах *in vitro* виявляє антиоксидантні властивості, виразність яких зростає при збільшенні дози фітозасобу. В еквівалентних дозах (8 мкг/мл) цей фітозасіб поступається перед  $\alpha$ -токоферолом, в дозі 15 мкг/мл антиоксидантна активність ГЕЯС і  $\alpha$ -токоферолу (8 мкг/мл) є співзмірною, а в дозі 20 мкг/мл ГЕЯС має потужніший антиокиснювальний потенціал, ніж у препарату порівняння у 1,51 раза ( $P < 0,05$ ). Це вказує на наявність у ГЕЯС прямої дозозалежної антиоксидантної дії в умовах *in vitro*.

Отримані результати дозволили припустити наявність у цього фітозасобу антиоксидантної дії також в умовах *in vivo*, що потребувало експериментального підтвердження.

Вивчення антиоксидантної активності ГЕЯС в умовах *in vivo* здійснювали на моделі токсичного тетрахлорметанового гепатиту у щурів. Цю модель традиційно використовують для оцінки мембранопротекторних і антиоксидантних властивостей сполук [158]. Окрім того, подібна модель дозволяє надати оцінку гепатопротекторним властивостям досліджуваного фітозасобу, а також оцінити можливість його захисного впливу на синтез

печінкою холестерину, як попередника синтезу стероїдних, у тому числі статевих гормонів, порушення обміну яких є однією з патогенетичних ланок хронічного простатиту [1-4, 8, 20-24, 51].

Дослідження показали, що застосування ГЕЯС в дозі 150 мг/кг найбільш радикально запобігало накопиченню продуктів ПОЛ та виснаженню резервів структурних і ферментних антиоксидантів в тканинах печінки та сироватці крові у щурів з гепатитом. У тварин, які отримували ГЕЯС, резерви антиоксидантної системи залишались найбільш потужними: активність СОД перевершувала відповідний показник нелікованої групи у 1,90 раза ( $P < 0,05$ ), активність каталази – у 1,66 раза ( $P < 0,05$ ), активність глутатіонредуктази – у 1,89 раза ( $P < 0,05$ ), вміст відновленого глутатіону – у 1,84 раза ( $P < 0,05$ ), а рівень  $\alpha$ -токоферолу залишався практично на фізіологічному рівні. ГЕЯС в умовах експерименту більш ефективно, ніж препарати порівняння - карсил і пепонен, стабілізував показники ферментемії, зменшуючи активність маркерних ферментів цитолізу - АсАТ і АЛАТ в сироватці крові уражених щурів до мінімуму, що може свідчити про високі антиоксидантні та цитопротекторні властивості фітозасобу.

При інтоксикації тетрахлорметаном розвивається цитолітично-холестатичне ураження печінки, на що вказувало порушення жовчоутворювальної функції, а саме зменшення швидкості секреції жовчі у 10,6 раза ( $P < 0,05$ ) та відповідно синтеза холестерину – у 1,7 раза ( $P < 0,05$ ). ГЕЯС більш активно, порівняно з обома референс-препаратами, коригував виявлені порушення з боку зазначених показників функціонального стану печінки. Зокрема лікування цим фітозасобом збільшувало у тварин з експериментальним гепатитом швидкість секреції жовчі більш ніж у 7,5 раза та зберігало в умовах патології на високому рівні вміст жовчних кислот - (90,6 %) ( $P < 0,05$ ) та холестерину - (92,5 %) ( $P > 0,05$ ) відносно інтактної групи, що свідчить на відновлючий вплив цього фітозасобу на жовчоутворювальну та жовчовидільну функцію печінки в умовах патології.

Отримані результати в цілому свідчать про виразні антиоксидантні

властивості ГЕЯС в умовах модельованої патології, за якими цей фітозасіб не лише перевершує за ефективністю лікувальної дії препарат порівняння пепонен, але й класичний гепатопротектор з відомою антиоксидантною активністю карсил.

Для більш детальної і поглибленої оцінки антиоксидантних властивостей ГЕЯС додатково вивчали його вплив на ОМБ, оскільки відомо, що зазвичай продукти ПОЛ нейтралізуються досить швидко, тоді як окиснені білки піддаються руйнації протягом тривалого часу. ОМБ є однією з ознак окиснювального стресу, а окисна модифікація білкових структур клітин призводить до порушення мембранного потенціалу та процесів деполяризації, десенситизації рецепторів, метаболізму клітини, мітохондріальної дисфункції, надалі до ініціації апоптозу [42, 47, 48, 173, 187]. Одним з ключових механізмів дії багатьох антиоксидантів-цитопротекторів є їхня здатність гальмувати процеси ОМБ і запобігати надмірному накопиченню маркерів окиснювальної модифікації білка – альдегідфенілгідразонів (АФГ) і карбоксифенілгідразонів (КФГ) [160, 161, 162, 173].

У зв'язку з цим, перспективним напрямом є пошук препаратів, що гальмують процеси ОМБ. Відомо, що біологічно активні речовини, виділені з *Tribulus Terrestris L.*, які мають передусім поліфенольну структуру, здатні до нейтралізації як активних форм кисню, так і гідрофільних вільних радикалів, що могло б позитивно вплинути на гальмування не тільки надлишкової ліпопероксидації, але й окисної модифікації білків. Антиоксидантні властивості ГЕЯС оцінювали за інгібуванням в умовах *in vitro* окисної модифікації білка в цитозольній фракції печінки, викликаній реактивом Фентона [162]. Експерименти *in vitro* показали, що ГЕЯС має високу здатність пригнічувати процес карбонілування білків в умовах окислювального стресу.

Застосування ГЕЯС в усіх дозах призводило до достовірного зниження ступеня ОМБ в цитозолі печінки експериментальних тварин. При цьому збільшення у середовищі концентрації ГЕЯС з 5 мкг/мл до 10 мкг/мл і 20 мкг/мл супроводжується поступовим зростанням їх здатності гальмувати



утворення продуктів ОМБ. Найвища здатність знижувати загальний рівень карбонільних похідних за умов *in vitro* була зафіксована в дозі ГЕЯС 20 мкг/мл і становила стосовно гальмування вмісту АФГ - 39,5 %, а КФГ – 54,8 % ( $P < 0,05$ ). Збільшення в інкубаційному середовищі дози ГЕЯС до 50 мкг/мл не супроводжувалось подальшим зростанням його гальмівного впливу стосовно утворення продуктів ОМБ. Це вказує на непряму дозозалежність антиоксидантних ефектів ГЕЯС стосовно ОМБ, а можливо й негативний вплив більш високих концентрацій екстрактивних речовин, що входять до складу цього фітозасобу на активність антиоксидантної системи печінки.

Наявність високих мембранопротекторних властивостей у ГЕЯС підтверджується також дослідженнями його впливу на перекисну резистентність еритроцитів у щурів. При цьому нами встановлено, що поступове збільшення дози ГЕЯС з 25 мг/кг до 150 мг/кг супроводжувалось відповідним зменшенням гемолізу еритроцитів, що свідчить про зростання мембранопротекторних властивостей цього фітозасобу. В зазначеній дозі ГЕЯС за мембранопротекторною дією перевершує аналогічний ефект препаратів порівняння карсилу і пепонену в дозах 100 мг/кг.

Зазвичай при мікробіологічному обстеженні виділень у хворих на бактеріальний простатит виявляють стафілокок, стрептокок, грибкову флору [27, 30, 52]. Тому однією з безумовних переваг при оптимальному виборі сучасного простатопротектора у лікуванні ХП може бути наявність у фітозасобу супутньої антимікробної та імуномодулюючої активності.

Антимікробну дію ГЕЯС досліджували в умовах *in vitro* класичним методом «колодязів». Нами встановлено, що до ГЕЯС мають високу чутливість *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris* та *Escherichia coli*, діаметр зони затримки росту яких перевищував 25 мм. При цьому привертає увагу встановлена висока чутливість до ГЕЯС з боку *Proteus vulgaris* – зона затримки росту склала  $(28,0 \pm 1,2)$  мм, оскільки, як відомо, простатит, в етіології виникнення якого бере участь грибкова мікрофлора, досить резистентний до антибактеріальної терапії. Наявність антимікробної та

протигрибкової дії у різних екстрактах *Tribullus terrestris* L. може бути пов'язана з дією окремих поліфенольних сполук цієї рослини, залежить від регіону заготівлі ЛРС та технології отримання самого екстракту [10, 11, 12].

Імунотропну активність ГЕЯС вивчали, досліджуючи вплив фітозасобу в діапазоні доз від 10 мкг/мл до 100 мкг/мл на трансформаційну і функціональну активність макрофагів периферичної крові в умовах *in vitro*. Найбільш виразна стимуляція макрофагальної активності в умовах *in vitro* була зафіксована при застосуванні в інкубаційному середовищі ГЕЯС в дозі 100 мкг/мл. За цих умов експерименту показник макрофагальної трансформації мононуклеарів (ПМТМ) зростав відносно показника контролю у 1,94 раза ( $P < 0,05$ ); фагоцитарний індекс підвищувався відповідно у 1,55 раза ( $P < 0,05$ ); фагоцитарне число зростало у 1,53 раза ( $P < 0,05$ ). На підставі цього нами зроблено висновок, що досліджена субстанція впливає на неспецифічну імунну відповідь, зокрема проявляє пряму дозозалежну стимулюючу дію на трансформаційну та фагоцитарну активність макрофагів і їх мононуклеарних попередників. Зі збільшенням дози ГЕЯС в інкубаційному середовищі в умовах *in vitro* стимулюючий ефект екстракту на функціональну активність макрофагів периферичної крові та їх попередників посилюється.

Таким чином, проведення скринінгу доз та вивчення фармакодинаміки ГЕЯС дозволило встановити наявність у нього виразної протизапальної, анальгетичної, антиоксидантної, мембранопротекторної, гепатопротекторної, репаративної, ранозагоювальної, антимікробної та імуностимулюючої дії, що потенційно могло б забезпечити позитивну динаміку при лікуванні ХП, впливаючи на провідні патогенетичні ланки цього захворювання.

Враховуючи це, наступним етапом роботи стало вивчення специфічної фармакологічної активності цього фітозасобу на моделях експериментального простатиту, які традиційно використовують для виявлення у препаратів простато протекторної дії. Зокрема для підтвердження у ГЕЯС лікувальних властивостей при ХП досліди

проводились на моделях кріогенного і скипидарного простатиту у щурів, які дозволяли оцінити лікувальний ефект фітозасобу як в умовах гострого, так і хронічного перебігу цього захворювання.

Як відомо, модель кріотравми, яка відтворювалась у щурів, супроводжується ангіоспазмом, ішемією залозистої тканини, підвищенням проникності стінки судин, порушенням мікроциркуляції з подальшим розвитком вираженої запальної реакції та структурними змінами передусім вентральних відділів ПЗ [169]. Зазначена модель відображає розвиток захворювання людини за основними патогенетичними ознаками, що й обумовило її вибір.

В цій серії експериментів досліджувалась ефективність ГЕЯС в дозі 150 мг/кг та препаратів порівняння – трібестан, створений на основі ЛРС якірців сланких, в дозі 60 мг/кг та пепонен - в дозі 106 мг/кг, які застосовуються для лікування хронічного простатиту [55, 146, 157, 192].

Дослідження показали, що на 12-ту добу після альтерації у щурів, навіть при макроскопічному дослідженні були виявлені ознаки запалення ПЗ: зони некрозу, гнійні відділення. Останнє підтвердилось зміною гематологічних і морфологічних показників: лейкоцитозом, збільшенням показника швидкості зсідання еритроцитів, анемією, підвищенням рівня С-реактивного білка, суттєвим зменшенням маси передміхурової залози та сім'яних пухирців. Патологія супроводжується значною активацією процесів ПОЛ, зниженням активності основних компонентів ферментної і неферментної складової АОС, розвитком нітрозитивного стресу, який внаслідок активного нітрозилування білків та амінокислот у вогнищі запалення викликає накопичення в ПЗ первинних (АФГ) і вторинних (КФГ) продуктів окисної модифікації білка, що лежить в основі ушкодження мембран клітин ПЗ. Це негативно впливало на показники андрогенного статусу організму: спостерігались різнобічні зміни в тканинах ПЗ і сироватці крові активності КФ, порушення співвідношення КФ/ЛФ, більш ніж дворазове зменшення вмісту фруктози в СП залози та тестостерону в

сироватці крові. Негативні зрушення функціонального стану ПЗ в умовах кріогенного простатиту в першу чергу позначаються на стані репродуктивної функції щурів. Встановлено, що концентрація сперматозоїдів в суспензії придатків сім'яників знижувалась у 1,5 раза, термін збереження їхньої рухливості скорочувався на 31,8 % ( $P < 0,05$ ), кількість патологічних форм сперматозоїдів збільшувалась у 1,37 раза ( $P < 0,05$ ), що свідчить про виразні порушення сперматогенезу у щурів з кріогенним запаленням ПЗ.

Нами встановлено, що в умовах експериментального кріотравматичного простатиту у щурів досліджувані фітозасоби проявляють протизапальну дію, що підтверджується зменшенням лейкоцитозу, анемії та рівня С-реактивного білка в сироватці крові тварин. При цьому фітокорекція, у першу чергу при застосуванні ГЕЯС і трібестану, суттєво пригнічує активацію окиснювальних процесів в ПЗ (зменшує вміст ТБК-активних продуктів), ефективно коригує баланс ПОЛ/АОС шляхом активації ферментної (активність СОД, каталази, глутатіонредуктази) і неферментної (вміст  $\alpha$ -токоферолу, відновленого глутатіону) складової САЗ, а також знижує концентрацію оксиду азоту в сироватці крові та пригнічує накопичення в вогнищі запалення продуктів перекисної модифікації білка.

Досліджувані фітозасоби в умовах кріотравматичного простатиту спричиняють простатопротекторну дію: відновлюють масові коефіцієнти ПЗ і сім'яних пухирців та сприяють збереженню на рівні, близько до фізіологічного показників андрогенного статусу організму. Вони з різною ефективністю запобігають зниженню андрогенної насиченості організму: зменшують активність простатоспецифічної КФ в сироватці крові з одночасним підвищенням її вмісту в тканинах ПЗ, стабілізують співвідношення КФ/ЛФ, сприяють збереженню вмісту фруктози в гомогенаті СП та рівня тестостерону в сироватці крові, що може свідчити про відновлення порушеного морфо-функціонального стану ПЗ на фоні лікування. Як наслідок, фармакотерапія суттєво покращує порушені в умовах кріотравми показники сперматогенезу: фітозасоби з різною ефективністю

стимулюють пригнічену в умовах кріотравми ПЗ продукцію сперматозоїдів, збільшують тривалість їхньої рухливості та суттєво зменшують відносну кількість патологічних форм сперматозоїдів, що вказує на їхній позитивний вплив на порушену в умовах патології репродуктивну функцію щурів.

Всі досліджувані фітозасоби виявили на моделі кріотравматичного простатиту у щурів простато- та гонадопротекторну активність. Встановлено, що ГЕЯС в дозі 150 мг/кг за виразністю лікувальної дії не поступається перед закордонним аналогом на основі ЛРС якріців сланких трибестаном в дозі 60 мг/кг, а за позитивним впливом на окремі показники сперматогенезу (здатність зменшувати кількість мертвих сперматозоїдів) переважає обидва фітозасоби порівняння трибестан і пепонен в дозі 106 мг/кг, що можливо пояснити більш виразними протизапальними та антиоксидантними властивостями ГЕЯС, більш ефективною корекцією нітрозитивного стресу, показників андрогенного статусу, а також можливим прямим стимулюючим впливом на статеву систему окремих біологічно активних речовин, зокрема стероїдних сапонінів, що входять до його складу [10, 12, 14, 90, 102-105, 130].

Фітозасіб пепонен в умовах експерименту виявив помірковану простатопротекторну дію і поступався перед фітозасобами порівняння за своїм коригуючим впливом на більшість з досліджуваних показників структурно-функціонального стану ПЗ, андрогенного статусу та репродуктивної функції щурів. Ймовірно, це пов'язано з менш виразною здатністю пепонену, порівняно з іншими фітозасобами, коригувати порушення балансу ПОЛ/АОС в гомогенаті ПЗ в умовах оксидативного стресу, ініційованого кріогенною травмою. Меншу лікувальну ефективність пепонену в умовах кріотравми ПЗ можна пояснити тим, що на відміну від ГЕЯС і трибестану, фенольні сполуки, яким притаманні прямі і опосередковані антиоксидантні властивості, не є головними діючими речовинами цього фітозасобу [55, 56, 73, 192, 193]. Отже відмінності впливу фітозасобів на перебіг кріогенного простатиту можливо пояснити дією різних БАР, а відповідно й різними механізмами дії препаратів на основі якріців

сланких (ГЕЯС, трібестан) з одного боку, та пепоненом – з іншого.

Згідно з відомими клінічними даними, з усіх зареєстрованих випадків 90 % ХП діагностується як абактерійний [1-3, 23-25]. Тому наступним етапом наших дослідів було з'ясування ефективності застосування ГЕЯС на моделі простатиту, яка унеможлиблює попадання інфекції в тканини ПЗ і водночас провокує виразний запальний процес. Тому була обрана модель скипидарного простатиту, яка не потребує ураження органів уrogenітального тракту [169]. Оскільки хронічний абактерійний простатит має багато патогенетичних механізмів і характеризується тривалим перебігом, обрана модель дозволяє найбільш об'єктивно оцінити лікувальний ефект препаратів в умовах їх більш тривалого застосування. На відміну від моделі криогенного ураження простати, яка моделює розвиток простатиту переважно в вентральній ПЗ, модель з ректальним уведенням скипидару з димексидом відтворює розвиток простатиту в дорсолатеральній частці ПЗ. За даними літератури, ця модель простатиту супроводжується одночасним порушенням гемодинаміки, патологічними зсувами імунологічного профілю та затримкою сечовиділення. Вона максимально відповідає клінічним проявам хронічного простатиту, а отже може широко використовуватись як для оцінки ефективності фармакотерапії, так і для скринінгу простатотропних лікарських речовин [169].

Встановлено, що ректальне уведення скипидару викликає у щурів важке запальне ураження ПЗ, яке проявляє себе порушенням їхнього загального стану, сечовидільної функції, супроводжується протеїнурією, анемією, лейкоцитозом, зростанням ШОЕ і вмісту С-реактивного білка. В умовах скипидарного простатиту в тканинах ПХ та сироватці крові фіксуються виразні зміни оксидантно-антиоксидантного балансу з накопиченням продуктів ПОЛ, окисної модифікації білків, більш ніж дворазовим збільшенням вмісту NOx, що свідчить про активацію в умовах простатиту нітрозитивного стресу та виснаження резервів антиоксидантної системи. Збереження негативних змін показників у періоді з 30-ї по 60-ту

добу експерименту на тому ж рівні, а за деякими показниками їх посилення (вміст МДА, ДК, активність СОД, рівень АФГ, зменшення добового діурезу та посилення протеїнурії), свідчить про подальший розвиток ХП.

На моделі хронічного «скипидарного» простатиту у щурів фітозасоби з різною ефективністю зменшують виразність запального процесу, що підтверджується зниженням у піддослідних тварин рівня лейкоцитозу, ШОЕ, вмісту С-реактивного білка, анемії, протеїнурії та відновленням протягом терміну терапії показників добового діурезу. При цьому ГЕЯС і трібестан, при їх застосуванні виявили найбільш виразні антиоксидантні властивості: в тканинах ПЗ та сироватці крові піддослідних тварин знижувався надмірний рівень ТБК-активних продуктів, стабілізувалась активність каталази, СОД, глутатіонредуктази, відновлювався вміст в тканинах ПЗ відновленого глутатіону та  $\alpha$ -токоферолу, а також на фоні суттєвого зниження маркера нітрозитивного стресу – NOx стабілізувався рівень продуктів білкового катаболізму АФГ і КФГ.

Скипидарна модель хронічного простатиту характеризувалась зростанням рівня простатоспецифічного ферменту КФ, співвідношення КФ/ЛФ, вмісту фруктози в СП та рівня тестостерону в сироватці крові на 30-ту добу та посиленням цих змін на 60-ту добу експерименту, що свідчить про виразну деструкцію епітелію простатичних залоз після уведення флогогену. Досліджувані препарати в умовах 30-денного застосування стабілізували масу ПЗ у тварин, а також з різною ефективністю відновлювали показники андрогенного статусу, які зазнавали суттєвих змін на фоні хронічного простатиту. При цьому фармакотерапія ХП за допомогою ГЕЯС найбільш радикально зменшувала активність КФ в сироватці крові з одночасним її підвищенням в тканинах ПЗ, відновлювала коефіцієнт КФ/ЛФ, збільшувала вміст фруктози в СП у 2,56 рази ( $P < 0,05$ ), та рівень тестостерону - відповідно у 1,79 рази ( $P < 0,05$ ). На фоні застосування пепонену також зменшувалась активність лужної фосфатази, дещо покращувалось співвідношення КФ/ЛФ, вміст фруктози в СП зростав на 71,1 % ( $P < 0,05$ ), а рівень тестостерону в

сироватці крові збільшувався на 32,1 % ( $P < 0,05$ ). Проте за ефективністю корекції цих специфічних маркерів рівня андрогенізації та фертильності організму в умовах хронічного простатиту пепонен поступався перед ГЕЯС і трібестаном, що вказує на поміркований позитивний вплив цього препарату на структурно-функціональний стан ПЗ.

Встановлена більш висока ефективність ГЕЯС і трібестану стосовно корекції змін показників андрогенного статусу в умовах ХП проявляла себе у більшій здатності цих фітозасобів відновлювати порушену репродуктивну функцію щурів. Зокрема концентрація сперматозоїдів під впливом ГЕЯС збільшувалась порівняно з нелікованою групою у 1,74 раза ( $P < 0,05$ ), при лікуванні трібестаном – у 1,80 раза ( $P < 0,05$ ), пепоненом – у 1,29 раза ( $P > 0,05$ ). Обидва фітозасоби сприяли відновленню до фізіологічного рівня рухливості сперматозоїдів та зменшували відносну кількість їх патологічних форм: при застосуванні ГЕЯС – у 1,51 раза ( $P < 0,05$ ) і трібестану – у 1,49 раза ( $P < 0,05$ ).

Отже нами підтверджена наявність у досліджуваних фітозасобів простато- та гонадопротекторної дії, яка за регулюючим впливом на більшість досліджуваних показників виявилась більш виразною у препаратів на основі якріців сланких (ГЕЯС в дозі 150 мг/кг та трібестан в дозі 60 мг/кг) порівняно з аналогічною дією пепонена в дозі 106 мг/кг.

Отримані дані цілком узгоджуються з роботами інших авторів, які встановили здатність окремих БАР, які входять до складу ЛРС *Tribullus terrestris* L., передусім флавоноїдів і стероїдних сапонінів, здійснювати як прямий, так і опосередкований стимулюючий вплив на репродуктивну систему організму, оскільки ці сполуки можуть бути попередниками синтезу стероїдних, у тому числі статевих гормонів [14, 90, 102-105, 130]. А зафіксовану нами меншу ефективність коригуючого впливу на репродуктивну систему з боку пепонену, ймовірно можна пояснити дещо меншим вмістом стероїдних сполук у складі діючих речовин цього препарату.

На сьогоднішній день відомо, що однією з ключових ланок у патогенезі



ХП є порушення гемодинаміки та мікроциркуляції ПЗ [1, 2, 4, 20-24, 34, 51]

Тому для оцінки механізмів простатопротекторної дії обраних нами фітозасобів було важливим оцінити їхній порівняльний вплив на функціональний стан ендотелію судин в умовах скипидарного простатиту у щурів. Для оцінки функціонального стану ендотелію судин в крові тварин з експериментальним ХП досліджували зміни вмісту S-нітрозотіолів (S-NO) та ендотеліну-1, які, як відомо, є фізіологічними маркерами відповідно вазодилатації та вазоконстрикції [162, 172], а також оцінювали зміни активності ендотеліальної та індукцйбельної синтаз оксиду азоту [173, 174].

Встановлено, що хронічний скипидарний простатит супроводжується суттєвим зниженням вмісту нітрозотіолів (у 1,65 раза) та відповідним зростанням рівня ендотеліну-1 (у 2,18 раза) в крові тварин, що вказує на розвиток виразного дисбалансу між процесами вазодилатації та вазоконстрикції. При цьому фіксувались різнобічні зміни активності ендотеліальної і індукцйбельної NO-синтази: активність eNO-синтази зменшувалась у 2,83 раза, активність iNO-синтази відповідно зростала у 2,09 раза, що свідчило про пошкодження ендотелію судин. Подібні зміни показників функціонального стану судин цілком узгоджуються з встановленим раніше фактом (Розділ 5) багаторазового зростання в крові у тварин з ХП рівня оксиду азоту та активацією окиснювальних процесів внаслідок нітрозитивного стресу. Ендотеліальна NO-синтаза забезпечує синтез оксиду азоту у нормальних фізіологічних умовах і зниження її активності свідчить про порушення нормального функціонування ендотеліоцитів. Водночас індукцйбельна NO-синтаза активується як відповідь на дію патогенних факторів, зокрема при запальному процесі [172, 173, 174]. Надлишкова концентрація NO, яка виробляється внаслідок активації iNOS, негативно впливає на метаболізм ендотелію судин ПЗ, спричиняючи дефіцит енергії. Також при гіперпродукції оксиду азоту його токсичний ефект підсилюється пероксинітридом, який здатний ініціювати апоптоз [47, 48, 50, 172, 174, 194]. Враховуючи вищезазначене, можемо стверджувати, що

встановлене нами підвищення активності індукцйбельної синтази оксиду азоту підтверджує наявність запального процесу та розвиток ендотеліальної дисфункції при експериментальному хронічному простатиті.

Фармакотерапія хронічного простатиту обраними фітозасобами суттєво зменшувала виразність цього дисбалансу. Найбільш ефективно впливав на порушену в умовах ХП ендотеліальну функцію ГЕЯС. Застосування цього фітозасобу у 1,86 раза ( $P < 0,05$ ) зменшувало рівень продукції ендотеліну-1 та відновлювало до фізіологічного рівня в сироватці крові хворих тварин вміст S-NO, активність eNO-синтази і iNO-синтази. Подібним, але дещо меншим за виразністю лікувальної дії виявився ефект трібестану що може свідчити на користь його позитивного впливу на процеси гемодинаміки та мікроциркуляції в ПЗ тварин з хронічним простатитом. Водночас лікувальна ефективність пепонену за аналогічних умов була мінімальною. Вміст S-NO, ендотеліну-1, а також активність eNO-синтази і iNO-синтази в крові у тварин, що лікувались цим фітозасобом, залишався на рівні, який свідчить про збереження дисбалансу між вазодилатацією та вазоконстрикцією, пошкодження ендотелію судин, а отже про нездатність цього фітозасобу повністю усувати ендотеліальну дисфункцію та запальний процес в ПЗ в умовах ХП.

Отже, нами встановлено, що одним з патогенетичних механізмів простатопротекторної дії ГЕЯС в умовах ХП є нормалізація функціонального стану ендотелію судин шляхом стабілізації вмісту S-NO та ендотеліну-1, відновлення природного співвідношення вазодилатаційно - вазоконстрикторного потенціалу, необхідного для нормального функціонування передміхурової залози, а також корекція дисбалансу активності маркерів ендотеліальної дисфункції - ендотеліальної і індукцйбельної NO-синтази.

Деякі науковці пов'язують здатність препаратів на основі *Tribullus terrestris* L. посилювати еректильну функцію за рахунок впливу БАР цієї рослини саме на NO-механізми її регуляції [10, 13, 97, 100, 101]. Встановлена

нами здатність до нормалізації балансу ендотеліальної і індукцйбельної NO-синтази розширюєть уявлення про механізми простатопротекторної дії цього фітозасобу.

Не викликає жодних сумнівів участь імунних процесів в патогенетичних механізмах розвитку і перебігу хронічного простатиту. Зокрема відомо, що здатність лейкоцитів та лімфоцитів крові до проліферації може бути важливим критерієм перебігу запального процесу та виступати одним з критеріїв ефективності фармакотерапії [31, 32, 33, 44-46, 197]. Для з'ясування участі імунних механізмів у забезпеченні лікувальної дії досліджуваних фітозасобів, у тварин з хронічним скипидарним простатитом досліджували їхній вплив на проліферативну активність лімфоцитів периферичної крові, функціональну активність нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові в спонтанному та індукованому НСТ-тесті, а також на фоні лікування оцінювали відповідні зміни цитокінового профілю в сироватці крові.

В тесті з внутрішньошкірним уведенням Кон-А була підтверджена висока здатність ГЕЯС більш радикально, порівняно з препаратами порівняння, усувати порушену в умовах ХП проліферативну активність лімфоцитів периферичної крові, що може розглядатися, як прояв імюнокоригуючої дії цього фітозасобу та один з ймовірних механізмів їхнього позитивного впливу на перебіг цього захворювання.

В раніше проведених дослідях (Розділ 3) нами встановлена здатність ГЕЯС здійснювати дозозалежний прямий стимулюючий вплив на показники фагоцитозу макрофагами периферичної крові в умовах *in vitro*. Тому можливість корекції за допомогою ГЕЯС порушеної в умовах ХП фагоцитарної активності в умовах *in vivo* потребувала свого експериментального підтвердження. Відомо, що спонтанний НСТ-тест є показником загального подразнення фагоцитуючих клітин. В той час як індукований ліпополісахаридом клітинної стінки *E.coli* НСТ-тест є критерієм можливості фагоцитів завершити фагоцитоз [175]. Нами показано, що в

умовах запропонованої моделі хронічного простатиту спостерігається пригнічення функціональної активності та неспроможність нейтрофільних гранулоцитів сформувати адекватну відповідь на антигенну стимуляцію цих клітин ліпополісахаридом *E. Coli* та суттєве зниження їх здатності завершити фагоцитоз. Лікування хронічного простатиту за допомогою ГЕЯС повністю відновлювало функціональну активність нейтрофілів в спонтанному НСТ-тесті. ГЕЯС виявився єдиним фітозасобом, який у повному обсязі стабілізував показник індукованого НСТ-тесту та найбільш максимально сприяв завершеності фагоцитозу. При цьому нейтрофіли тварин, які отримували при лікуванні трібестан, реагували на додаткову стимуляцію ліпополісахаридом *E. Coli* не так активно, як у тварин, що отримували терапію ГЕЯС, у той час як за умов застосування пепонену додаткова стимуляція нейтрофілів ліпополісахаридом не призводила до відповідного збільшення показників фагоцитозу, що може свідчити про недостатню здатність цього фітозасобу коригувати порушення неспецифічної резистентності організму в умовах ХП.

Отже, фармакотерапія хронічного простатиту досліджуваними фітозасобами створює умови для відновлення функціональної активності нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові, що може розглядатись як прояв їхньої імунотропної дії. Ймовірно, що подібна активність фітозасобів, яка у першу чергу притаманна фітозасобу ГЕЯС, може сприяти зменшенню супутньої ендогенної інтоксикації та посиленню адаптивних можливостей організму в умовах цієї патології.

Одним з об'єктивних показників функціонального стану імунної системи організму є здатність імунокомпетентних клітин до секреції регуляторних цитокінів. При простатиті різної етіології порушується локальний і системний метаболізм, гемодинаміка, мають місце імунологічні і нейрорегуляторні розлади, що є наслідком індукції прозапальних тканинних цитокінів, активації хемоатрактантів тощо [31, 32, 44, 195]. Тому зміни цитокінового профілю можуть відображати глибину порушень

резистентності організму в умовах ХП і водночас бути одним з критеріїв ефективності фармакологічної корекції цього захворювання. Нами встановлено, що при ХП імунна реактивність організму зазнає суттєвих змін – в сироватці крові збільшується вміст імуноглобулінів класу А, М та G, циркулюючих імунних комплексів і виникає дисбаланс між продукцією прозапальних і антизапальних цитокінів, а в разі переходу простатиту в хронічну форму негативні зміни з боку гуморального імунітету та цитокінового профілю посилюються.

Виразні імуотропні властивості ГЕЯС при ХП підтверджуються його здатністю коригувати вище зафіксовані порушення гуморального імунітету та балансу про- та антизапальних цитокінів. Лікування тварин цим фітозасобом найбільш вдало, порівняно з препаратами порівняння, усуває зазначені вище патологічні зміни гуморального імунітету та цитокінового профілю: відновлюється рівень Ig A та Ig G, до фізіологічних значень стабілізується вміст ЦІК, IL-4 та IL-10, а рівень прозапальних цитокінів - ФНП- $\alpha$  та IL-1 $\beta$  знижується у 5,47 раза ( $P < 0,05$ ) і 2,66 раза ( $P < 0,05$ ) відповідно. Фітозасоби порівняння також виявили в умовах патології імунопротекторні властивості, проте, у тварин, які лікувались трібестаном, рівень ЦІК залишався достовірно вищим, ніж в групі, що отримувала ГЕЯС. При застосуванні пепонену абсолютний вміст імуноглобулінів, ЦІК, вміст прозапальних - ФНП- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  та антизапальних цитокінів IL-4, IL-10 залишався в межах, які достовірно не відрізнялись від аналогічних значень групи тварин контрольної патології 30 діб, що вказує на доволі слабкі протекторні властивості цього фітозасобу стосовно корекції досліджуваних факторів резистентності, що цілком узгоджується з менш виразними протизапальними властивостями цього препарату.

Таким чином, імунопротекторна дія фітозасобів реалізується шляхом підвищення проліферативної активності лімфоцитів периферичної крові в тесті з Кон-А, відновлення функціональної активності нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові в НСТ-тесті і сприяння завершеності

фагоцитозу, а також шляхом корекції в сироватці крові у тварин вмісту імуноглобулінів (Ig A, Ig M, Ig G) та стабілізації порушеного в умовах патології балансу прозапальних (ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$ ) та протизапальних (ІЛ-4, ІЛ-10) цитокінів. Ймовірно, що імунотропний ефект досліджуваних фітозасобів в умовах хронічного простатиту пов'язаний з їх загально метаболічним впливом. З огляду на результати вище проведених досліджень, можемо дійти висновку, що у препаратів на основі якірців сланких (ГЕЯС, трібестан) спектр цього регулюючого впливу є більш широким, порівно з препаратом порівняння пепоненом. Окрім того більш висока імунопротекторна активність ГЕЯС в умовах досліджуваної патології може бути пов'язана з додатковими прямими стимулюючими ефектами цього фітозасобу на фактори неспецифічної резистентності, зафіксовані нами в умовах *in vitro*.

Враховуючи тривалий перебіг ХП особливо важливим є нешкідливість препарату, дослідження якої стало наступною метою наших досліджень.

Результати вивчення гострої токсичності ГЕЯС на щурах виявили, що фітозасіб при внутрішньошлунковому уведенні відноситься до V класу токсичності – практично нешкідливі речовини, ( $LD_{50} > 5000$  мг/кг).

Вивчення хронічної токсичності ГЕЯС в дозі 150 мг/кг протягом 3 місяців показало відсутність токсичного впливу на організм тварин. Зокрема загальний стан, динаміка маси тіла, орієнтовно-дослідницька поведінка тварин, а також показники електрокардіограми, периферичної крові залишались в межах фізіологічної норми.

При дослідженні впливу ГЕЯС на біохімічні показники крові нами на 60-ту добу експерименту зафіксоване достовірне зниження відносно контрольної групи рівня сечовини на 10,7 % та загального холестерину – на 30,5 %. На 90-ту добу експерименту зміни цих показників посилювались: рівень сечовини в сироватці крові тварин, які отримували ГЕЯС знижувався відносно контрольної групи на 17,8 %, а загального холестерину – на 37,7 % відповідно ( $P < 0,05$ ). Ймовірно, що за умов тривалого курсового уведення, ГЕЯС може позитивно впливати на показники азотного балансу і посилювати

виведення продуктів азотного обміну з організму. Достовірний гіпохолестеринемічний ефект ГЕЯС, зафіксований нами на 60-ту і 90-ту добу експерименту, цілком відповідає існуючим уявленням про вплив на ліпідний обмін стероїдних сапонінів та флавоноїдів, які є головними біологічно активними речовинами, що входять до складу цього фітозасобу [10, 121, 135, 199, 200, 201].

При проведенні тесту «гексеналова проба», тривалість латентного періоду і сну у щурів не змінювалась, що свідчить про відсутність негативного впливу ГЕЯС на функціональний стан та детоксикаційні властивості печінки. Зафіксовані протягом експерименту коливання вмісту сечовини, креатинину та показників клінічного аналізу сечі, які знаходились в межах фізіологічних норм, свідчать про відсутність токсичного впливу ГЕЯС на функціональний стан нирок піддослідних тварин. Отже ГЕЯС при щоденному внутрішньо-шлунковому уведенні в дозі 150 мг/кг на протязі 90 діб не спричиняє ознак токсичного впливу на організм експериментальних тварин, що дозволяє його віднести до нетоксичних речовин.

Таким чином, підсумовуючи результати досліджень фармакодинаміки ГЕЯС, можемо констатувати, що цей фітозасіб в дозі 150 мг/кг при внутрішньошлунковому уведенні на моделях кріотравми ПЗ та скипидарного простатиту у щурів володіє протизапальною (антиексудативною, антиальтеративною, антипроліферативною), аналгетичною, антиоксидантною, гепатопротекторною, ранозагоювальною, репаративною, антимікробною, мембранопротекторною, ендотелійпротекторною та імунопротекторною дією, і коригує провідні патогенетичні механізми ХП. За лікувальною ефективністю при ХП він переважає фітозасоби порівняння трібестан в дозі 60 мг/кг і пепонен в дозі 100 мг/кг, не володіє токсичними властивостями при тривалому застосуванні, що обґрунтовує доцільність створення на його основі сучасного вітчизняного фітопростатопротектора з широким спектром загально метаболічного впливу, який можна використовувати при лікуванні ХП різного генезу.

## ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукової задачі, яка спрямована на підвищення ефективності фармакотерапії хронічного простатиту шляхом застосування нового фітозасобу на основі ЛРС якріців сланких – густого екстракту якріців сланких з широким спектром загально метаболічного впливу на організм та виразною простатопротекторною функцією, яка реалізується шляхом корекції провідних патогенетичних механізмів цього захворювання.

1. На моделях карагенінового, зимозанового, формалінового запалення та оцтовокислих корч у щурів встановлена найбільш ефективна протизапальна та аналгетична доза ГЕЯС - 150 мг/кг, яка за своєю виразністю на різних моделях набряку співставна з диклофенаком натрію в дозі 8,0 мг/кг, перевершує аналогічний ефект корвітину в дозі 10 мг/кг, а за аналгетичною дією - пепонену в дозі 106 мг/кг. Протизапальний ефект ГЕЯС реалізується більшою мірою за рахунок пригнічення вивільнення біогенних амінів, активності ліпоксигенази, зменшення деструкції мембранних білків, і у меншій мірі – шляхом інгібування активності ЦОГ.

2. ГЕЯС в дозі 150 мг/кг спричинає антиальтеративну і ранозагоювальну дію на площинні асептичні рани шкіри у щурів, скорочуючи удвічі термін епітелізації рани, переважаючи за цим критерієм у 1,5 раза препарат корвітин в дозі 10 мг/кг та диклофенак натрію в дозі 8,0 мг/кг, який антиальтеративної дії не виявив. За репаративною активністю на 7-мудобу загоєння лінійної різаної рани ГЕЯС у 1,71 раза ( $P < 0,05$ ) переважає відповідний ефект корвітину і у 2,96 раза ( $P < 0,05$ ) диклофенаку натрію, через 14 діб ГЕЯС перевершує лікувальний ефект корвітину у 2,09 раза ( $P < 0,05$ ), а диклофенаку натрію – відповідно у 14,81 раза ( $P < 0,05$ ). На моделі ватної гранульоми у щурів ГЕЯС виявляє помірну антипроліферативну дію поступаючись за її виразністю перед диклофенаком натрію.

3. ГЕЯС в умовах *in vitro* виявляє антиоксидантні властивості,



виразність яких зростає при збільшенні дози фітозасобу. За здатністю гальмувати утворення продуктів ПОЛ в модельній системі жовткових ліпопротеїдів ГЕЯС в дозі 15 мкг/мл не поступається перед  $\alpha$ -токоферолом (8 мкг/мл), а в дозі 20 мкг/мл відповідно на 39,5 % ( $P < 0,05$ ) та 54,8 % ( $P < 0,05$ ) інгібує утворення первинних (АФГ) і вторинних (КФГ) продуктів перекисного окиснення білків. За ефективністю корекції зсувів оксидантно-антиоксидантного балансу, показників цитолізу та функціонального стану печінки в умовах гострого тетрахлорметанового гепатиту у щурів ГЕЯС перевершує препарати порівняння карсил в дозі 100 мг/кг та пепонен в дозі 106 мг/кг, а також обидва референс-препарати за мембранопротекторною дією на моделі перекисного гемолізу еритроцитів.

4. ГЕЯС володіє широким спектром антимікробної активності в умовах *in vitro* з найвищою чутливістю до нього з боку *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris* та *Escherichia coli*. В діапазоні доз 10 - 100 мкг/мл ГЕЯС в умовах *in vitro* проявляє пряму імуностимулюючу дію, підвищуючи в інкубаційному середовищі у 1,19 – 1,94 раза ( $P < 0,05$ ) трансформаційну і фагоцитарну активність макрофагів периферичної крові.

5. На моделі кріотравматичного простатиту у щурів ГЕЯС виявляє найвищі, порівняно з фітозасобами порівняння, протизапальні та антиоксидантні властивості, що підтверджується зменшенням лейкоцитозу, анемії, рівня С-реактивного білка в сироватці крові тварин, пригніченням окиснювальних процесів в ПЗ, більш ефективною корекцією порушень балансу ПОЛ/АОС за рахунок активації антиоксидантних ферментів - СОД, каталази, глутатіонредуктази та збереження вмісту структурних антиоксидантів ( $\alpha$ -токоферол, відновлений глутатіон). Терапія за допомогою ГЕЯС гальмує розвиток нітрозитивного стресу у тварин при ХП: рівень NOx в сироватці крові знижується у 1,44 раза, вміст АФГ - у 1,54 раза ( $P < 0,05$ ), рівень КФГ - у 1,63 раза ( $P < 0,05$ ).

6. ГЕЯС в умовах кріотравматичного простатиту спричиняє найбільш виразну простато- та гонадопротекторну дію: відновлює масові коефіцієнти

ПЗ і сім'яних пухирців, стабілізує активність простатоспецифічної КФ в сироватці крові і в тканинах ПЗ, сприяє збереженню вмісту фруктози в гомогенаті СП та тестостерону в сироватці крові, покращує показники сперматогенезу: стимулює продукцію, збільшує тривалість рухливості та зменшує кількість патологічних форм сперматозоїдів. ГЕЯС в дозі 150 мг/кг за виразністю лікувальної дії не поступається перед закордонним аналогом на основі ЛРС якірців сланких трібестаном в дозі 60 мг/кг, а за позитивним впливом на стан сперматогенезу переважає трібестан і пепонен в дозі 100 мг/кг.

7. На моделі хронічного «скипидарного» простатиту ГЕЯС спричиняє найбільш виразну протизапальну дію (зменшує лейкоцитоз, ШОЕ, вміст С-реактивного білка), анемію, протеїнурію, відновлює добовий діурез, та проявляє антиоксидантні властивості: коригує надмірний рівень ТБК-активних продуктів, стабілізує активність каталази, СОД, глутатіонредуктази, відновлює вміст в тканинах ПЗ відновленого глутатіону та  $\alpha$ -токоферолу, а також найбільш радикально, порівняно з референс-препаратами, знижує вміст NOx та концентрацію в сироватці крові продуктів білкового катаболізму АФГ і КФГ.

8. На моделі хронічного скипидарного простатиту ГЕЯС в дозі 150 мг/кг та трібестан в дозі 60 мг/кг виявляють більш виразну простато- і гонадопротекторну дію порівняно з аналогічним ефектом пепонена в дозі 106 мг/кг. Вони більш активно відновлюють порушені показники андрогенного статусу організму: стабілізують масу ПЗ, активність КФ, коефіцієнт КФ/ЛФ, підвищують вміст фруктози в СП і рівень тестостерону та коригують порушення репродуктивної функції щурів: збільшують кількість сперматозоїдів, повністю відновлюють порушену рухливість та максимально зменшують відносну кількість патологічних форм сперматозоїдів.

9. Фармакотерапія хронічного простатиту фітозасобом ГЕЯС більш ефективно, порівняно з препаратами порівняння, нормалізує функціональний стан ендотелію судин та зменшує прояви ендотеліальної дисфункції шляхом

стабілізації вмісту S-NO та ендотеліну-1, відновлення природного співвідношення вазодилатаційно - вазоконстрикторного потенціалу та корекції дисбалансу активності маркерів ендотеліальної дисфункції - ендотеліальної і індукцибельної NO-синтази.

10. В умовах хронічного скипидарного простатиту ГЕЯС виявляє імунопротекторні властивості, які реалізуються шляхом підвищення проліферативної активності лімфоцитів периферичної крові в тесті з Кон-А, відновлення функціональної активності нейтрофільних гранулоцитів периферичної крові в НСТ-тесті і сприяння завершеності фагоцитозу, корекції в сироватці крові у тварин вмісту імуноглобулінів (Ig A, Ig M, Ig G) та стабілізації порушеного в умовах патології балансу прозапальних (ФНП- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) та протизапальних (IL-4, IL-10) цитокінів.

11. Результати дослідження токсичності виявили, що ГЕЯС при внутрішньошлунковому введенні відноситься до групи практично нешкідливих речовин, яка відповідає V класу токсичності, (ЛД<sub>50</sub>>5000 мг/кг) та не має токсичних ефектів при тривалому застосуванні. На фоні 60-90 добового уведення ГЕЯС в дозі 150 мг/кг відповідно на 10,7 % - 17,8 % (P<0,05) знижує рівень сечовини та на 30,5 % – 37,7 % (P<0,05) - вміст холестерину в сироватці крові, виявляючи гіпохолестеринемічні властивості.

12. Фітозасіб ГЕЯС в дозі 150 мг/кг при внутрішньошлунковому уведенні на моделях кріотравми ПЗ та скипидарного простатиту у щурів володіє протизапальною (антиексудативною, антиальтеративною, антипроліферативною), аналгетичною, антиоксидантною, гепатопротекторною, ранозагоювальною, репаративною, антимікробною, мембранопротекторною, ендотелійпротекторною та імунопротекторною дією, і коригує провідні патогенетичні механізми ХП. За лікувальною ефективністю при ХП він переважає фітозасоби порівняння трібестан в дозі 60 мг/кг і пепонен в дозі 106 мг/кг, не володіє токсичними властивостями при тривалому застосуванні, що обґрунтовує доцільність створення на його основі сучасного вітчизняного фітопростатопротектора.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. Magri V, Boltri M, Cai T, et al. Multidisciplinary approach to prostatitis. *Arch Ital Urol Androl*. 2019;90(4):227-248. Published 2019 Jan 18. doi:10.4081/aiua.2018.4.227
2. Pirola GM, Verdacchi T, Rosadi S, Annino F, De Angelis M. Chronic prostatitis: current treatment options. *Res Rep Urol*. 2019;11:165-174. Published 2019 Jun 4. doi:10.2147/RRU.S194679
3. Oseni SO, Naar C, Pavlović M, et al. The Molecular Basis and Clinical Consequences of Chronic Inflammation in Prostatic Diseases: Prostatitis, Benign Prostatic Hyperplasia, and Prostate Cancer. *Cancers (Basel)*. 2023;15(12):3110. Published 2023 Jun 8. doi:10.3390/cancers15123110
4. Magistro G, Wagenlehner FME, Pilatz A. Chronische Prostatitis/chronisches Beckenschmerzsyndrom [Chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome]. *Urologie*. 2023;62(6):590-596. doi:10.1007/s00120-023-02089-2.
5. Franco JVA, Turk T, Jung JH, et al. Pharmacological interventions for treating chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome: a Cochrane systematic review. *BJU Int*. 2020;125(4):490-496. doi:10.1111/bju.14988
6. Hu M, Wazir J, Ullah R, et al. Phytotherapy and physical therapy in the management of chronic prostatitis-chronic pelvic pain syndrome. *Int Urol Nephrol*. 2019;51(7):1081-1088. doi:10.1007/s11255-019-02161-x7.
7. Dashdondov O, Wazir J, Sukhbaatar G, et al. Herbal nutraceutical treatment of chronic prostatitis-chronic pelvic pain syndrome: a literature review. *Int Urol Nephrol*. 2021;53(8):1515-1528. doi:10.1007/s11255-021-02868-w
8. Бречка Н.М. Андрогенний статус самців щурів після застосування препаратів природного походження в умовах кріотравми передміхурової залози. *Укр. журн. медицини, біології та спорту*. 2019. Т.4. №4, №5. С.325-331.
9. Нікітін О.Д., Сич В.І., Ясинецький М.О. Сучасна фітотерапія хворих на

доброякісну гіперплазію передміхурової залози та хронічний простатит. *Здоров'я чоловіка*. 2022. №3(82). С.1-8.

10. Zhu W, Du Y, Meng H, Dong Y, Li L. A review of traditional pharmacological uses, phytochemistry, and pharmacological activities of *Tribulus terrestris*. *Chem Cent J*. 2017;11(1):60. Published 2017 Jul 11. doi:10.1186/s13065-017-0289-x

11. Ștefănescu R, Tero-Vescan A, Negroiu A, Aurică E, Vari CE. A Comprehensive Review of the Phytochemical, Pharmacological, and Toxicological Properties of *Tribulus terrestris* L. *Biomolecules*. 2020;10(5):752. Published 2020 May 12. doi:10.3390/biom10050752

12. Tian C, Chang Y, Zhang Z, et al. Extraction technology, component analysis, antioxidant, antibacterial, analgesic and anti-inflammatory activities of flavonoids fraction from *Tribulus terrestris* L. leaves. *Heliyon*. 2019;5(8):e02234. Published 2019 Aug 22. doi:10.1016/j.heliyon.2019.e02234

13. Shahid M, Riaz M, Talpur MM, Pirzada T. Phytopharmacology of *Tribulus terrestris*. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2016;30(3):785-788.

14. Wang ZF, Wang BB, Zhao Y, et al. Furostanol and Spirostanol Saponins from *Tribulus terrestris*. *Molecules*. 2016;21(4):429. Published 2016 Mar 30. doi:10.3390/molecules21040429

15. Tian C, Chang Y, Wang R, et al. Optimization of ultrasound extraction of *Tribulus terrestris* L. leaves saponins and their HPLC-DAD-ESI-MS<sup>n</sup> profiling, anti-inflammatory activity and mechanism in vitro and in vivo. *J Ethnopharmacol*. 2021;278:114225. doi:10.1016/j.jep.2021.114225

16. Tian C, Zhang Z, Wang H, Guo Y, Zhao J, Liu M. Extraction technology, component analysis, and in vitro antioxidant and antibacterial activities of total flavonoids and fatty acids from *Tribulus terrestris* L. fruits. *Biomed Chromatogr*. 2019;33(4):e4474. doi:10.1002/bmc.4474

17. Лікарський засіб антимікробної дії: пат.110211 Україна. № u 2016 04329; заявл. 19.04.16; опубл. 26.09.16, Бюл. №18.

18. Лікарський засіб протизапальної дії: пат.110212 Україна. № u 2016

04330; заявл. 19.04.16; опубл. 26.09.16, Бюл. №18.

19. Кливняк Б. М. Фармакогностичне вивчення якірців сланких (*Tribulus terrestris* L.) : дис. на здобуття наук. ступеня канд. фармацевт. наук : 15.00.02 / Б. М. Кливняк ; Одеса, 2017. – 139 с.

20. Polackwich AS, Shoskes DA. Chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome: a review of evaluation and therapy. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2016 Jun;19(2):132-8. doi: 10.1038/pcan.2016.8. Epub 2016 Mar 8. PMID: 26951713.

21. Magistro G, Wagenlehner FM, Grabe M, Weidner W, Stief CG, Nickel JC. Contemporary Management of Chronic Prostatitis/Chronic Pelvic Pain Syndrome. *Eur Urol.* 2016 Feb;69(2):286-97. doi: 10.1016/j.eururo.2015.08.061. Epub 2015 Sep 26. PMID: 26411805.

22. Graziani A, Grande G, Martin M, Ferraioli G, Colonnello E, Iafrate M, Dal Moro F, Ferlin A. Chronic Prostatitis/Chronic Pain Pelvic Syndrome and Male Infertility. *Life (Basel).* 2023 Aug 7;13(8):1700. doi: 10.3390/life13081700. PMID: 37629557; PMCID: PMC10455764.

23. Yebes A, Toribio-Vazquez C, Martinez-Perez S, et al. Prostatitis: A Review. *Curr Urol Rep.* 2023;24(5):241-251. doi:10.1007/s11934-023-01150-z

24. Zhang J, Liang C, Shang X, Li H. Chronic Prostatitis/Chronic Pelvic Pain Syndrome: A Disease or Symptom? Current Perspectives on Diagnosis, Treatment, and Prognosis. *Am J Mens Health.* 2020 Jan-Feb;14(1):1557988320903200. doi: 10.1177/1557988320903200. PMID: 32005088; PMCID: PMC7256330.

25. Krieger JN, Nyberg L Jr, Nickel JC. NIH consensus definition and classification of prostatitis. *JAMA.* 1999;282(3):236-237. doi:10.1001/jama.282.3.236

26. Стусь В.П., Коштура В.В., Ганічев Є.В., Русинко І.М., Цепелев Ю.Ю., Поліон М.Ю. Комбіноване лікування хронічного простатиту. *Урологія*, 2018. Т. 22 (№ 3). С. 71-75. ISSN 2307-5279. DOI: 10.26641/2307-5279.22.3.2018.143277

27. Mendoza-Rodríguez R, Hernández-Chico I, Gutiérrez-Soto B, Navarro-

Marí JM, Gutiérrez-Fernández J. Etiología microbiana de la prostatitis crónica bacteriana: revisión sistemática [Microbial etiology of bacterial chronic prostatitis: systematic review]. *Rev Esp Quimioter.* 2023;36(2):144-151. doi:10.37201/req/099.2022

28. Johri AV, Johri P, Hoyle N, Nadareishvili L, Pipia L, Nizharadze D. Case report: Successful treatment of recurrent E. coli infection with bacteriophage therapy for patient suffering from chronic bacterial prostatitis. *Front Pharmacol.* 2023;14:1243824. Published 2023 Sep 18. doi:10.3389/fphar.2023.1243824

29. Vestby LK, Grønseth T, Simm R, Nesse LL. Bacterial Biofilm and its Role in the Pathogenesis of Disease. *Antibiotics (Basel).* 2020;9(2):59. Published 2020 Feb 3. doi:10.3390/antibiotics9020059

30. Xiong S, Liu X, Deng W, et al. Pharmacological Interventions for Bacterial Prostatitis. *Front Pharmacol.* 2020;11:504. Published 2020 Apr 30. doi:10.3389/fphar.2020.00504

31. Li ZH, Han WJ, Chen YL. [Role of innate immunity in the pathogenesis of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome: Advances in studies]. *Zhonghua Nan Ke Xue.* 2022 Apr;28(4):344-348. Chinese. PMID: 37477457.

32. Liu Y, Mikrani R, Xie D, Wazir J, Shrestha S, Ullah R, Baig MMFA, Ahmed A, Srivastava PK, Thapa KB, Zhou X. Chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome and prostate cancer: study of immune cells and cytokines. *Fundam Clin Pharmacol.* 2020 Apr;34(2):160-172. doi: 10.1111/fcp.12517. Epub 2019 Nov 12. PMID: 31642541.

33. Chen L, Zhang M, Liang C. Chronic Prostatitis and Pelvic Pain Syndrome: Another Autoimmune Disease? *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2021 Sep 14;69(1):24. doi: 10.1007/s00005-021-00628-3. PMID: 34523016.

34. Tsukanov AY, Rudchenko NV, Mozgovoy SI, Maslyukov AV. [Protection of the prostate in conditions of chronic pelvis varicose]. *Urologiia.* 2021 Sep;(4):53-60. Russian. PMID: 34486275.

35. Kogan MI, Matsionis AE, Belousov II, Povilaitite PE. [Morphological evidence of the ischemic nature of the prostatic fibrosis in the classical chronic

pelvic pain syndrome / IIIB chronic prostatitis]. *Urologiia*. 2018 Jul;(3):12-19. Russian. PMID: 30035413.

36. Ankolkar M, Deshpande SS, Balasinor NH. Systemic hormonal modulation induces sperm nucleosomal imbalance in rat spermatozoa. *Andrologia*. 2018 Oct;50(8):e13060. doi: 10.1111/and.13060. Epub 2018 Jun 19. PMID: 29920734.

37. Gupta VK, Srivastava SK, Ghosh SK, Srivastava N, Singh G, Verma MR, Katiyar R, Muthu R, Bhutia L, Kumar A, Singh R. Effect of endogenous hormones, antisperm antibody and oxidative stress on semen quality of crossbred bulls. *Anim Biotechnol*. 2022 Dec;33(7):1441-1448. doi: 10.1080/10495398.2021.1905656. Epub 2021 Apr 18. PMID: 33866921.

38. Yatkin E, Bernoulli J, Talvitie EM, Santti R. Inflammation and epithelial alterations in rat prostate: impact of the androgen to oestrogen ratio. *Int J Androl*. 2009 Aug;32(4):399-410. doi: 10.1111/j.1365-2605.2008.00930.x. Epub 2008 Oct 21. PMID: 19515173.

39. Reiter E, Hennuy B, Bruyninx M, Cornet A, Klug M, McNamara M, Closset J, Hennen G. Effects of pituitary hormones on the prostate. *Prostate*. 1999 Feb 1;38(2):159-65. doi: 10.1002/(sici)1097-0045(19990201)38:2<159::aid-pros10>3.0.co;2-5. PMID: 9973102.

40. Hull KL, Harvey S. Growth hormone and reproduction: a review of endocrine and autocrine/paracrine interactions. *Int J Endocrinol*. 2014;2014:234014. doi: 10.1155/2014/234014. Epub 2014 Dec 15. PMID: 25580121; PMCID: PMC4279787.

41. Alchinbaev MK, Medeubekov USh, Khusainov TÉ, Mukhamedzhan IT. [New approaches to the treatment of pathospermia]. *Urologiia*. 2013 Mar-Apr;(2):48, 50-1. Russian. PMID: 23789363.

42. Paulis G. Inflammatory mechanisms and oxidative stress in prostatitis: the possible role of antioxidant therapy. *Res Rep Urol*. 2018 Sep 17;10:75-87. doi: 10.2147/RRU.S170400. PMID: 30271757; PMCID: PMC6149977.

43. Jiang Y, Cui D, Du Y, Lu J, Yang L, Li J, Zhang J, Bai X. Association of anti-sperm antibodies with chronic prostatitis: A systematic review and meta-



analysis. *J Reprod Immunol*. 2016 Nov;118:85-91. doi: 10.1016/j.jri.2016.09.004. Epub 2016 Sep 30. PMID: 27743525.

44. Jang TL, Schaeffer AJ. The role of cytokines in prostatitis. *World J Urol*. 2003 Jun;21(2):95-9. doi: 10.1007/s00345-003-0335-2. Epub 2003 May 29. Erratum in: *World J Urol*. 2003 Mar-Apr;70(2):223. PMID: 12783173.

45. Chen L, Bian Z, Chen J, Meng J, Zhang M, Liang C. Immunological alterations in patients with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome and experimental autoimmune prostatitis model: A systematic review and meta-analysis. *Cytokine*. 2021 May;141:155440. doi: 10.1016/j.cyto.2021.155440. Epub 2021 Feb 4. PMID: 33550164.

46. Chen J, Chen J, Fang Y, Shen Q, Zhao K, Liu C, Zhang H. Microbiology and immune mechanisms associated with male infertility. *Front Immunol*. 2023 Feb 21;14:1139450. doi: 10.3389/fimmu.2023.1139450. PMID: 36895560; PMCID: PMC9989213.

47. Ihsan AU, Khan FU, Khongorzul P, Ahmad KA, Naveed M, Yasmeen S, Cao Y, Taleb A, Maiti R, Akhter F, Liao X, Li X, Cheng Y, Khan HU, Alam K, Zhou X. Role of oxidative stress in pathology of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome and male infertility and antioxidants function in ameliorating oxidative stress. *Biomed Pharmacother*. 2018 Oct;106:714-723. doi: 10.1016/j.biopha.2018.06.139. Epub 2018 Jul 11. PMID: 29990863.

48. Agarwal A, Rana M, Qiu E, AlBunni H, Bui AD, Henkel R. Role of oxidative stress, infection and inflammation in male infertility. *Andrologia*. 2018 Dec;50(11):e13126. doi: 10.1111/and.13126. PMID: 30569652.

49. Drevet JR, Hallak J, Nasr-Esfahani MH, Aitken RJ. Reactive Oxygen Species and Their Consequences on the Structure and Function of Mammalian Spermatozoa. *Antioxid Redox Signal*. 2022 Sep;37(7-9):481-500. doi: 10.1089/ars.2021.0235. Epub 2022 Mar 7. PMID: 34913729.

50. Ribeiro JC, Nogueira-Ferreira R, Amado F, Alves MG, Ferreira R, Oliveira PF. Exploring the Role of Oxidative Stress in Sperm Motility: A Proteomic Network Approach. *Antioxid Redox Signal*. 2022 Sep;37(7-9):501-520. doi:

10.1089/ars.2021.0241. Epub 2021 Dec 24. PMID: 34847748.

51. Hochreiter W, Bader P. Etiopathogenese der Prostatitis [Etiopathogenesis of prostatitis]]. *Urologe A*. 2001 Jan;40(1):4-8. German. doi: 10.1007/s001200050424. PMID: 11225430.

52. Doat S, Marous M, Rebillard X, Trétarre B, Lamy PJ, Soares P, Delbos O, Thuret R, Segui B, Cénée S, Menegaux F. Prostatitis, other genitourinary infections and prostate cancer risk: Influence of non-steroidal anti-inflammatory drugs? Results from the EPICAP study. *Int J Cancer*. 2018 Oct 1;143(7):1644-1651. doi: 10.1002/ijc.31565. Epub 2018 Jul 16. PMID: 29696626.

53. Creta M, Collà Ruvolo C, Longo N, Mangiapia F, Arcaniolo D, DE Sio M, DE Nunzio C, Imbimbo C, Mirone V, Fusco F. Detrusor overactivity and underactivity: implication for lower urinary tract symptoms related to benign prostate hyperplasia diagnosis and treatment. *Minerva Urol Nephrol*. 2021 Feb;73(1):59-71. doi: 10.23736/S2724-6051.20.03678-4. Epub 2020 Jan 30. PMID: 32026666.

54. Нікітін О.Д., Сич В.І., Ясинецький М.О. Сучасна фітотерапія хворих на доброякісну гіперплазію передміхурової залози та хронічний простатит. *Здоров'я чоловіка*. 2022. №3 (82). С.1-8.

55. Карнаух Э.В., Олефир А.С. Актуальные простатопротекторы в современной урологии и андрологии. *Експериментальна і клінічна медицина*. 2014. №1(62). С.17-26.

56. Простатопротекторы / С. М. Дроговоз, В. В. Россихин, Т. А. Бухтиарова и др.; под ред. С. М. Дроговоз; НФАУ.- Харьков: ООО «ПП Пляда», 2005. 184 с.

57. Naslund MJ, Miner M. A review of the clinical efficacy and safety of 5alpha-reductase inhibitors for the enlarged prostate. *Clin Ther*. 2007 Jan;29(1):17-25. doi: 10.1016/j.clinthera.2007.01.018. PMID: 17379044.

58. Hughes T, Harper P, Somani BK. Treatment Algorithm for Management of Benign Prostatic Obstruction: An Overview of Current Techniques. *Life (Basel)*. 2023 Oct 18;13(10):2077. doi: 10.3390/life13102077. PMID: 37895457; PMCID:

PMC10608556.

59. Kwon Y. Use of saw palmetto (*Serenoa repens*) extract for benign prostatic hyperplasia. *Food Sci Biotechnol.* 2019 Apr 17;28(6):1599-1606. doi: 10.1007/s10068-019-00605-9. PMID: 31807332; PMCID: PMC6859144.

60. Tamalunas A, Wendt A, Springer F, Vigodski V, Ciotkowska A, Rutz B, Wang R, Huang R, Liu Y, Schulz H, Ledderose S, Kolben T, Magistro G, Stief CG, Hennenberg M. Permixon®, hexane-extracted *Serenoa repens*, inhibits human prostate and bladder smooth muscle contraction and exerts growth-related functions in human prostate stromal cells. *Life Sci.* 2022 Nov 1;308:120931. doi: 10.1016/j.lfs.2022.120931. Epub 2022 Sep 6. PMID: 36084760.

61. Blair HA. Hexanic Extract of *Serenoa repens* (Permixon®): A Review in Symptomatic Benign Prostatic Hyperplasia. *Drugs Aging.* 2022 Mar;39(3):235-243. doi: 10.1007/s40266-022-00924-3. Epub 2022 Mar 3. Erratum in: *Drugs Aging.* 2022 Apr;39(4):313. PMID: 35237936; PMCID: PMC9192452.

62. Yu ZJ, Yan HL, Xu FH, Chao HC, Deng LH, Xu XD, Huang JB, Zeng T. Efficacy and Side Effects of Drugs Commonly Used for the Treatment of Lower Urinary Tract Symptoms Associated With Benign Prostatic Hyperplasia. *Front Pharmacol.* 2020 May 8;11:658. doi: 10.3389/fphar.2020.00658. PMID: 32457631; PMCID: PMC7225336.

63. De Nunzio C, Presicce F, Tubaro A. Combination therapies for improved management of lower urinary tract symptoms/benign prostatic hyperplasia. *Drugs Today (Barc).* 2016 Sep;52(9):501-517. doi: 10.1358/dot.2016.52.9.2525739. PMID: 27883117.

64. Allkanjari O, Vitalone A. What do we know about phytotherapy of benign prostatic hyperplasia? *Life Sci.* 2015 Apr 1;126:42-56. doi: 10.1016/j.lfs.2015.01.023. Epub 2015 Feb 20. PMID: 25703069.

65. Chughtai B, Elterman DS, Lee R, Te AE, Kaplan SA. Experience with the combination of dutasteride and tamsulosin in the long-term management of benign prostatic hyperplasia. *Ther Adv Urol.* 2012 Oct;4(5):267-72. doi: 10.1177/1756287212457115. PMID: 23024707; PMCID: PMC3441136.

66. Fedotcheva TA. Clinical Use of Progestins and Their Mechanisms of Action: Present and Future (Review). *Sovrem Tekhnologii Med.* 2021;13(1):93-106. doi: 10.17691/stm2021.13.1.11. Epub 2021 Feb 28. PMID: 34513071; PMCID: PMC8353691.
67. Pruskowski JA. Another Strike Against Megestrol Acetate Therapy? *Am J Geriatr Psychiatry.* 2020 Jun;28(6):644-645. doi: 10.1016/j.jagp.2020.01.188. Epub 2020 Feb 2. PMID: 32122805.
68. Giorgetti R, di Muzio M, Giorgetti A, Girolami D, Borgia L, Tagliabracci A. Flutamide-induced hepatotoxicity: ethical and scientific issues. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2017 Mar;21(1 Suppl):69-77. PMID: 28379593.
69. Sun Y, Zhu S, Hu Q, Xu P. Haemolytic anaemia induced by flutamide: a case report. *Eur J Hosp Pharm.* 2023 Mar;30(e1):e109-e111. doi: 10.1136/ejhpharm-2021-002936. Epub 2021 Aug 2. PMID: 34341002; PMCID: PMC10086728.
70. Raja T, Sud R, Addla S, Sarkar KK, Sridhar PS, Talreja V, Jain M, Patil K. Gonadotropin-releasing hormone agonists in prostate cancer: A comparative review of efficacy and safety. *Indian J Cancer.* 2022 Mar;59(Supplement):S142-S159. doi: 10.4103/ijc.IJC\_65\_21. PMID: 35343198.
71. Blair HA. Hexanic Extract of *Serenoa repens* (Permixon®): A Review in Symptomatic Benign Prostatic Hyperplasia. *Drugs Aging.* 2022 Mar;39(3):235-243. doi: 10.1007/s40266-022-00924-3. Epub 2022 Mar 3. Erratum in: *Drugs Aging.* 2022 Apr;39(4):313. PMID: 35237936; PMCID: PMC9192452.
72. Salinas-Casado J, Esteban-Fuertes M, Carballido-Rodríguez J, Cozar-Olmo JM. Review of the experience and evidence of *Pygeum africanum* in urological practice. *Actas Urol Esp (Engl Ed).* 2020 Jan-Feb;44(1):9-13. English, Spanish. doi: 10.1016/j.acuro.2019.08.002. Epub 2019 Oct 16. PMID: 31627963.
73. Kang XC, Chen T, Zhou JL, Shen PY, Dai SH, Gao CQ, Zhang JY, Xiong XY, Liu DB. Phytosterols in hull-less pumpkin seed oil, rich in  $\Delta^7$ -phytosterols, ameliorate benign prostatic hyperplasia by lowering  $5\alpha$ -reductase and regulating balance between cell proliferation and apoptosis in rats. *Food Nutr Res.* 2021 Dec

2;65. doi: 10.29219/fnr.v65.7537. PMID: 34984064; PMCID: PMC8693601.

74. Bhusal KK, Magar SK, Thapa R, Lamsal A, Bhandari S, Maharjan R, Shrestha S, Shrestha J. Nutritional and pharmacological importance of stinging nettle (*Urtica dioica* L.): A review. *Heliyon*. 2022 Jun 22;8(6):e09717. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e09717. PMID: 35800714; PMCID: PMC9253158.

75. Сучасна фітотерапія : навч. посіб. / С. В. Гарна, І. М. Владимірова, Н. Б. Бурда та ін. – Харків : «Друкарня Мадрид», 2016. – 580 с. ISBN 978-617-7294-91-6.

76. Dizely N, Mattisson IY, Ramnemark L, Grabe M, Abrahamsson PA. The effects of Cernitin® on inflammatory parameters and benign prostatic hyperplasia: An in vitro study. *Phytother Res*. 2019 Sep;33(9):2457-2464. doi: 10.1002/ptr.6438. Epub 2019 Jul 25. PMID: 31342610.

77. Matyanga CMJ, Morse GD, Gundidza M, Nhachi CFB. African potato (*Hypoxis hemerocallidea*): a systematic review of its chemistry, pharmacology and ethno medicinal properties. *BMC Complement Med Ther*. 2020 Jun 11;20(1):182. doi: 10.1186/s12906-020-02956-x. PMID: 32527245; PMCID: PMC7289225.

78. Pahomova AV, Borovskaja TG, Fomina TI, Ermolaeva LA, Vychuzhanina AV, Rumpel OA, Granstrem OK, Baranova OV. Comparative experimental evaluation of the efficacy of Prostamol Uno and Samprost on rat model of chronic aseptic prostate inflammation. *Bull Exp Biol Med*. 2011 Nov;152(1):66-9. English, Russian. doi: 10.1007/s10517-011-1455-0. PMID: 22803042.

79. Rybalov M, Borovets S, Petlenko S, Krasnov A, Apryatina V. Influence of adding zinc arginyle-glycinate to improve efficacy of bioregulatory peptides of the prostate gland in treatment of patients with impaired sperm parameters. *Georgian Med News*. 2022 Jul-Aug;(328-329):108-114. PMID: 36318852.

80. Savateeva-Liubimova TN, Sivak KV, Malinin VV. [Effect of prostatilen AC suppositories on course of experimental prostatitis]. *Urologiia*. 2012 Jul-Aug;(4):50-2, 54. Russian. PMID: 23116023.

81. Яковлева Л. В., Котелевець Н.В. Корекція патологічного процесу в передміхуровій залозі засобом "Феполен" на моделі експериментального

простатиту, викликаного механічною травмою. *Медицина хімія*. 2006. №1(8). С.11-15.

82. Algethami JS, El-Wahed AAA, Elashal MH, Ahmed HR, Elshafiey EH, Omar EM, Naggar YA, Algethami AF, Shou Q, Alsharif SM, Xu B, Shehata AA, Guo Z, Khalifa SAM, Wang K, El-Seedi HR. Bee Pollen: Clinical Trials and Patent Applications. *Nutrients*. 2022 Jul 12;14(14):2858. doi: 10.3390/nu14142858. PMID: 35889814; PMCID: PMC9323277.

83. Cicero AFG, Allkanjari O, Busetto GM, Cai T, Larganà G, Magri V, Perletti G, Robustelli Della Cuna FS, Russo GI, Stamatiou K, Trinchieri A, Vitalone A. Nutraceutical treatment and prevention of benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *Arch Ital Urol Androl*. 2019 Oct 2;91(3). doi: 10.4081/aiua.2019.3.139. PMID: 31577095.

84. Nayak C, Manchanda R, Khurana A, Chalia DS, Pannek J, Chattopadhyay A, Koley M, Saha S. Clinical trials of homeopathy in urological disorders: a systematic review. *J Complement Integr Med*. 2020 Jul 14;18(1):23-28. doi: 10.1515/jcim-2020-0068. PMID: 32663171.

85. Danilov VV, Danilova TI, Danilov VV, Danilov VV. [Clinical and urodynamic evaluation of efficacy of conservative treatment of urination disorders in patients with benign prostate hyperplasia]. *Urologiia*. 2013 Sep-Oct;(5):55-8. Russian. PMID: 24437242.

86. Ismail M, Mackenzie K, Hashim H. Contemporary treatment options for chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome. *Drugs Today (Barc)*. 2013 Jul;49(7):457-62. doi: 10.1358/dot.2013.49.7.1990152. PMID: 23914354.

87. Aktar N, Moudud A, Chen T, Gao X, Min H, Tang M, Zhou X. Recent Advances in Pharmacological Interventions of Chronic Prostatitis/ Chronic Pelvic Pain Syndrome. *Curr Pharm Des*. 2021;27(25):2861-2871. doi: 10.2174/1381612827666210322125054. PMID: 33749554.

88. Appiya Santharam M, Khan FU, Naveed M, Ali U, Ahsan MZ, Khongorzul P, Shoaib RM, Ihsan AU. Interventions to chronic prostatitis/Chronic pelvic pain syndrome treatment. Where are we standing and what's next? *Eur J Pharmacol*.

2019 Aug 15;857:172429. doi: 10.1016/j.ejphar.2019.172429. Epub 2019 Jun 3. PMID: 31170381.

89. Chhatre S, Nesari T, Somani G, Kanchan D, Sathaye S. Phytopharmacological overview of *Tribulus terrestris*. *Pharmacogn Rev*. 2014 Jan;8(15):45-51. doi: 10.4103/0973-7847.125530. PMID: 24600195; PMCID: PMC3931200.

90. Su L, Feng SG, Qiao L, Zhou YZ, Yang RP, Pei YH. Two new steroidal saponins from *Tribulus terrestris*. *J Asian Nat Prod Res*. 2009;11(1):38-43. doi: 10.1080/10286020802413130. PMID: 19177235.

91. Yekta, M. M., Alavi, S. H. R., Ajani, Y., & Hadjiaghaee, R. Flavonoid Glycosides from *Tribulus terrestris* L. orientalis: Flavonoids from *Tribulus terrestris* L. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008. 4(3): 231-236.

92. Yang FK, Zhang ML, Quan XL, Xue ML, Cai HX, Yang J. Determination and comparison HPLC of total flavonoids in different parts of *Tribulus Terrestris* glycoside content. *Mod Tradit Chin Med*. 2014. 34(4):61–64.

93. Wang RY, Chen G, Yu CY. Chemical constituents of *Tribulus terrestris* L. *J B Univ Chem Technol*. (Nat Sci Ed). 2009. 36:79–82.

94. Hammada HM, Ghazy NM, Harraz FM, Radwan MM, ElSohly MA, Abdallah II. Chemical constituents from *Tribulus terrestris* and screening of their antioxidant activity. *Phytochemistry*. 2013 Aug;92:153-9. doi: 10.1016/j.phytochem.2013.04.005. Epub 2013 May 2. PMID: 23642392.

95. Chen HS, Chen QJ, Xuan WD. A new organic acid from *Tribulus terrestris*. *Acad J Second Military Med Univ*. 2004. 25(11):1241–1242.

96. Liu J, Chen HS, Xu YX, Zhang WD, Liu WY Studies on chemical constituents of *Tribulus terrestris* L. *Acad J Second Military Med Univ*. 2003. 24(2):221–222

97. Neychev V, Mitev V. Pro-sexual and androgen enhancing effects of *Tribulus terrestris* L.: Fact or Fiction. *J Ethnopharmacol*. 2016 Feb 17;179:345-55. doi: 10.1016/j.jep.2015.12.055. Epub 2015 Dec 28. PMID: 26727646.

98. Sahin K, Orhan C, Akdemir F, Tuzcu M, Gencoglu H, Sahin N, Turk G,

Yilmaz I, Ozercan IH, Juturu V. Comparative evaluation of the sexual functions and NF- $\kappa$ B and Nrf2 pathways of some aphrodisiac herbal extracts in male rats. *BMC Complement Altern Med*. 2016 Aug 26;16(1):318. doi: 10.1186/s12906-016-1303-x. PMID: 27561457; PMCID: PMC5000417.

99. Gauthaman K, Ganesan AP. The hormonal effects of *Tribulus terrestris* and its role in the management of male erectile dysfunction an evaluation using primates, rabbit and rat. *Phytomedicine*. 2008 Jan;15(1-2):44-54. doi: 10.1016/j.phymed.2007.11.011. PMID: 18068966.

100. Sahoo HB, Nandy S, Senapati AK, Sarangi SP, Sahoo SK. Aphrodisiac activity of polyherbal formulation in experimental models on male rats. *Pharmacognosy Res*. 2014 Apr;6(2):120-6. doi: 10.4103/0974-8490.129029. PMID: 24761115; PMCID: PMC3996747.

101. Kamenov Z, Fileva S, Kalinov K, Jannini EA. Evaluation of the efficacy and safety of *Tribulus terrestris* in male sexual dysfunction-A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Maturitas*. 2017 May;99:20-26. doi: 10.1016/j.maturitas.2017.01.011. Epub 2017 Feb 12. PMID: 28364864.

102. Oliveira NNPM, Félix MAR, Pereira TCS, Rocha LGP, Miranda JR, Zangeronimo MG et al. Sperm quality and testicular histomorphometry of wistar rats supplemented with extract and fractions of fruit of *Tribulus terrestris* L. *Brazarch Biol Techn*. 2015. 58(6):891–897

103. Praveen, K., & Poonam, S. Protective role of *Tribulus terrestris* on aluminium chloride-induced reproductive toxicity in the male laboratory mouse. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research (IJPSR)*. 2015. 6(6): 2395-2405.

104. Kumari M, Singh P. *Tribulus terrestris* ameliorates metronidazole-induced spermatogenic inhibition and testicular oxidative stress in the laboratory mouse. *Indian J Pharmacol*. 2015 May-Jun;47(3):304-10. doi: 10.4103/0253-7613.157129. PMID: 26069369; PMCID: PMC4450557.

105. Khaleghi S, Bakhtiari M, Asadmobini A, Esmaili F. *Tribulus terrestris*



Extract Improves Human Sperm Parameters In Vitro. *J Evid Based Complementary Altern Med.* 2017 Jul;22(3):407-412. doi: 10.1177/2156587216668110. Epub 2016 Sep 30. PMID: 27694560; PMCID: PMC5871152.

106. Bitzer J, Giraldi A, Pfaus J. Sexual desire and hypoactive sexual desire disorder in women. Introduction and overview. Standard operating procedure (SOP Part 1). *J Sex Med.* 2013 Jan;10(1):36-49. doi: 10.1111/j.1743-6109.2012.02818.x. Epub 2012 Sep 13. PMID: 22974089.

107. Postigo S, Lima SM, Yamada SS, dos Reis BF, da Silva GM, Aoki T. Assessment of the Effects of Tribulus Terrestris on Sexual Function of Menopausal Women. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2016 Mar;38(3):140-6. doi: 10.1055/s-0036-1571472. Epub 2016 Feb 22. PMID: 26902700; PMCID: PMC10309463.

108. Sharma I, Khan W, Ahmad S. In vitro and ex vivo approach for anti-urolithiatic potential of bioactive fractions of gokhru with simultaneous HPLC analysis of six major metabolites and their exploration in rat plasma. *Pharm Biol.* 2017 Dec;55(1):701-711. doi: 10.1080/13880209.2016.1266671. PMID: 27982733; PMCID: PMC6130657.

109. Aggarwal A, Tandon S, Singla SK, Tandon C. A novel antilithiatic protein from Tribulus terrestris having cytoprotective potency. *Protein Pept Lett.* 2012 Aug;19(8):812-9. doi: 10.2174/092986612801619552. PMID: 22702898.

110. Arasaratnam V, Balakumar S, Senthuran A, Rajendraprasad R. A study of Tribulus terrestris extract on risk factors for urinary stone in normal subjects and urolithic patients. *J Natn Sci Found Sri Lanka.* 2010. 38(3):187–191.

111. Ercan P, El SN. Inhibitory effects of chickpea and Tribulus terrestris on lipase,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase. *Food Chem.* 2016 Aug 15;205:163-9. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.03.012. Epub 2016 Mar 4. PMID: 27006227.

112. Samani NB, Jokar A, Soveid M, Heydari M, Mosavat SH. Efficacy of Tribulus Terrestris Extract on the Serum Glucose and Lipids of Women with Diabetes Mellitus. *Iran J Med Sci.* 2016 May;41(3 Suppl):S5. PMID: 27840471; PMCID: PMC5103558.

113. Zhang S, Li H, Yang SJ. Tribulosin protects rat hearts from ischemia/reperfusion injury. *Acta Pharmacol Sin.* 2010 Jun;31(6):671-8. doi: 10.1038/aps.2010.45. Epub 2010 May 10. PMID: 20453871; PMCID: PMC4002968.
114. Zhang S, Li H, Wei ZR, Liang L, Zhang W, Yang SJ Influence of gross saponins from *Tribulus terrestris* preconditioning on myocardial ischemia-reperfusion injury. *Chin Tradit Herbal Drugs.* 2010. 41(6):959–963
115. Reshma PL, Sainu NS, Mathew AK, Raghu KG. Mitochondrial dysfunction in H9c2 cells during ischemia and amelioration with *Tribulus terrestris* L. *Life Sci.* 2016 May 1;152:220-30. doi: 10.1016/j.lfs.2016.03.055. Epub 2016 Apr 2. PMID: 27049116.
116. Reshma PL, Lekshmi VS, Sankar V, Raghu KG. *Tribulus terrestris* (Linn.) Attenuates Cellular Alterations Induced by Ischemia in H9c2 Cells Via Antioxidant Potential. *Phytother Res.* 2015 Jun;29(6):933-43. doi: 10.1002/ptr.5336. Epub 2015 Apr 8. PMID: 25858861.
117. Fg Zhai, Li HZ, Zhou FB, Lin F, Guan LX. Effects of saponins of *Tribulus terrestris* on PPAR $\gamma$  and NF- $\kappa$ B signaling pathways expression in rat brain following cerebral ischemic injury. *Med Recapitulate.* 2015. 21(24):4539–4540.
118. Li, L. B., Li, J., Li, H., & Yang, S. J. Protective effects of gross saponins of *Tribulus terrestris* on experimental intracerebral hemorrhage in rats. *J Harbin Med Univ.* 2006. 40(2): 99-102.
119. Deole YS, Chavan SS, Ashok BK, Ravishankar B, Thakar AB, Chandola HM. Evaluation of anti-depressant and anxiolytic activity of Rasayana Ghana Tablet (A compound Ayurvedic formulation) in albino mice. *Ayu.* 2011 Jul;32(3):375-9. doi: 10.4103/0974-8520.93918. PMID: 22529654; PMCID: PMC3326886.
120. Ranjithkumar R, Alhadidi Q, Shah ZA, Ramanathan M. Tribulusterine Containing *Tribulus terrestris* Extract Exhibited Neuroprotection Through Attenuating Stress Kinases Mediated Inflammatory Mechanism: In Vitro and In Vivo Studies. *Neurochem Res.* 2019;44(5):1228-1242. doi:10.1007/s11064-019-

02768-7

121. Tuncer MA, Yaymaci B, Sati L, et al. Influence of *Tribulus terrestris* extract on lipid profile and endothelial structure in developing atherosclerotic lesions in the aorta of rabbits on a high-cholesterol diet. *Acta Histochem.* 2009;111(6):488-500. doi:10.1016/j.acthis.2008.06.004.

122. Fernández-Lázaro D, Seco-Calvo J, Pascual-Fernández J, Domínguez-Ortega C, Del Valle Soto M, Mielgo-Ayuso J. 6-Week Supplementation with *Tribulus terrestris* L. to Trained Male CrossFit® Athletes on Muscle, Inflammation, and Antioxidant Biomarkers: A Randomized, Single-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19(23):16158. Published 2022 Dec 2. doi:10.3390/ijerph192316158

123. Fernández-Lázaro D, Fernandez-Lazaro CI, Seco-Calvo J, Garrosa E, Adams DP, Mielgo-Ayuso J. Effects of *Tribulus terrestris* L. on Sport and Health Biomarkers in Physically Active Adult Males: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19(15):9533. Published 2022 Aug 3. doi:10.3390/ijerph19159533.

124. Goranova TE, Bozhanov SS, Lozanov VS, Mitev VI, Kaneva RP, Georgieva EI. Changes in gene expression of CXCR4, CCR7 and BCL2 after treatment of breast cancer cells with saponin extract from *Tribulus terrestris*. *Neoplasma.* 2015;62(1):27-33. doi:10.4149/neo\_2015\_004.

125. Sisto M, Lisi S, D'Amore M, et al. Saponins from *Tribulus terrestris* L. protect human keratinocytes from UVB-induced damage. *J Photochem Photobiol B.* 2012;117:193-201. doi:10.1016/j.jphotobiol.2012.10.002.

126. Vala MH, Goudarzi H, Moghada SN, Nejad MK, Jahangiti S, Gholami M. In vitro assessment of *Tribulus terrestris* aqueous extract and Benzoxacin fraction against *Helicobacter pylori* isolates from biopsy samples of Iranian patients. *Novel biomed.* 2013. 1(3):84–87.

127. Zhang, J. D., Zheng, X. U., Cao, Y. B., Jun, G. U., & Jiang, Y. Y. Study on regulation of ERG genes expression in *Candida albicans* by a new anti-fungi agent TTS-12. *Chin Pharm J.* 2011. 46(16): 1229-1234.

128. Kiran, B., Lalitha, V., & Raveesha, K. A. In vitro evaluation of aqueous and solvent extract of *Tribulus terrestris* L. leaf against human bacteria. *Int J Pharm Tech Res.* 2011. 3(3): 1897-1903.
129. Soleimanpour S, Sedighinia FS, Safipour Afshar A, Zarif R, Ghazvini K. Antibacterial activity of *Tribulus terrestris* and its synergistic effect with *Capsella bursa-pastoris* and *Glycyrrhiza glabra* against oral pathogens: an in-vitro study. *Avicenna J Phytomed.* 2015;5(3):210-217.
130. Hemalatha S, Hari R. Comparative antioxidant activities of crude ethanolic and saponin rich butanol extracts of *Tribulus terrestris* fruits. *Int J Pharma Biol Sc.* 2013. 4(4):784–793.
131. Michalak O, Krzeczyński P, Jaromin A. et al. Antioxidant activity of novel diosgenin derivatives: Synthesis, biological evaluation, and in silico ADME prediction. *Steroids.* 2022;188:109115. doi:10.1016/j.steroids.2022.109115.
132. Nejati M, Dehghan P, Khani M, Sarbakhsh P. The effect of *Tribulus terrestris* supplementation on inflammation, oxidative stress, and performance of recreational runners: study protocol for a randomized placebo-controlled trial. *Trials.* 2022;23(1):689. Published 2022 Aug 19. doi:10.1186/s13063-022-06630-0.
133. Ko HJ, Ahn EK, Oh JS. N-trans-p-caffeoyl tyramine isolated from *Tribulus terrestris* exerts anti-inflammatory effects in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells. *Int J Mol Med.* 2015;36(4):1042-1048. doi:10.3892/ijmm.2015.2301.
134. Baburao B, Rajyalakshmi G, Venkatesham A, Kiran G, Shyam Sunder A, Ganga Rao B. Anti-inflammatory and antimicrobial activities of methanolic extract of *Tribulus terrestris* Linn plant. *Int J Chem Sci.* 2009. 16(2):209–218.
135. Misiakiewicz-Has K, Maciejewska-Markiewicz D, Rzeszotek S, et al. The Obscure Effect of *Tribulus terrestris* Saponins Plus Inulin on Liver Morphology, Liver Fatty Acids, Plasma Glucose, and Lipid Profile in SD Rats with and without Induced Type 2 Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci.* 2021;22(16):8680. Published 2021 Aug 12. doi:10.3390/ijms22168680.
136. Yunusova S, Rozhkovskiy Y, Prystupa B, Bohatu S. Study of the anti-

inflammatory properties of a thick extract of *Tribulus terrestris* L. *Studium protizánětlivých vlastností hustého extraktu Tribulus terrestris* L. *Ceska Slov Farm.* 2023;72(4):184-189. doi: <https://doi.org/10.5817/CSF2023-4-184>

137. Abbas MW, Hussain M, Akhtar S, et al. Bioactive Compounds, Antioxidant, Anti-Inflammatory, Anti-Cancer, and Toxicity Assessment of *Tribulus terrestris*-In Vitro and In Vivo Studies. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11(6):1160. Published 2022 Jun 13. doi:10.3390/antiox11061160.

138. Parimala DR In-vitro anthelmintic activity of methanolic extract of aerial parts of *Tribulus terrestris* Linn. *J Global Pharma Technol.* 2011. 3(6):1–3.

139. Bansal SK, Singh KV, Sharma S. Larvicidal potential of wild mustard (*Cleome viscosa*) and gokhru (*Tribulus terrestris*) against mosquito vectors in the semi-arid region of Western Rajasthan. *J Environ Biol.* 2014;35(2):327-332.

140. Oh HK, Park SJ, Moon HD, Jun SH, Choi NY, You YO. *Tribulus terrestris* inhibits caries-inducing properties of *Streptococcus mutans*. *J Med Plants. Res.* 2011; 5(25):6061–6066.

141. Zhu XW. Effect of gross saponins from *Tribulus terrestris* on skin morphology of D-galactose-induced aging mice. *Chin J Gerontol.* 2011. 31(23):4628–4630.

142. Prabhu N. Effect of *Tribulus terrestris* on learning and memory in wistar rats. *Phcog J.* 2014. 6(4):68–71.

143. Ayyanna C, Chandra Mohan Rao G, Sasikala M, Somasekhar P, Arun Kumar N, Pradeep Kumar MVS. Absorption enhancement studies of Metformin hydrochloride by using *Tribulus terrestris* plant extract. *Int J Pharm Tech.* 2012; 4(1):4118–4125.

144. Державний реєстар лікарських засобів України [Електронний ресурс] / Інформаційний фонд. Міністерство охорони здоров'я України. Департамент фармацевтичної діяльності Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України. Пошук лікарських засобів. - Режим доступу: <http://www.drlz.kiev.ua/> (дата звернення: 12.01.2024). Назва з екрану.

145. Верона [Електронний ресурс]: Нормативно-директивні документи

МОЗ України/ - Режим доступу: <https://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=8542> (дата звернення: 12.01.2024). Назва з екрану.

146. Трібестан [Електронний ресурс]: Нормативно-директивні документи МОЗ України/ - Режим доступу: <https://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=4257> (дата звернення: 12.01.2024). Назва з екрану.

147. Цистон [Електронний ресурс]: Нормативно-директивні документи МОЗ України/ - Режим доступу: <https://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=2516> (дата звернення: 12.01.2024). Назва з екрану.

148. Компендіум. Дієтичні добавки [Електронний ресурс]: Правенор® Форте. – Режим доступу: <https://compendium.com.ua/dec/321464/> (дата звернення: 12.01.2024). Назва з екрану.

149. Компендіум. Дієтичні добавки [Електронний ресурс]: ТрибустиМ. – Режим доступу : <https://compendium.com.ua/dec/321170/274094/> (дата звернення: 12.01.2024). Назва з екрану.

150. Гокшура [Електронний ресурс]: Каталог. Аюрведичні препарати з Індії. Режим доступу: <https://svitovederevo.com.ua/uk/gokshura-himalaya-herbal.html> (дата звернення: 12.01.2024). Назва з екрану.

151. Компендіум. Дієтичні добавки [Електронний ресурс]: Якірці сланкі. – Режим доступу: <https://compendium.com.ua/dec/321834/406623/> (дата звернення: 12.01.2024). Назва з екрану.

152. Юнусова С. І. Вивчення антиальтеративної, репаративної та антипроліферативної дії густого екстракту якірців сланких в експерименті. *Фітотерпія. Часопис*.2022.№4.С.97-103. DOI:10.33617/2522-9680-2022-4-97.

153. Yavtushenko IV, Nazarenko SM, Katrushov OV, Kostenko VO. Quercetin limits the progression of oxidative and nitrosative stress in the rats' tissues after experimental traumatic brain injury. *Wiad Lek*. 2020;73(10):2127-2132.

154. Sroka Z, Sowa A, Dryś A. Inhibition of Lipoxygenase and Peroxidase Reaction by Some Flavonols and Flavones: The Structure-Activity Relationship. *Natural Product Communications*. 2017;12(11). doi:10.1177/1934578X1701201111

155. Бречка Н.М., Козар В.В., Бондаренко В.О. Показники запалення за умов експериментального кріотравматичного простатиту та його фармакологічної корекції. *Одеський медичний журнал*. 2019.№4-5 (174-175). С.4-9.

156. Brechka N, Bondarenko V, Morozenko D, et al. The state of prooxidant-antioxidant balance in prostate gland of rats with cryotrauma and its correction with drugs of natural origin. *Georgian Med News*. 2019;(296):91-95.

157. Юнусова С. І., Рожковський Я.В., Приступа Б.В., Богату С.В. Простатопротекторна дія густого екстракту якірців сланких на моделі кріотравми передміхурової залози у щурів. *Фітотерапія. Часопис*. 2022. №3. С.78-85. DOI: 10.33617/2522-9680-2022-3-78.

158. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. К.:Авіцена, 2001. 528 с.

159. Klebanov GI, Teselkin IuO, Babenkova IV, Liubitskiy OB, Vladimirov IuA. Antioksidatnaia aktivnost' syvorotki krovi [Serum antioxidative activity]. *Vestn Ross Akad Med Nauk*. 1999;(2):15-22.

160. Юнусова С.І., Рожковський Я.В. Антиоксидантні властивості густого екстракту якірців сланких за умов *in vitro* та *in vivo*. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2023.Т.17,№2.С.115-124. DOI: 10.33250/17.02.115

161. Методи оцінки антиоксидантної активності речовин при ініціюванні вільнорадикальних процесів у дослідах *in vitro*: метод. реком. / І. Ф. Беленічев, Ю. І. Губський, В. В. Дунаєв, С. І. Коваленко. Київ : ДФЦ МОЗ України, 2001. 19 с.

162. Доклінічне вивчення специфічної активності потенційних лікарських засобів первинної та вторинної нейропротекції / І. С. Чекман, І. Ф. Беленічев, О. О. Нагорна та ін. Методичні рекомендації. Київ : ТОВ «Видавництво «Юстон», 2016. 80 с.

163. Рыболовлев Ю.Р., Рыболовлев Р.С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности. *Доклады Академии Наук СССР*. 1979. № 6 (247): 1513–1516.

164. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник. под ред. В.В. Меньшикова. М.: Медицина, 1987. 368 с.
165. Дроговоз С.М., Сальникова С.И., Скакун Н.П., Слышков В.В. Методические рекомендации по экспериментальному изучению желчегонной, холеспазмолитической, холелитиазной и гепатопротекторной активности новых лекарственных средств. К. 1994. 46 с.
166. Гжегоцький М. Р. Метод визначення пероксидної резистентності еритроцитів та його інформативність за фізіологічних умов та при інтоксикації організму. *Експерим. та клініч. фізіологія і біохімія*. 2004. № 3. С. 58–64.
167. Киселева Е. П. Цвейбах А. С., Гольдман Е. И., Пигарева Н. В. Использование микрометода для бласттрансформации лимфоцитов человека и животных. *Иммунология*. 1985. № 1. С. 76–78.
168. Фролов В. М. Пересадин Н. А., Пшеничный И. Я. Определение фагоцитарной активности моноцитов периферической крови у больных. *Лаб. дело*. 1990. № 9. С. 27–29.
169. Коренєва ЄМ, Філімонова НІ, Бречка НМ, Чистякова ЕЄ, Смоленко НІ, Белкіна ІО, Карпенко НО. Моделювання хронічного простатиту. Абактерійний простатит в аспекті відтворення експериментальної гіпофертильності (огляд літератури). *Проблеми ендокринної патології*. 2019. №1(67).С.104-115.
170. Лабораторні методи дослідження у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник. В. В. Влізла, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич та ін.; за ред. В. В. Влізла. Львів: Сполом, 2012. 764 с.
171. Vokunyaeva NI. Vydeleniya polovykh organov. Spravochnik po klinicheskim i laboratorny`m metodam issledovaniya. M. 1975: 331-340.
172. Колесник Ю.М., Чекман І.С., Мазур І.А., Беленічев І.Ф., Горчакова Н.О., Нагорна О.О. Механізми розвитку ендотеліальної дисфункції та пошук ендотеліопротекторів. *Журнал НАМН України*. 2014. Т.20.№ 3. С. 289-299.
173. Akimov OO, Kostenko VO. Oksydatyvno – nitrozatyvnyj stress ta jogo



metody doslidzheniya. [Oxidative - nitrosative stress and its research methods ]. L'viv: «Magnoliya 2006»; 2021. 152 p.

174. Ковальова О.М. Демиденко Г.В., Горбач Т.В. Діагностика ендотеліальної функції – оцінка вазоактивного пулу оксиду азота. *Методичні рекомендації*. Київ., 2007. 19 с.

175. Клінічна та лабораторна імунологія. Національний підручник. За загальною редакцією Кузнецової Л.В., Фролова В.М., Бабаджана В.Д. К.: ООО «Полиграф плюс». 2012. 922 с.

176. Чернушенко Е. Ф., Когосова Л.С.. Иммунологические методы исследования в клинике. К. : Здоров'я, 1978. 159 с.

177. Гриневич Ю. А, Алферов А.М. Определение иммунных комплексов в крови онкологических больных. *Лаб. дело*. 1981. No 8. С. 493–495.

178. Пастушенко Т. В., Маруший П. Б., Жуков А. А. Экспресс-метод определения среднесмертельных доз химических веществ. *Гигиена и санитария*. 1985. № 6. С. 46–49.

179. Сидоров К. К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. *Токсикология новых химических веществ*. М. : Медицина, 1973. Вып. 13. С. 47–57.

180. Abdulkhaleq LA, Assi MA, Abdullah R, Zamri-Saad M, Taufiq-Yap YH, Hezmee MNM. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *Vet World*. 2018;11(5):627-635. doi:10.14202/vetworld.2018.627-635.

181. Yahfoufi N, Alsadi N, Jambi M, Matar C. The Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Role of Polyphenols. *Nutrients*. 2018;10(11):1618. Published 2018 Nov 2. doi:10.3390/nu10111618.

182. Häfner AK, Kahnt AS, Steinhilber D. Beyond leukotriene formation-The noncanonical functions of 5-lipoxygenase. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*. 2019;142:24-32. doi:10.1016/j.prostaglandins.2019.03.003.

183. Taccone-Gallucci M, Manca-di-Villahermosa S, Maccarrone M. Leukotrienes. *N Engl J Med*. 2008;358(7):746. doi:10.1056/NEJMc073333.

184. Volman TJ, Hendriks T, Goris RJ. Zymosan-induced generalized

inflammation: experimental studies into mechanisms leading to multiple organ dysfunction syndrome. *Shock*. 2005;23(4):291-297. doi:10.1097/01.shk.0000155350.95435.28.

185. Ullah A, Munir S, Badshah SL, et al. Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. *Molecules*. 2020;25(22):5243. Published 2020 Nov 11. doi:10.3390/molecules25225243.

186. Fowler C. Do nonsteroidal anti-inflammatory drugs impair tissue healing? *JAAPA*. 2018;31(8):1-5. doi:10.1097/01.JAA.0000541488.41149.95.

187. Беленічев І.Ф., Левицький Є.Л., Губський Ю.І., Коваленко С.І., Марченко О.М. Антиоксидантна система захисту організму (огляд). *Совр. пробл.токсикол.* 2002.№3.С.24-31.

188. Unsal V, Cicek M, Sabancilar İ. Toxicity of carbon tetrachloride, free radicals and role of antioxidants. *Rev Environ Health*. 2020;36(2):279-295. Published 2020 Sep 25. doi:10.1515/reveh-2020-0048.

189. Gebicki JM. Oxidative stress, free radicals and protein peroxides. *Arch Biochem Biophys*. 2016;595:33-39. doi:10.1016/j.abb.2015.10.021.

190. Sahlmann CO, Ströbel P. Pathophysiologie der Entzündung [Pathophysiology of inflammation]. *Nuklearmedizin*. 2016;55(1):1-6.

191. Mouliou DS. C-Reactive Protein: Pathophysiology, Diagnosis, False Test Results and a Novel Diagnostic Algorithm for Clinicians. *Diseases*. 2023;11(4):132. Published 2023 Sep 28. doi:10.3390/diseases11040132.

192. Пепонен [Електронний ресурс]: Нормативно-директивні документи МОЗ України/ - Режим доступу: <https://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=719> (дата звернення: 12.01.2024). Назва з екрану.

193. Šamec D, Loizzo MR, Gortzi O, et al. The potential of pumpkin seed oil as a functional food-A comprehensive review of chemical composition, health benefits, and safety. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2022;21(5):4422-4446. doi:10.1111/1541-4337.13013.

194. Wang F, Yuan Q, Chen F, et al. Fundamental Mechanisms of the Cell Death Caused by Nitrosative Stress. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:742483.

Published 2021 Sep 20. doi:10.3389/fcell.2021.742483.

195. Liu Y, Chen XG, Liang CZ. [Related immunologic mechanisms of chronic prostatitis: Advances in studies]. *Zhonghua Nan Ke Xue*. 2017 Jul;23(7):652-655. Chinese. PMID: 29723461.

196. Верховна Рада України [Електронний ресурс]. Закон України. Про лікарські засоби № 3345-IX від 23.08.2023. Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/2469-20#Text> (дата звернення: 24.01.2024). Назва з екрану.

197. МОЗ України [Електронний ресурс]. Наказ МОЗ України №944 від 14.12.2009 р. «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів». Режим доступу: [https://zakononline.com.ua/documents/show/312736\\_\\_312801](https://zakononline.com.ua/documents/show/312736__312801) (дата звернення: 24.01.2024). Назва з екрану.

198. Компендіум. Настанова «Лікарські засоби. Належна лабораторна практика. СТ-Н МОЗУ 42-6.0:2008» Видання офіційне. Київ. МОЗ України. 2012. [Електронний ресурс]: – Режим доступу: <https://compendium.com.ua/uk/clinical-guidelines-uk/standartizatsiya-farmatsevtichnoyi-produktsiyi-tom-2/st-n-mozu-42-6-0-2008/> (дата звернення: 24.01.2024). Назва з екрану.

199. Sailaja KV, Shivaranjani VL, Poornima H, Rahamathulla SB, Devi KL. Protective effect of *Tribulus terrestris* L. fruit aqueous extract on lipid profile and oxidative stress in isoproterenol induced myocardial necrosis in male albino Wistar rats. *EXCLI J*. 2013 May 6;12:373-83. PMID: 26417233; PMCID: PMC4566909.

200. Povydysh MN, Titova MV, Ivkin DY, Krasnova MV, Vasilevskaya ER, Fedulova LV, Ivanov IM, Klushin AG, Popova EV, Nosov AM. The Hypoglycemic and Hypocholesterolemic Activity of *Dioscorea deltoidea*, *Tribulus terrestris* and *Panax japonicus* Cell Culture Biomass in Rats with High-Fat Diet-Induced Obesity. *Nutrients*. 2023 Jan 28;15(3):656. doi: 10.3390/nu15030656. PMID: 36771371; PMCID: PMC9918901.

201. Jiang YH, Yang CH, Li W, Wu S, Meng XQ, Li DN. Aqueous extracts of *Tribulus terrestris* protects against oxidized low-density lipoprotein-induced endothelial dysfunction. *Chin J Integr Med*. 2016 Mar;22(3):193-200. doi: 10.1007/s11655-015-2321-0. Epub 2015 Nov 20. PMID: 26589608.

202. Lee HH, Ahn EK, Hong SS, Oh JS. Anti-inflammatory effect of tribulusamide D isolated from *Tribulus terrestris* in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 macrophages. *Mol Med Rep*. 2017 Oct;16(4):4421-4428. doi: 10.3892/mmr.2017.7208. Epub 2017 Aug 10. PMID: 28849109; PMCID: PMC5647001.

203. Al-Khayri JM, Sahana GR, Nagella P, Joseph BV, Alessa FM, Al-Mssallem MQ. Flavonoids as Potential Anti-Inflammatory Molecules: A Review. *Molecules*. 2022 May 2;27(9):2901. doi: 10.3390/molecules27092901. PMID: 35566252; PMCID: PMC9100260.

204. Sotler R, Poljšak B, Dahmane R, Jukić T, Pavan Jukić D, Rotim C, Trebše P, Starc A. Prooxidant activities of antioxidants and their impact on health. *Acta Clin Croat*. 2019 Dec;58(4):726-736. doi: 10.20471/acc.2019.58.04.20. PMID: 32595258; PMCID: PMC7314298.

205. Poljšak B, Šuput D, Milisav I. Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxid Med Cell Longev*. 2013;2013:956792. doi: 10.1155/2013/956792. Epub 2013 Apr 29. PMID: 23738047; PMCID: PMC3657405.

206. Miroslav Šlouf, Danuše Michálková, Veronika Gajdošová, Jiří Dybal, Jan Pilař. Prooxidant activity of phenolic stabilizers in polyolefins during accelerated photooxidation. *Polymer Degradation and Stability*. 2019. Vol.166: 307-324. ISSN 0141-3910, <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2019.06.013>.

## ДОДАТОК А

### СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

*Статті у наукових фахових виданнях:*

1. Юнусова С. І., Рожковський Я.В., Приступа Б.В., Богату С.В. Простатопротекторна дія густого екстракту якірців сланких на моделі кріотравми передміхурової залози у щурів. *Фітотерапія. Часопис.*2022.№3.С.78-85. DOI: 10.33617/2522-9680-2022-3-78. (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

2. Юнусова С. І. Вивчення антиальтеративної, репаративної та антипроліферативної дії густого екстракту якірців сланких в експерименті. *Фітотерапія. Часопис.*2022.№4.С.97-103. DOI:10.33617/2522-9680-2022-4-97.

3. Юнусова С.І., Рожковський Я.В. Антиоксидантні властивості густого екстракту якірців сланких за умов *in vitro* та *in vivo*. *Фармакологія та лікарська токсикологія.* 2023.Т.17,№2.С.115-124. DOI: 10.33250/17.02.115. (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

4. Yunusova, S., Rozhkovskiy, Ya., Pristupa, B., Bohatu, S. (2023) Study of the anti-inflammatory properties of the thick extract of *Tribulus terrestris*. *Ceska Slov. Farm.* 2023 Fall; 72(4):184-189. English. <https://doi.org/10.5817/CSF2023-4-184>. PMID: 37805264. (**Scopus, Q3**). (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

5. Юнусова С.І., Рожковський Я.В. Протизапальна активність густого екстракту обмолоченої від плодів трави якірців сланких. *Сучасна клінічна фармакологія в фармакотерапії та профілактиці захворювань з позицій доказової медицини*: матеріали X Всеукр.наук.-практ. конф. за участю міжн. спеціалістів з клінічної фармакології, 7-8 листопада 2019 р, Вінниця, 2019 р. С.249-251. (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

6. Юнусова С.І., Рожковський Я.В. Протизапальна активність густого екстракту якірців сланких на моделі формалінового набряку у щурів. *Клінічні протоколи та персоналізована медицина: як знайти золоту середину*: матеріали XI Всеукр.наук.-практ. конф. за участю міжн. спеціалістів з клінічної фармакології, 12-13 листопада 2021 р, Вінниця, 2021 р. С.236-238. (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

7. Юнусова С.І. Дослідження протизапальної та знеболювальної активності густого екстракту якірців сланких в умовах експерименту. *Modern approach of experimental and preclinical pharmacology*: матеріали Міжнар. дист. науково-практ. конф, 08 лютого 2021 р, Харків, НФАУ, 2021. С.218.

8. Юнусова С.І. Вплив густого екстракту якірців сланких на фізіологічний стан ендотелію судин у щурів з хронічним скипидарним простатитом. *Запорізький фармацевтичний форум*: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, 23 - 24 листопада 2023 року, Запоріжжя, 2023. С.151.

9. Юнусова С.І., Рожковський Я.В. Імунотропні властивості густого екстракту якірців сланких в умовах експериментального хронічного простатиту. *Фармацевтична освіта, наука та практика: стан, проблеми, перспективи розвитку*: матеріали науково-практичної конференції з

міжнародною участю, присвяченої 25-річчю фармацевтичного факультету Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, 19-20 грудня 2023 року, Київ, 2023. С.48-50. (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

10. Юнусова Саидабону Ілхомжон кизи. Дослідження гострої і хронічної токсичності густого екстракту якірців сланких. *Ліки – людині: матеріали VII міжнародної науково-практичної конференції на базі кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації Національного фармацевтичного університету*, 21-22 березня 2024 р., Харків, 2024. С.306-308.

11. Юнусова С.І., Рожковський Я.В. Вплив густого екстракту якірців сланких на андрогенний статус та репродуктивну функцію самців щурів при експериментальному кріогенному простатиті. *Сучасна фармація: реалії сьогодення та перспективи розвитку: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю*, 9-12 квітня 2024 р., Одеса. С.165-168. (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

12. Юнусова С.І., Приступа Б.В., Богату С.І., Рожковський Я.В. Імунопротекторна дія густого екстракту *Tribulus terrestris L.* у щурів на моделі хронічного скипидарного простатиту. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження: матеріали VI Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції*, 12 квітня 2024 р., Харків, 2024. С.198-199. (Особистий внесок здобувача: експериментальні дослідження, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

## ДОДАТОК Б

### АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. X Всеукраїнська науково-практична конференція за участю міжнародних спеціалістів з клінічної фармакології *«Сучасна клінічна фармакологія в фармакотерапії та профілактиці захворювань з позицій доказової медицини»*, Вінниця, 7-8 листопада 2019 р.

2. Міжнародна дистанційна науково-практична конференція *«Modern approach of experimental and preclinical pharmacology»*, Харків, НФАУ, 08 лютого 2021 року.

3. XI Всеукраїнська науково-практична конференція за участю міжнародних спеціалістів з клінічної фармакології *«Клінічні протоколи та персоналізована медицина: як знайти золоту середину»*, Вінниця, 12-13 листопада 2021 року.

4. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю *«Запорізький фармацевтичний форум»*, Запоріжжя, 23 - 24 листопада 2023 року.

5. Науково-практична конференція з міжнародною участю *«Фармацевтична освіта, наука та практика: стан, проблеми, перспективи розвитку»*, присвячена 25-річчю фармацевтичного факультету Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, Київ, 19-20 грудня 2023 р.

6. VII міжнародна науково-практична конференція *«Ліки – людині»* на базі кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації Національного фармацевтичного університету, Харків, 21-22 березня 2024 р.

7. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю *«Сучасна фармація: реалії сьогодення та перспективи розвитку»*,



Одеса, 9-12 квітня 2024 року.

8. VI Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження,» Харків, 12 квітня 2024 р.

## ДОДАТОК В

## АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор ЗВО з науково-педагогічної  
та лікувальної роботи  
Вінницького національного медичного  
університету ім. М.І. Пирогова

проф. Василь ПОГОРІЛИЙ

2024 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- Назва пропозиції для впровадження:** результати фармакологічного дослідження густого екстракту якріців сланких.
- Установа, її адреса, виконавець:** Одеський національний медичний університет, 65082, м. Одеса, Валіховський провулок, 2; кафедра загальної і клінічної фармакології та фармакогнозії, Юнусова Саидабону Ілхомжон кизи.

**3. Джерела інформації:**

1. Юнусова С. І., Рожковський Я.В., Приступа Б.В., Богату С.В. Простаглінопротекторна дія густого екстракту якріців сланких на моделі кріотравми передміхурової залози у щурів. Фітотерапія. Часопис.2022.№3.С.78-85. DOI: 10.33617/2522-9680-2022-3-78.

2. Юнусова С. І. Вивчення антиальтеративної, репаративної та антипроліферативної дії густого екстракту якріців сланких в експерименті. Фітотерапія. Часопис.2022.№4.С.97-103. DOI:10.33617/2522-9680-2022-4-97.

3. Юнусова С.І., Рожковський Я.В. Антиоксидантні властивості густого екстракту якріців сланких за умов in vitro та in vivo. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2023.Т.17.№2.С.115-124. DOI: 10.33250/17.02.115

4. Yunusova, S., Rozhkovskiy, Ya., Pristupa, B., Bohatu, S. (2023) Study of the anti-inflammatory properties of the thick extract of Tribulus terrestris. Ceska Slov. Farm. 2023 Fall: 72(4):184-189. English. (Scopus) PMID: 37805264

4. **Впроваджено:** у наукову роботу та у навчальний процес фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова

5. **Термін впровадження:** 2023-2024 навчальний рік.

6. **Ефективність впровадження:** використання результатів досліджень показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, які наведено в джерелах інформації.

7. **Зауваження та пропозиції.** Не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, протокол 7 від 08.01. 2024 р.

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри фармакології  
Вінницького національного медичного університету  
ім. М. І. Пирогова  
д. мед. наук, професор



Наталія ВОЛОЦУК





**ЗАТВЕРДЖУЮ»**

Проректор з науково-педагогічної роботи  
Національного фармацевтичного університету

професор  Інна ВЛАДИМИРОВА

"15" січня 2024 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Назва пропозиції для впровадження:** результати фармакологічного дослідження густого екстракту якріців сланких.
2. **Установа, її адреса, виконавець:** Одеський національний медичний університет, 65082, м. Одеса, Валіховський провулок, 2; кафедра загальної і клінічної фармакології та фармакогнозії, Юнусова Саидабону Ілхомжон кизи.
3. **Джерела інформації:**
  1. Юнусова С. І., Рожковський Я.В., Приступа Б.В., Богату С.В. Простатопротекторна дія густого екстракту якріців сланких на моделі кріотравми передміхурової залози у шурів. Фітотерапія. Часопис.2022.№3.С.78-85. DOI: 10.33617/2522-9680-2022-3-78.
  2. Юнусова С. І. Вивчення антиальтеративної, репаративної та антипроліферативної дії густого екстракту якріців сланких в експерименті. Фітотерапія. Часопис.2022.№4.С.97-103. DOI:10.33617/2522-9680-2022-4-97.
  3. Юнусова С.І., Рожковський Я.В. Антиоксидантні властивості густого екстракту якріців сланких за умов in vitro та in vivo. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2023.Т.17,№2.С.115-124. DOI: 10.33250/17.02.115
  4. Yunusova, S., Rozhkovskiy, Ya., Pristupa, B., Bohatu, S. (2023) Study of the anti-inflammatory properties of the thick extract of Tribulus terrestris. Ceska Slov. Farm. 2023 Fall; 72(4):184-189. English. (Scopus) PMID: 37805264
4. **Де і коли впроваджено:** у науково-педагогічний процес кафедри фармакології та фармакотерапії Національного фармацевтичного університету з «8» січня 2024 р.
5. **Результат впровадження:** отримана інформація сприяє поглибленню знань про протизапальні, антиоксидантні та простатопротекторні властивості фітопрепаратів, зокрема густого екстракту якріців сланких. Вона сприятиме кращій підготовці здобувачів вищої освіти при вивченні розділів «Протизапальні засоби», «Простатопротекторні препарати».
6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології та фармакотерапії Національного фармацевтичного університету, протокол № 9 від «15» січня 2024 р.

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри фармакології та фармакотерапії  
Національного фармацевтичного університету  
д. мед. наук, професор

 Сергій ШТРИГОЛЬ



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи  
Львівського національного медичного  
університету імені Данила Галицького

проф. Вікторія СЕРГІЄНКО

"11" "02" 2024 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: результати фармакологічного дослідження густого екстракту якріців сланких.
2. Установа, її адреса, виконавець: Одеський національний медичний університет, 65082, м. Одеса, Валіховський провулок, 2; кафедра загальної і клінічної фармакології та фармакогнозії, Юнусова Саидабону Ілхомжон кизи.
3. Джерела інформації:
  1. Юнусова С. І., Рожковський Я.В., Приступа Б.В., Богату С.В. Простатопротекторна дія густого екстракту якріців сланких на моделі кріотравми передміхурової залози у щурів. Фітотерапія. Часопис.2022.№3.С.78-85. DOI: 10.33617/2522-9680-2022-3-78.
  2. Юнусова С. І. Вивчення антиальтеративної, репаративної та антипроліферативної дії густого екстракту якріців сланких в експерименті. Фітотерапія. Часопис.2022.№4.С.97-103. DOI:10.33617/2522-9680-2022-4-97.
  3. Юнусова С.І., Рожковський Я.В. Антиоксидантні властивості густого екстракту якріців сланких за умов in vitro та in vivo. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2023.Т.17,№2.С.115-124. DOI: 10.33250/17.02.115
  4. Yunusova, S., Rozhkovskiy, Ya., Pristupa, B., Bohatu, S. (2023) Study of the anti-inflammatory properties of the thick extract of Tribulus terrestris. Ceska Slov. Farm. 2023 Fall; 72(4):184-189. English. (Scopus) PMID: 37805264
4. Впроваджено: у наукову роботу та у навчальний процес кафедри фармакології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.
5. Термін впровадження: 2023-2024 навчальний рік.
6. Ефективність впровадження: використання результатів досліджень показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, які наведено в джерелах інформації.

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри фармакології

Львівського національного медичного університету

імені Данила Галицького

д. мед. наук, професор

Олег ПІНЯЖКО



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи  
Тернопільського національного медичного  
університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України

проф. Іван КЛІЩ  
" " " 2024 р

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- Назва пропозиції для впровадження:** результати фармакологічного дослідження густого екстракту ячірців сланких.
- Установа, її адреса, виконавець:** Одеський національний медичний університет, 65082, м. Одеса, Валіховський провулок. 2; кафедра загальної і клінічної фармакології та фармакогнозії, Юнусова Саидабону Ілхомжон кизи.
- Джерела інформації:**
  - Юнусова С. І., Рожковський Я.В., Приступа Б.В., Богату С.В. Простатопротекторна дія густого екстракту ячірців сланких на моделі кріотравми передміхурової залози у щурів. Фітотерапія. Часопис.2022.№3.С.78-85. DOI: 10.33617/2522-9680-2022-3-78.
  - Юнусова С. І. Вивчення антиальтеративної, репаративної та антипроліферативної дії густого екстракту ячірців сланких в експерименті. Фітотерапія. Часопис.2022.№4.С.97-103. DOI:10.33617/2522-9680-2022-4-97.
  - Юнусова С.І., Рожковський Я.В. Антиоксидантні властивості густого екстракту ячірців сланких за умов in vitro та in vivo. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2023.Т.17.№2.С.115-124. DOI: 10.33250/17.02.115
  - Yunusova, S., Rozhkovskiy, Ya., Pristupa, B., Bohatu, S. (2023) Study of the anti-inflammatory properties of the thick extract of Tribulus terrestris. Ceska Slov. Farm. 2023 Fall; 72(4):184-189. English. (Scopus) PMID: 37805264
- Впроваджено:** у наукову роботу та у навчальний процес кафедри фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України.
- Термін впровадження:** 2023-2024 навчальний рік.
- Ефективність впровадження:** використання результатів досліджень показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, які наведено в джерелах інформації.

#### Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармакології з клінічною фармакологією  
Тернопільського національного медичного  
університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України  
д.мед.н., професор

Олександра ОЛЕЩУК

0.0/ч



**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**

Перший проректор з науково-педагогічної роботи та післядипломної освіти  
Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, д. мед. н.,  
професор \_\_\_\_\_ О.М. Науменко

\_\_\_\_\_ 202\_\_ р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

результатів наукових досліджень в науково-педагогічний процес

**1. Назва пропозиції для впровадження:**

«Результати фармакологічного дослідження густого екстракту якірців сланких»

**2. Установа-розробник, автор:** Одеський національний медичний університет, кафедра загальної і клінічної фармакології та фармакогнозії. 65082, м. Одеса, Валіховський провулок, 2. Автор: Юнусова Саидабону Ілхомжон кизи

**3. Джерело інформації:**

1. Юнусова С. І., Рожковський Я.В., Приступа Б.В., Богату С.В. Простатопротекторна дія густого екстракту якірців сланких на моделі кріотравми передміхурової залози у щурів. Фітотерапія. Часопис.2022.№3.С.78-85. DOI: 10.33617/2522-9680-2022-3-78.

2. Юнусова С. І. Вивчення антиальтеративної, репаративної та антипроліферативної дії густого екстракту якірців сланких в експерименті. Фітотерапія. Часопис.2022.№4.С.97-103. DOI:10.33617/2522-9680-2022-4-97.

3. Юнусова С.І., Рожковський Я.В. Антиоксидантні властивості густого екстракту якірців сланких за умов in vitro та in vivo. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2023.Т.17,№2.С.115-124. DOI: 10.33250/17.02.115

4. Yunusova, S., Rozhkovskiy, Ya., Pristupa, B., Bohatu, S. (2023) Study of the anti-inflammatory properties of the thick extract of Tribulus terrestris. Ceska Slov. Farm. 2023 Fall; 72(4):184-189. English. (Scopus) PMID: 37805264

**4. Базова установа, яка проводить впровадження:** Кафедра фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця.

**5. Форма впровадження:** науково-педагогічний процес.

**6. Результат впровадження:** Комісія під головуванням завідувачки кафедри фармакології професора Зайченко Г.В. підтверджує, що надані дані щодо протизапальної, атиальтеративної, репаративної та простатопротекторної активності густого екстракту якірців сланких впроваджені в науковий та освітній процес кафедри, використовуються в лекційному курсі, на практичних заняттях зі студентами медичних, фармацевтичного і стоматологічного факультетів за темами «Фармакологія лікарських засобів, що впливають на сечостатеву систему», «Фармакологія простатопротекторів».

**7. Ефективність впровадження:** Результати наукових досліджень впроваджені в науково-методичну роботу кафедри фармакології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, які наведені у джерелах інформації.

**8. Термін впровадження:** 2023/2024 навчальний рік.

**9. Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри, протокол № 21, від 26 січня 2024 р.

**Відповідальний за впровадження:** професор Зайченко Г.В.

Завідувачка кафедри фармакології  
НМУ імені О.О. Богомольця  
д. мед. н., професор



Ганна ЗАЙЧЕНКО