

Ling-Quan Meng , Fei-Ya Yang , Ming-Shuai Wang ,
Ben-Kang Shi , De-Xi Chen, Dong Chen, Qiang Zhou,
Qing-Bao He, Lin-Xiang Ma, Wen-Long Cheng,
Nian-Zeng Xing

Краткий обзор статьи:

QUERCETIN PROTECTS AGAINST CHRONIC PROSTATITIS IN RAT MODEL THROUGH NF- κ B AND MAPK SIGNALING PATHWAYS

Введение

Хронический простатит/синдром хронической тазовой боли представляет собой одно из наиболее распространённых и трудно поддающихся лечению урологических заболеваний. Несмотря на широкое применение антибактериальной терапии, α -адреноблокаторов, гормональных и противовоспалительных препаратов, а также фитотерапии, терапевтическая эффективность остаётся ограниченной. В этом контексте внимание исследователей всё больше привлекают природные соединения с доказанной противовоспалительной и антиоксидантной активностью.

Флавоноид **кверцетин**, содержащийся в красном вине, луке, чае и ряде фруктов, уже показал перспективные результаты в клинических и экспериментальных моделях воспалительных заболеваний. Ранее Shoskes и соавт. (1999) выявили положительное влияние кверцетина на симптомы ХП/СХТБ в двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании. Однако механизм его действия в контексте простатита до публикации рассматриваемой работы оставался недостаточно изученным.

Meng и коллеги предложили новую *in vivo* модель ХП/СХТБ, индуцированную внутривоспалительным введением полного адьюванта Фрейнда (CFA) у крыс. Основная цель исследования заключалась в оценке терапевтической эффективности кверцетина и выяснении его механизма действия через сигнальные пути NF- κ B и MAPK.

Модель ХП/СХТБ

У крыс линии Sprague Dawley хронический простатит вызывался интравоспалительным введением CFA. Данный метод воспроизводит хроническое воспаление и болевой синдром, что делает модель максимально приближённой к клинической картине ХП/СХТБ.

Животные были разделены случайным образом на пять групп:

1. **Контроль** (n=6) – интактные крысы;
2. **Модель** (n=6) – крысы с ХП/СХТБ, получавшие носитель Гидроксипропил- β -циклодекстрин (HP- β -CD);
3. **Группа с низкой дозой кверцетина** (n=9) – крысы с ХП/СХТБ, получавшие (HP- β -CD) и Кверцетин 50 мг/кг;
4. **Группа со средней дозой кверцетина** (n=9) – крысы с ХП/СХТБ, получавшие (HP- β -CD) и Кверцетин 100 мг/кг;
5. **Группа с высокой дозой кверцетина** (n=9) – крысы с ХП/СХТБ, получавшие (HP- β -CD) и Кверцетин 200 мг/кг.

Кверцетин и носитель вводили через пероральный зонд в течение 4 недель.

Методы исследования

- **Морфологический анализ:** окраска гематоксилин-эозином (HE) и иммуногистохимия (IHC).
- **Биохимия:** определение уровня про- и противовоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-17A, MCP1, TNF α).
- **Окислительный стресс:** активность антиоксидантных ферментов (T-SOD, CAT, GSH-PX), уровень малонового диальдегида (MDA).
- **Молекулярные механизмы:** вестерн-блоттинг для белков NF- κ B, p38 MAPK, ERK1/2, SAPK/JNK.

1. Влияние кверцетина на индекс простаты у крыс (Рисунок 1)

Индекс предстательной железы является очевидным показателем воспаления предстательной железы. Вес предстательной железы увеличивается по мере прогрессирования воспаления. Как показано на рисунке 1, наблюдалась значительная разница между нормальной группой и модельной группой, уровень которой был значительно выше ($P < 0,001$). После лечения индекс предстательной железы в каждой группе, получавшей кверцетин, значительно снизился по сравнению с контрольной группой ($P < 0,05$).

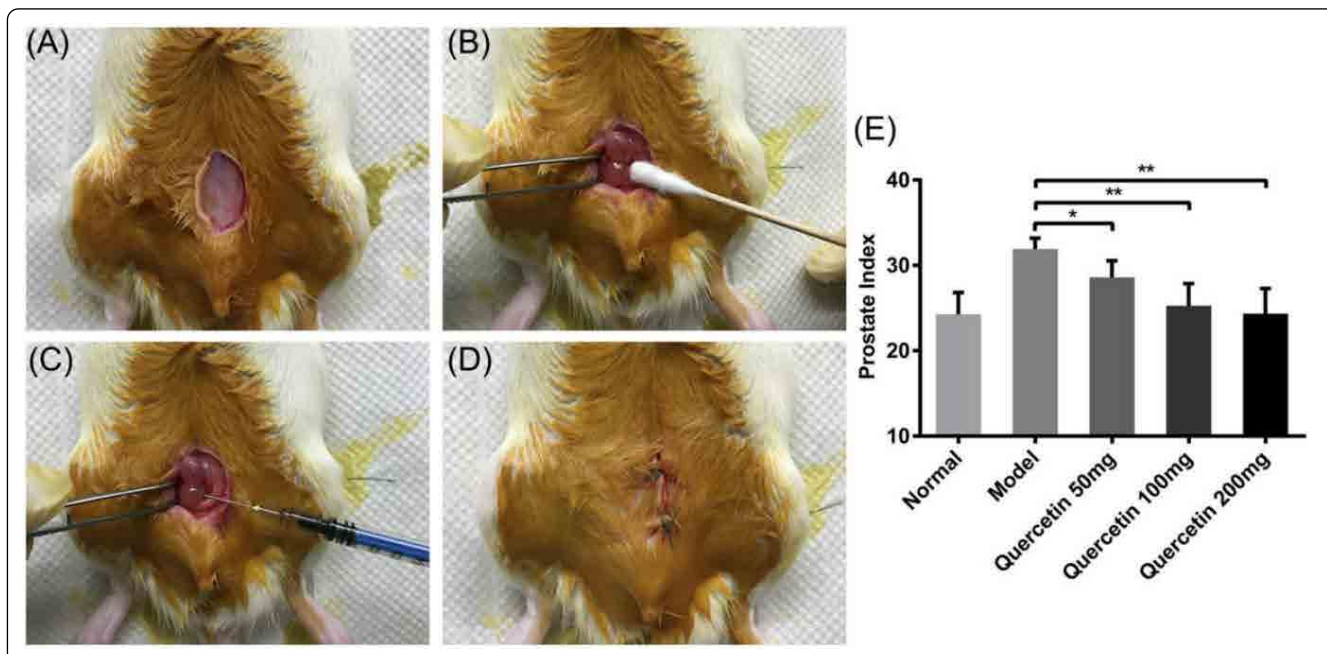


Рисунок 1. Краткая процедура моделирования (ХП/СХТБ) у крыс и влияние кверцетина на индекс предстательной железы. (А). Крыса под наркозом была стерилизована йодоформом в нижней части живота и сделан продольный срединный разрез длиной около 1 см. (В). Обе вентральные доли простаты под мочевым пузырем были хорошо обнажены. (С). 100 мкл CFA было аккуратно введено в простату с помощью шприца 1 смЗ. (D). Брюшная полость была послойно закрыта рассасывающимся швом. (Е). В группе с моделью наблюдалось повышение индекса простаты, в то время как кверцетин может значительно снижать индекс простаты. Данные представлены как среднее значение \pm SD. *P < 0,05, **P < 0,01.

2. Влияние кверцетина на окрашивание предстательной железы гематоксилином и эозином (Рисунок 2)

Гистологические снимки демонстрируют:

- **Контроль** – нормальная структура ацинусов, отсутствие воспалительной инфильтрации;
- **Модель** – выраженные отёк, инфильтрация лимфоцитов, деформация ацинусов;
- **Кверцетин** – прогрессивное уменьшение воспалительных изменений и количества клеток в строме.
- **На гистограмме воспалительного балла видно снижение выраженности воспаления во всех группах с кверцетином (p < 0.05).**

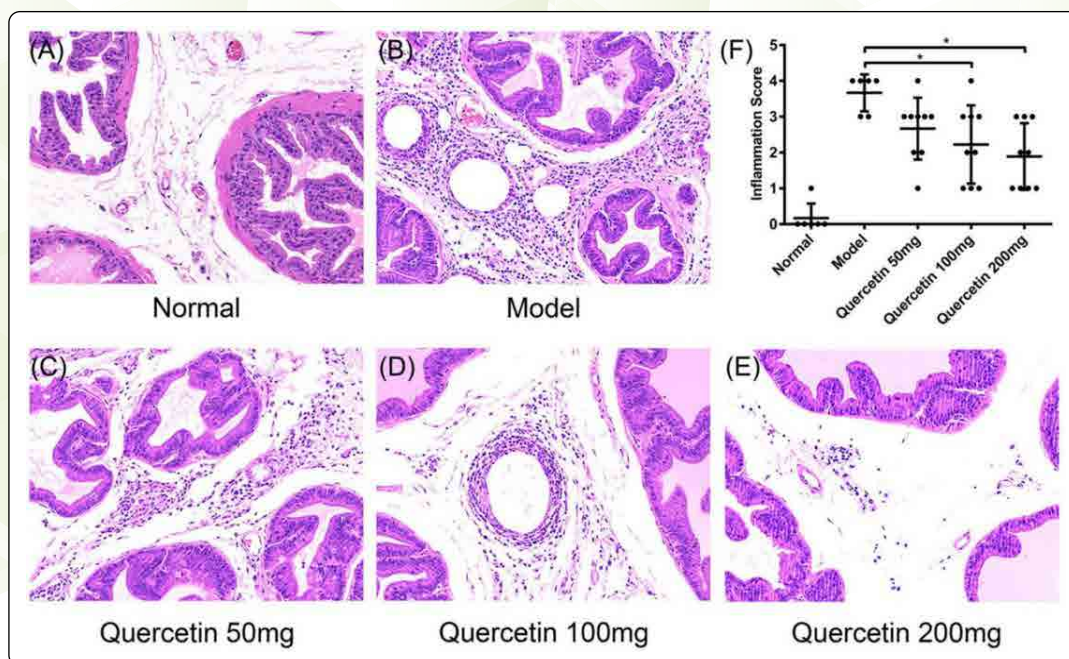


Рисунок 2. Кверцетин снижает повреждение предстательной железы у крыс, вызванное CFA. (А) Нормальная группа показала правильную форму железы, инфильтрирующие воспалительные клетки практически не наблюдались. (В) Модельная группа имела разную степень инфильтрации воспалительных клеток в мезенхиме. Кроме того, наблюдались воспалительные вакуоли, неправильная ацинарная форма и отёк. (С-Е) В группах, получавших кверцетин, наблюдалось снижение количества инфильтрирующих лимфоцитов и воспалительных вакуолей в зависимости от дозы. (F) Анализировался показатель воспаления для каждой предстательной железы. Увеличение $\times 200$. *P < 0,05.

3. Влияние кверцетина на иммуногистохимическое окрашивание предстательной железы CD3 и CD19 (Рисунок 3,4)

Для предварительного определения типов инфильтрирующих лимфоцитов проводили иммуногистохимическое окрашивание на CD3 и CD19, которые являются биомаркерами общего количества Т- и В-клеток соответственно. Как показано на рисунках 3 и 4, Т-клетки CD3+ составляют большую часть инфильтрирующих воспалительных клеток в модели ХП/СХТБ у крыс. После лечения кверцетином количество как Т-клеток CD3+, так и В-клеток CD19+ значительно снизилось по сравнению с контрольной группой.

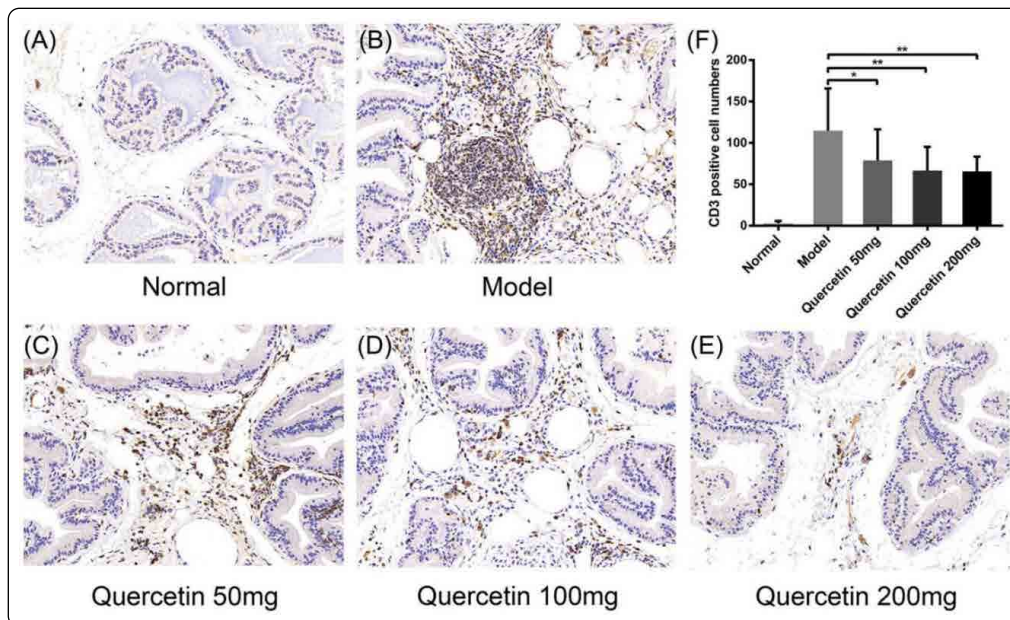


Рисунок 3. Кверцетин снизил инфильтрацию CD3+ Т-клеток в предстательную железу. (А) Практически полное отсутствие CD3+-клеток в группе здоровых людей. (В) Большое количество CD3+-клеток инфильтрировано в предстательную железу крыс с ХП/СХТБ, вызванной CFA, при этом CD3+ клетки составляли значительную часть инфильтрирующих клеток. (С-Е) Кверцетин снизил количество инфильтрирующих CD3+ лимфоцитов в зависимости от дозы. (F) Обзор количества CD3+ клеток в пяти группах. Увеличение x200. Данные представлены как среднее значение \pm SD. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$.

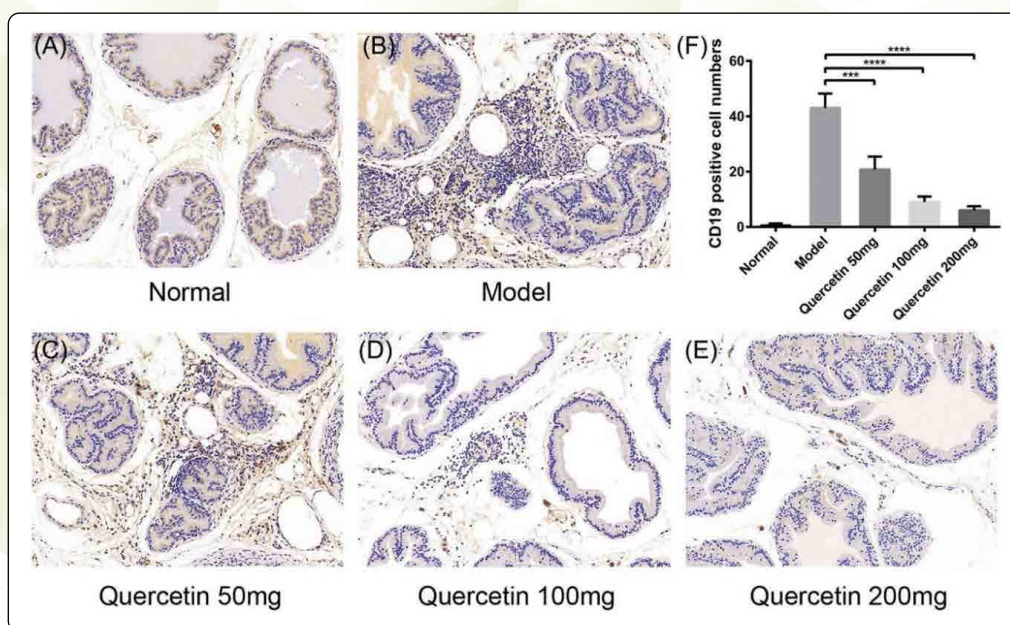


Рисунок 4. Кверцетин снизил инфильтрацию CD19+ В-клеток в предстательную железу. (А) В группе здоровых пациентов практически не наблюдалось клеток CD19+. (В) Увеличено количество инфильтрированных клеток CD19+ в группе модели, при этом клетки CD19+ составляют относительно небольшую долю инфильтрирующих клеток. (С-Е) Кверцетин дозозависимо снижал количество инфильтрирующих CD19+ лимфоцитов. (F) Обзор количества CD19+ клеток в пяти группах. Увеличение x 200. Данные представлены как среднее значение \pm SD. *** $P < 0,001$, **** $P < 0,0001$.

4. Влияние кверцетина на факторы воспаления тканей (ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-17А, МСР1 и ФНО α) (Рисунок 5)

Графики демонстрируют значительное повышение ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-17А, МСР1 и TNF α в модельной группе ХП/СХТБ по сравнению с нормальной группой ($P < 0,05$). Применение кверцетина в дозах 50 мг/кг, 100 мг/кг и 200 мг/кг снижало уровни этих специфических воспалительных цитокинов примерно дозозависимым образом.

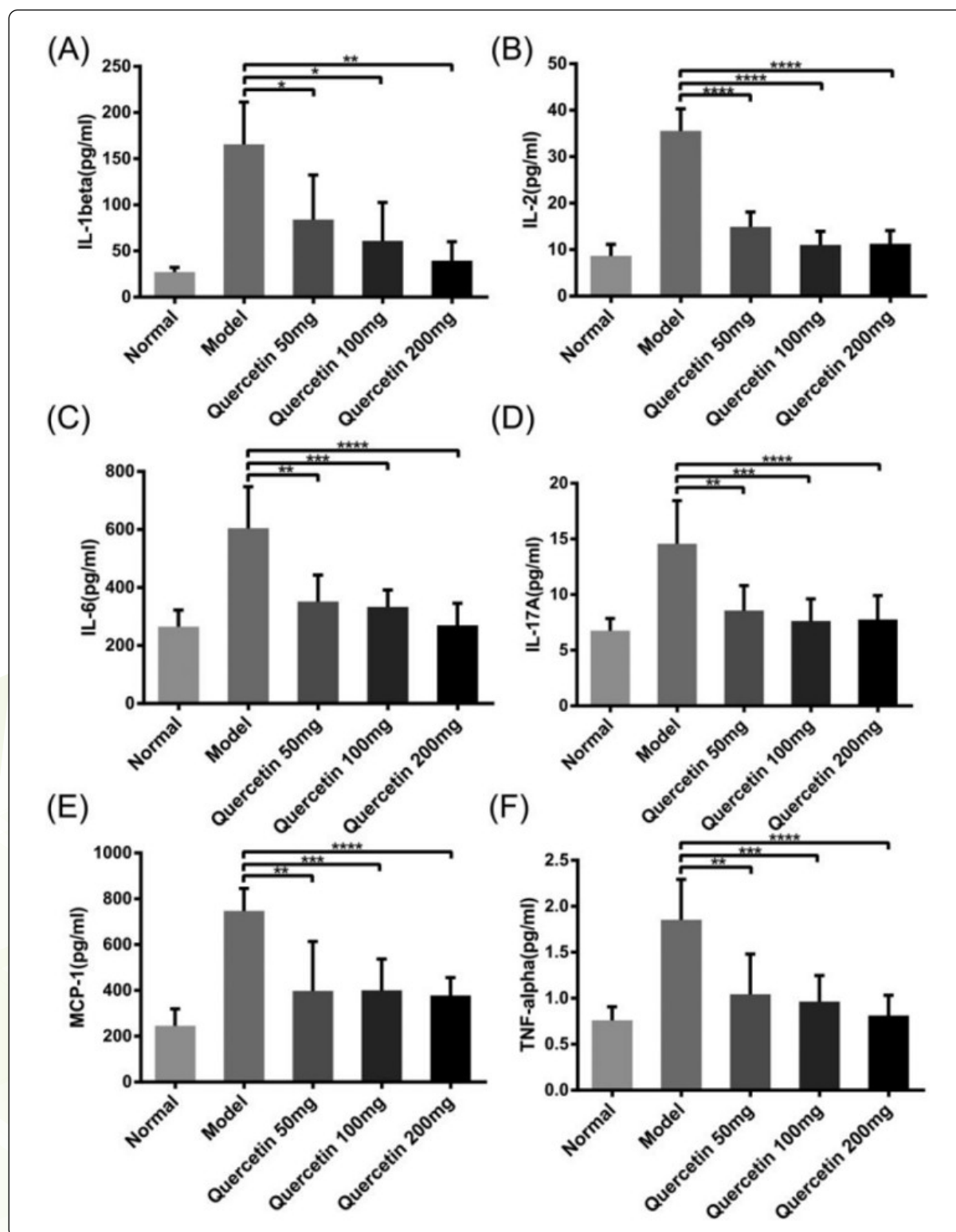


Рисунок 5. Кверцетин проявил противовоспалительную активность, снижая уровень провоспалительных цитокинов в ткани предстательной железы. (A-F) Кверцетин снижал уровень провоспалительных цитокинов в тканях, включая ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-17А, МСР1 и ФНО α . Данные представлены как среднее значение \pm СД. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, **** $P < 0,0001$.

5. Оксидативный стресс и антиоксидантные ферменты (Рисунок 6)

- **MDA** – маркер перекисного окисления липидов – резко повышен в модели. Кверцетин снижал его уровень в ткани и сыворотке.
- **T-SOD, CAT, GSH-PX** – снижены в модели, но значительно повышены при терапии кверцетином.

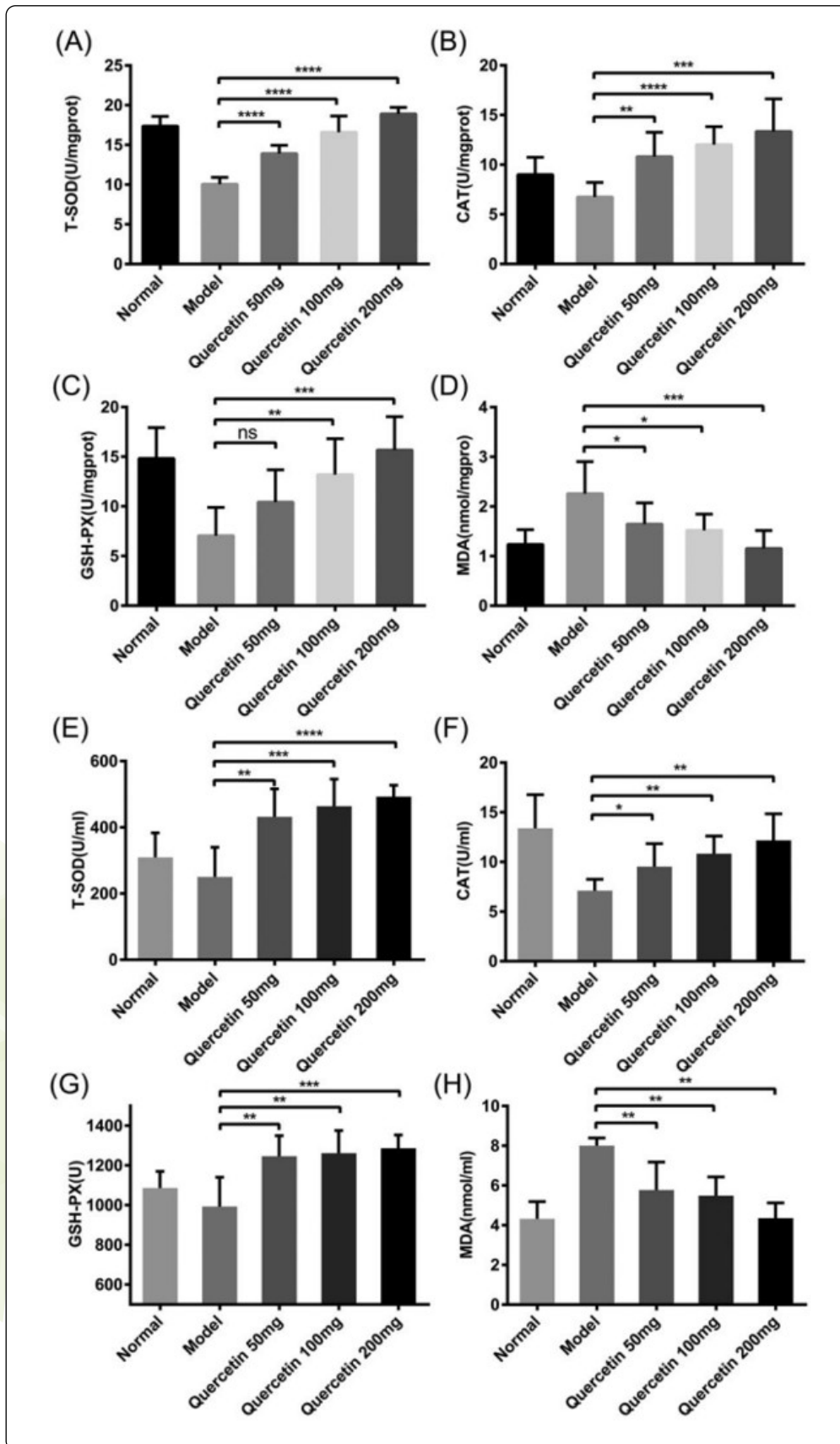


Рисунок 6. Кверцетин усилил антиоксидантную активность у крыс ХП/ХТБ за счет повышения уровня антиоксидантных ферментов и снижения продуктов перекисного окисления липидов. (А-С) Кверцетин, повысил уровни T-SOD, CAT и GSH-PX в ткани предстательной железы. (D) Кверцетин снизил уровни MDA в ткани предстательной железы. (Е-Г) Кверцетин повышал уровни T-SOD, CAT и GSH-PX в сыворотке крови. (H) Кверцетин снижал уровни MDA в сыворотке крови. Данные представлены как среднее значение + SD. *P < 0,05, ** P < 0,01, *** P < 0,001, **** P < 0,0001.

6. Активация сигнальных путей NF-κB и MAPK (Рисунок 7)

Чтобы исследовать механизм действия кверцетина при (ХП/СХТБ), методом вестерн-блоттинга были выявлены два классических сигнальных пути. Как хорошо известно, как ROS, так и цитокины могут активировать сигнальные пути NF-κB и MAPK, а эти два сигнальных пути, в свою очередь, могут регулировать экспрессию различных воспалительных факторов. В модели крыс с ХП/СХТБ, индуцированной CFA, была обнаружена повышенная экспрессия фосфо-P65, фосфо-P38, фосфо-SAPK/JNK и фосфо-ERK1/2. После обработки кверцетином фосфорилирование P65, P38, SAPK/JNK и ERK1/2 было значительно подавлено.

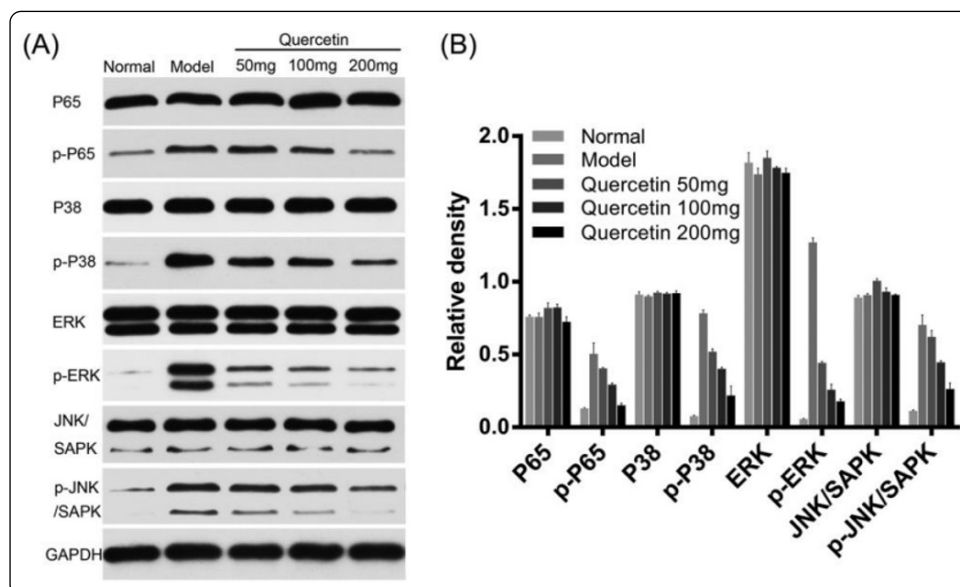


Рисунок 7. Кверцетин подавляет сигнальные пути NF-κB и MAPK. (A) Кверцетин в различных концентрациях подавляет активацию P65, P38, ERK1/2 и JNK/SAPK, что было выявлено с помощью вестерн-блоттинга. (B) Анализ относительной плотности каждой полосы в сравнении с соответствующей полосой GAPDH.

7. Схематическая модель механизма (Рисунок 8)

На схеме показано, что CFA вызывает активацию NF-κB и MAPK сигнальных каскадов, стимулируя воспаление и оксидативный стресс. Кверцетин (Q, Q') ингибирует фосфорилирование ключевых белков, блокируя экспрессию цитокинов. Схема визуализирует механизм действия соединения.

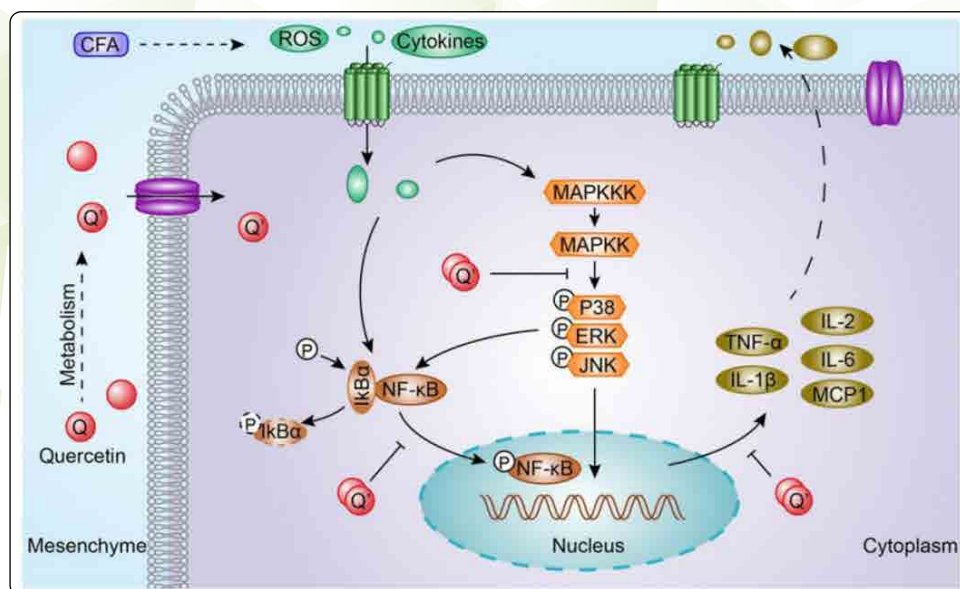


Рисунок 8. Схематическая диаграмма, демонстрирующая защитную сигнальную функцию кверцетина при ХП/СХТБ, вызванной CFA. Как показано, кверцетин ингибирует каскады воспалительных сигналов, инициированные CFA. Q — сокращение от кверцетина; Q' — сокращение от метаболитов кверцетина, конкретный состав которых до сих пор неясен. P — сокращение от фосфорилирования. -> обозначает активацию или индукцию, |- ингибирование или блокаду.

Обсуждение

Результаты исследования демонстрируют, что кверцетин оказывает **многоуровневую защиту** от воспалительного повреждения простаты:

1. **Противовоспалительное действие** – снижение инфильтрации Т- и В-лимфоцитов, подавление продукции IL-1 β , IL-6, TNF α и других цитокинов.
2. **Антиоксидантное действие** – восстановление активности ферментов антиоксидантной защиты, снижение перекисного окисления липидов.
3. **Регуляция сигнальных путей** – ингибирование ключевых транскрипционных факторов (NF- κ B) и каскадов MAPK.

Заключение

Работа Meng и соавт. вносит значительный вклад в понимание механизмов действия кверцетина при хроническом простатите. Впервые продемонстрировано, что препарат:

- уменьшает воспалительные изменения в простате,
- снижает уровень ключевых провоспалительных цитокинов,
- повышает антиоксидантную защиту,
- блокирует активацию NF- κ B и MAPK сигнальных путей.

Эти данные создают прочную экспериментальную основу для дальнейших клинических исследований кверцетина как средства терапии ХП/СХТБ.

С полным содержанием статьи можно ознакомиться: Meng LQ, Yang FY, Wang MS, et al. Quercetin protects against chronic prostatitis in rat model through NF- κ B and MAPK signaling pathways. *Prostate*. 2018;78(11):790-800. doi:10.1002/pros.23536
