

## مطالعه آسیب‌شناسی بافتی تأثیر پنتوکسی فیلین بر پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی تجربی القاء شده با

### کاراجینان در موش صحرائی

محبوبه حاجی‌قربانی<sup>۱</sup>، محمود احمدی‌همدانی<sup>۲\*</sup>، الهه شهاب<sup>۳</sup>، سحر غفاری‌خلیق<sup>۴</sup>، خاطره کفشدوزان<sup>۵</sup>، فرزاد حیاتی<sup>۶</sup>،

اشکان جبلی‌جوان<sup>۷</sup>

### چکیده

تعیین معیارهای آسیب‌شناسی بافتی پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی، در شناخت بهتر پاتوفیزیولوژی و یافتن راهکارهای درمانی این بیماری بسیار مؤثر است. بدلیل پتانسیل ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی پنتوکسی فیلین علاقه به آن از سرگرفته شده است. هدف از انجام این مطالعه بررسی شاخص‌های آسیب‌شناسی بافتی پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی در موش صحرائی و بررسی اثر بخشی پنتوکسی فیلین بر این شاخص‌ها بود. ۳۰ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار بطور تصادفی به پنج گروه برابر شامل گروه‌های کنترل منفی، کنترل پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی، استاندارد و درمانی تقسیم شدند. گروه کنترل منفی ۱ میلی لیتر نرمال سالین را بصورت خوراکی روزانه برای ۲۱ روز دریافت کردند. پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی از طریق تزریق داخل پروستاتی ۱/۱ کاراجینان (۱۰۰µg) در گروه‌های کنترل پروستاتیت مزمن، استاندارد و درمانی القا گردید. هفت روز پس از القاء پروستاتیت، گروه‌های کنترل پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی، استاندارد و درمانی برای مدت ۲۱ روز بصورت خوراکی از طریق گاواژ به ترتیب ۱ میلی لیتر نرمال سالین، سرینتون ۱۰۰mg/kg و پنتوکسی فیلین با دوز ۵۰ mg/kg و ۱۰۰ mg/kg دریافت کردند. نتایج نشان داد شاخص پروستاتیت در گروه کنترل پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی نسبت به کنترل منفی افزایش و در گروه‌های استاندارد و درمانی (مخصوصاً دز ۵۰ mg/kg پنتوکسی فیلین) در مقایسه با گروه کنترل پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی کاهش معنی‌داری یافته بود ( $p < 0/01$ ). مطالعات آسیب‌شناسی بافتی بهبود قابل توجهی را در ساختار بافت‌شناسی پروستات در گروه‌های استاندارد و درمان شده با پنتوکسی فیلین مخصوصاً دز ۵۰mg/kg در مقایسه با گروه کنترل پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی نشان دادند.

**واژگان کلیدی:** پروستاتیت مزمن غیر باکتریایی، شاخص‌های آسیب‌شناسی بافتی، پنتوکسی فیلین، موش صحرائی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۲/۳۰

### مقدمه

پروستاتیت از مشکلات مهم بهداشت و درمان در سراسر جهان

محسوب می‌شود، زیرا شایع‌ترین تشخیص اورولوژی در مردان کمتر از ۵۰ سال و سومین تشخیص رایج اورولوژی در مردان بیش از ۵۰ سال سن را شامل می‌شود (۸). نوع سوم پروستاتیت از نظر طبقه بندی سازمان بهداشت جهانی که به عنوان سندرم درد مزمن لگنی نیز شناخته می‌شود (۹)، شایع‌ترین و گیج‌کننده ترین فرم پروستاتیت از نظر بالینی محسوب می‌شود (۹۰٪ همه موارد) (۱۴). پروستاتیت مزمن یا سندرم درد مزمن لگنی از طریق درد ناحیه تناسلی یا لگن، علائم ادراری تحریکی، اختلال عملکرد جنسی و صدمات شدید به لحاظ کیفیت زندگی، متمایز می‌شود (۱). اتیولوژی و پاتوژنز پروستاتیت مزمن یا سندرم درد مزمن لگنی بطور ناچیز شناخته شده است و توسعه برنامه‌های مدیریتی برای این شرایط مشکل شده است (۱۳). به غیر از عفونت‌ها، سایر عوامل همگی به عنوان عوامل زمینه‌ای محرک پروستاتیت مزمن یا سندرم درد مزمن لگنی تلقی شده‌اند، از جمله عوامل ایمنونولوژی، ریفلاکس داخل پروستاتی، عوامل عصبی، انقباض مداوم یا مکرر عضله صاف در استرومای پروستات و گردن مثانه یا مجرای خروج ادرار، عوامل روانی، افزایش فشار داخل پروستاتی و عدم تعادل هورمونی (۳). مدل‌های حیوانی پروستاتیت مزمن یا سندرم درد مزمن لگنی انسان در توضیح مکانیسم‌های اتیوپاتوژنیک زمینه‌ساز آن بسیار مفید هستند که می‌تواند ما را برای یافتن درمان‌های مؤثر و منطقی‌تر برای این بیماران کمک کند (۶).

۱- دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

۲\* استادیار گروه علوم درمانگاهی، بخش کلیتیکال پاتولوژی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران (ahmadi.hamedani@semnan.ac.ir)

۳- استادیار گروه زنان، بخش جراحی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

۴- دانش‌آموخته دکتری تخصصی پاتولوژی دامپزشکی از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

۵- استادیار گروه پاتوبیولوژی، بخش میکروب‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

۶- دانش‌آموخته دکتری تخصصی جراحی دامپزشکی از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

۷- دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، بخش صنایع غذایی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

در این مطالعه، ابتدا مدل تجربی پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی در موش صحرایی که بعنوان مدلی معتبر برای پروستاتیت مزمن انسانی شناخته شده است (۱۹)، ایجاد شد و سپس شاخص‌های آسیب‌شناسی بافتی مدل تجربی پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی مشخص گردید و سرانجام جهت بررسی اثربخشی پنتوکسی - فیلین (بعنوان یک ترکیب ضد التهاب و آنتی اکسیدان) بر این شاخص‌ها، این مطالعه درمانی برای اولین بار به انجام رسید.

## مواد و روش کار

### ۱- حیوانات مورد آزمایش

۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (۲۲۰-۲۰۰ گرمی) برای انجام این مطالعه انتخاب شد. موش‌های صحرایی در قفس‌های فلزی در گروه‌های ۵ تایی در آزمایشگاه حیوانات خانگی دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان با دسترسی آزاد به رژیم غذایی استاندارد (پلت استاندارد) و آب و سیکل نوردهی ۱۲ ساعت و درجه حرارت  $20 \pm 2$  درجه سانتیگراد مستقر شدند. حیوانات مورد آزمایش یک هفته قبل از شروع انجام آزمایش با محیط سازگار شده بودند. کمیته حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، مطالعه حاضر را مورد تأیید قرار داد که مطابق با استانداردهای اخلاقی کمیته مسئول بر حیوانات آزمایشگاهی انجام شده بود.

### ۲- طراحی آزمایش

یک هفته پس از عادت یافتن و خو گرفتن حیوانات به محیط جدید، بطور تصادفی به پنج گروه برابر (تعداد ۶ سر موش صحرایی در هر گروه) شامل گروه کنترل منفی، گروه کنترل پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی، گروه استاندارد و گروه‌های درمانی تقسیم شدند. به ۲۴ سر موش صحرایی در گروه‌های کنترل پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی، استاندارد و درمانی از طریق تزریق داخل پروستاتی ۱٪ کاراجینان (۱۰۰µl) پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی القا گردید و یک هفته پس از

تا به امروز روش‌های مختلفی برای ایجاد مدل‌های حیوانی پروستاتیت مزمن بوجود آمده است، نظیر پروستاتیت با واسطه ایمنی، پروستاتیت با واسطه هورمونی، پروستاتیت عفونی، پروستاتیت با واسطه عوامل شیمیایی، پروستاتیت با واسطه تغذیه‌ای و پروستاتیت متفرقه با واسطه استرس (۱۴). کاراجینان (۸) موکوپلی ساکاریدی است که از دیواره سلولی جلبک قرمز مشتق شده است. این پلی ساکارید پلیمر خطی آنیونی است که از ۳ و ۱ آلفا، ۴ و ۱ بتا گالاکتان تشکیل شده و در هر واحد دی ساکاریدی دارای سه سولفات می‌باشد. مدل ادم القاشده با کاراجینان (۸) به‌طور گسترده برای بررسی پروسه‌های التهابی و همچنین غربال عوامل ضدالتهابی استفاده می‌گردد. پاسخهای التهابی القا شده با کاراجینان (۸) دو فاز دارد. فاز اول در ۲ تا ۳ ساعت اولیه رخ می‌دهد و فاز دوم، ۳ ساعت پس از فاز اول حادث می‌گردد. در طول فاز اول، نوتروفیل‌ها، سلول‌های غالب بوده و واسطه‌های این فاز، هیستامین و سروتونین می‌باشند. در طول فاز دوم، سلول‌های ماکروفاژ، لنفوسیت و ائوزینوفیل‌ها به فراوانی دیده می‌شوند. البته گزارش‌هایی مبنی بر حضور نیتریک-اکساید به عنوان مدیاتور کلیدی در ادم القا شده با کاراجینان وجود دارد (۲).

پنتوکسی فیلین (مهارکننده غیراختصاصی فسفودی استراز)، در ابتدا در درمان بیماری‌های عروق محیطی مدنظر قرار گرفت. پنتوکسی فیلین اثرات فارماکولوژی متعددی را از خود بروز می‌دهد از جمله بهبود گردش خون در عروق کوچک، افزایش تغییر شکل گلبول‌های قرمز، کاهش ویسکوزیته خون، توقف تجمع پلاکتی، تقویت سیستم ایمنی، خاصیت ضد التهابی و ضد تکثیری. پنتوکسی فیلین سیتوکین‌های پیش التهابی مختلفی را مهار می‌کند از جمله فاکتور نکروز کننده تومور آلفا و ایترلوکین ۱ و ۶. پنتوکسی فیلین علاقه قابل توجهی را به عنوان پاک کننده گونه‌های فعال اکسیژن نیز بدست آورده است و مطالعات مختلفی پتانسیل اثرات آنتی اکسیدانی آن را نشان داده‌اند (۱۶).

صحرایی تراشیده شد و پوست این ناحیه سه بار با پویدین - یداین ۱۰٪ استریل گردید. برش کوچکی از ناحیه خط وسط شکم در منطقه استریل شده ایجاد گردید، سپس مئانه و پروستات با احتیاط نمایان شدند. به هردو لوب شکمی راست و چپ پروستات کاراجینان ۱٪ به میزان ۱۰۰ میکرولیتر تزریق گردید (۱۹). برای جلوگیری از عفونت پس از جراحی، برای مدت ۲ روز انروفلوکساسین به موش ها بصورت داخل عضلانی تزریق شد.

#### ۴- ارزیابی وزن پروستات

پس از آخرین روز آزمایش، موش های صحرایی برای ۱۲ ساعت ناشتا نگهداشته شده (روز ۲۹م) و وزن کشی شدند. سپس موش ها با کلروفرم آسان کشی شدند. لوب های شکمی راست و چپ غده پروستات از بدن آنها خارج گردید. بافت پروستات بلافاصله پس از خارج شدن وزن گردید. برای اطمینان از اینکه در موش های صحرایی القا پروستاتیت غربا کتریایی مزمن با کاراجینان بصورت موفقیت آمیزی صورت گرفته است، شاخص پروستاتیت (Prostatitis Index) از طریق تقسیم وزن پروستات برحسب میلی گرم به وزن بدن هر موش صحرایی برحسب کیلوگرم محاسبه شد. همچنین درصد مهار شاخص پروستاتیت (الف)، درصد افزایش وزن پروستات (ب) و درصد بهبود پروستاتیت (ج) در گروه های استاندارد و درمانی از طریق روابط زیر محاسبه شد (۵).

القاء، موشها روزانه برای ۲۱ روز بصورت خوراکی با سالین نرمال، سرنیلتون ۱۰۰mg/kg، پنتوکسی فیلین با دو دز ۵۰ و ۱۰۰ mg/kg درمان شدند. ۶ سر موش صحرایی در گروه کنترل تنها ۱ میلی لیتر سالین نرمال روزانه برای ۲۱ روز بصورت خوراکی دریافت کردند. سرنیلتون (معروف به قرص پروستات) مشتق از گیاه چاودار، یکی از رایج ترین ترکیباتی است که برای درمان بیماری های پروستات شامل تورم خوش خیم پروستات و پروستاتیت مزمن غربا کتریایی مورد استفاده قرار می گیرد (۷). در این مطالعه از این دارو بعنوان داروی استاندارد در گروه سوم که مبتلا به پروستاتیت مزمن غربا کتریایی بودند جهت مقایسه با گروه های درمانی (گروه های پنتوکسی فیلین) استفاده گردید. در پایان روز بیست و نهم، موش ها آسان کشی و بافت پروستات برای محاسبه وزن پروستات، شاخص پروستاتیت، درصد مهار شاخص پروستاتیت، درصد افزایش وزن پروستات، درصد بهبود پروستاتیت و مطالعه آسیب شناسی بافتی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

#### ۳- القاء پروستاتیت در موش های صحرایی

جهت القاء پروستاتیت، موش های صحرایی با کتامین و زایلازین (آلفاسان، هلند) (هر کدام ۲۵mg/kg داخل صفاقی) بیهوش شدند. بصورت طاق باز (supine) قرار داده شدند و سپس قسمت پائینی شکم بالای اندام تناسلی موش های

$$\text{الف - درصد مهار شاخص پروستاتیت} = 100 - \left[ \frac{\text{شاخص پروستاتیت گروه استاندارد یا درمانی - شاخص پروستاتیت گروه کنترل منفی}}{\text{شاخص پروستاتیت گروه کنترل پروستاتیت مزمن غربا کتریایی - شاخص پروستاتیت گروه کنترل منفی}} \right] \times 100$$

$$\text{ب - درصد افزایش وزن پروستات} = 100 - \frac{\text{وزن پروستات گروه استاندارد یا درمانی - وزن پروستات گروه کنترل منفی}}{\text{وزن پروستات گروه کنترل پروستاتیت مزمن غربا کتریایی - وزن پروستات گروه کنترل منفی}} \times 100$$

ج - درصد بهبود پروستاتیت = درصد افزایش وزن پروستات در گروه کنترل پروستاتیت مزمن غربا کتریایی (۱۰۰٪) - درصد افزایش وزن پروستات در گروه استاندارد یا درمانی

غوطه ور و پایدار شدند. سپس نمونه های بافتی با اتانول آبگیری و توسط زایلین شفاف گردیده و در پارافین قالب گیری شدند. قطعات کوچکی به قطر ۴ میکرومتر از هردو لوب

#### ۵- آزمایش آسیب شناسی بافتی

هردو لوب شکمی راست و چپ غده پروستات به سرعت در فرمالین بافر ۱۰٪ برای حداقل ۱۸ ساعت در درجه حرارت اتاق

مقایسه نتایج از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و آزمون تعقیبی (Post Hoc) توکی (Tukey) استفاده و مقادیر  $p < 0/05$  بعنوان اختلاف معنی دار تلقی شد.

### نتایج

۱- بررسی تغییرات وزن بدن، وزن پروستات و شاخص پروستاتیت در گروه‌های مورد آزمایش  
نتایج حاصل از تجویز خوراکی پنتوکسی‌فیلین به مدت سه هفته بر وزن بدن، وزن پروستات و اندیس پروستاتیت موش‌های صحرایی مبتلا به پروستاتیت مزمن غیر باکتریایی گروه‌های پنج‌گانه در جدول (۱) نشان داده شده است.

بصورت پی‌درپی برش داده شد و مقاطع با هماتوکسیلین - ائوزین برای ارزیابی معمول آسیب‌شناسی بافتی، رنگ‌آمیزی شدند. بطور تصادفی ۴ میدان مختلف از هر اسلاید با بزرگنمایی ( $\times 100$ ) میکروسکوپ نوری (Nikon-E200) مورد ارزیابی قرار گرفت. اگر نفوذ لکوسیته، افزایش ارتفاع اپی تلیال مجرای غده پروستات به صورت رشد پایلاری و کاهش حجم مجرا در برش‌های میکروسکوپی مشاهده می‌گردید، به عنوان پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی در نظر گرفته می‌شد (۱۶).

### تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۹ انجام شد. مقادیر به صورت میانگین  $\pm$  انحراف از معیار (Mean  $\pm$  SD) بیان گردید. در صورت نرمال بودن داده‌ها، برای

جدول ۱- تاثیر درمان با پنتوکسی‌فیلین بر وزن بدن، وزن پروستات، اندیس پروستاتیت موش‌های صحرایی در گروه‌های مورد آزمایش

گروه‌ها	وزن پروستات (میلی گرم)	وزن بدن (گرم)	شاخص پروستاتیت	درصد مهار شاخص پروستاتیت	درصد افزایش وزن پروستات	درصد بهبود پروستاتیت
کنترل منفی (تیمار با سالین نرمال)	۴۰۰ $\pm$ ۳۴/۵	۲۴۱/۴۰ $\pm$ ۹/۴۸	۱/۶۵ $\pm$ ۰/۰۹	-	-	-
کنترل پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی (تیمار با سالین نرمال)	۷۳۶ $\pm$ ۶۶/۷ <sup>a</sup>	۳۰۱/۴۰ $\pm$ ۹/۳۲ <sup>a</sup>	۲/۴۳ $\pm$ ۰/۱۶ <sup>a</sup>	-	۱۰۰	-
استاندارد (سرنیلتون ۱۰۰ mg/kg)	۴۲۴ $\pm$ ۴۵/۳۲ <sup>b</sup>	۲۳۴/۴۰ $\pm$ ۱۵/۶۰ <sup>b</sup>	۱/۸۶ $\pm$ ۰/۱۸ <sup>c</sup>	۷۳/۰۷	۷/۱۴	۹۲/۸۶
درمانی (پنتوکسی‌فیلین ۵۰ mg/kg)	۴۱۲ $\pm$ ۳۸/۳۹ <sup>b</sup>	۲۴۸/۲۰ $\pm$ ۶/۲۲ <sup>b</sup>	۱/۶۶ $\pm$ ۰/۱۴ <sup>b</sup>	۹۸/۷۱	۳/۵۷	۹۶/۴۳
درمانی (پنتوکسی‌فیلین ۱۰۰ mg/kg)	۴۵۴ $\pm$ ۲۹/۹۳ <sup>b</sup>	۲۴۰/۲۰ $\pm$ ۷/۵۱ <sup>b</sup>	۱/۸۹ $\pm$ ۰/۰۹ <sup>c</sup>	۶۹/۲۳	۱۶/۰۷	۸۳/۹۳

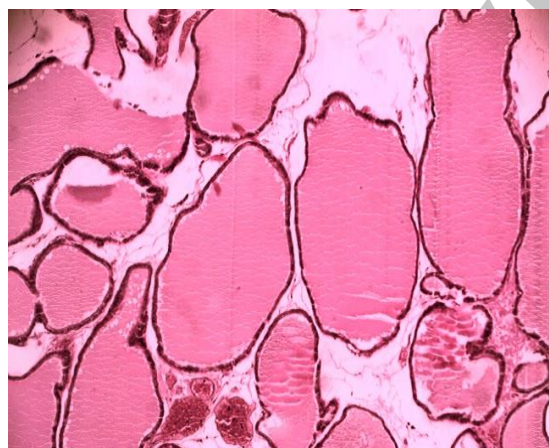
a:  $p < 0/01$  در مقایسه با گروه کنترل منفی، b:  $p < 0/01$  و c:  $p < 0/05$  در مقایسه با گروه کنترل مثبت.

فیلین به‌ویژه با دوز ۵۰ mg/kg و سرنیلتون به میزان ۱۰۰ mg/kg وزن بدن موش‌های صحرایی به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی کاهش یافت

وزن بدن موش‌های صحرایی در گروه کنترل پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل منفی افزایش یافت ( $p < 0/01$ )، درحالی‌که پس از درمان با پنتوکسی-

ساختار اپی‌تلیوم غده‌ای پروستات در گروه کنترل یکنواخت و واضح بود (نگاره ۱). بافت پروستات کاملاً فشرده بود، اپی‌تلیوم مکعبی و از نظر اندازه منظم بود. قطر توبول‌ها متغیر بودند و لومن‌های نامنظم داشتند. بافت همبند، عروق خونی، عروق لنفاوی و ماتریکس نرمال بودند.

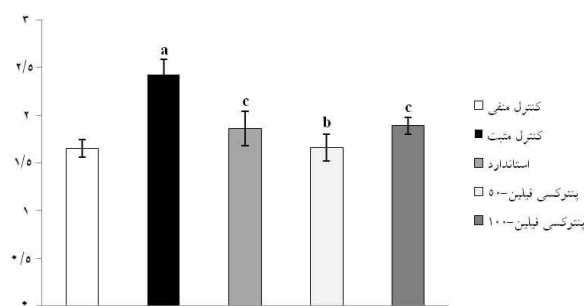
در ساختار بافتی پروستات گروه کنترل پروستاتیت مزمن که در آنها با کاراجینان پروستاتیت تجربی القاء شده بود، بی‌نظمی وجود داشت (نگاره ۲). لوله‌ها در مقایسه با کنترل منفی پهن‌تر شده بودند. رشد پاپیلاری داخل لومن‌ها باعث کاهش حجم داخل لوله‌ها شده بود. شکل لوله‌ها نیز به شدت بهم ریخته شده بود. افزایش بافت همبند آسینی‌ها و افزایش اندازه آنها بطور مشخص قابل رویت بود. تزیاید استروما و هیپرپلازی غده به‌همراه تزیاید اپی‌تلیال و رشد پاپیلاری مشاهده شد. نفوذ سلول‌های التهابی به دلیل تزییق آنتی‌بیوتیک (انروفلوکساسین) در نمونه‌های آسیب‌شناسی بافتی خیلی کم مشاهده گردید.



نگاره ۱- نمای ریزبینی از بافت پروستات یک موش صحرایی نر نژاد ویستار از گروه کنترل منفی (سالم)؛ ویژگی‌های بافت‌شناسی طبیعی غده پروستات کاملاً مشهود است و جراحی خاصی در آن مشاهده نمی‌شود (H&E، ۱۰۰x).

( $p < 0.05$ ). درمان با سرنیلتون و پنتوکسی‌فیلین باعث شد که وزن بدن موش‌های صحرایی تقریباً مشابه گروه کنترل گردد. القا پروستاتیت مزمن غرباكتريایی به‌طور مشخص باعث افزایش وزن پروستات در گروه پروستاتیت مزمن غرباكتريایی نسبت به گروه کنترل منفی گردید ( $p < 0.01$ ) و درمان با پنتوکسی‌فیلین همانند سرنیلتون منجر به کاهش معنی‌دار وزن پروستات در مقایسه با گروه پروستاتیت مزمن غرباكتريایی شد ( $p < 0.01$ ). در موش‌های صحرایی گروه کنترل پروستاتیت مزمن غرباكتريایی افزایش معنی‌داری در اندیس پروستاتیت در مقایسه با گروه کنترل منفی مشاهده گردید ( $p < 0.01$ ). تجویز پنتوکسی‌فیلین به‌ویژه با دوز  $50 \text{ mg/kg}$  و سرنیلتون به میزان  $100 \text{ mg/kg}$  بطور محسوسی اندیس پروستاتیت را به ترتیب در گروه درمان و استاندارد کاهش داد ( $p < 0.05$ ) (نمودار ۱). درصد بالای مهار شاخص پروستاتیت به ترتیب از طریق درمان با پنتوکسی‌فیلین  $50 \text{ mg/kg}$  ( $98.71\%$ )، سرنیلتون  $100 \text{ mg/kg}$  ( $73.07\%$ ) و پنتوکسی‌فیلین  $100 \text{ mg/kg}$  ( $69.23\%$ ) حاصل شد. افزایش وزن پروستات در گروه کنترل پروستاتیت مزمن غرباكتريایی،  $100$  درصد در نظر گرفته شد و بدین ترتیب درصد بهبود پروستاتیت برای پنتوکسی‌فیلین  $50 \text{ mg/kg}$ ، پنتوکسی‌فیلین  $100 \text{ mg/kg}$  و سرنیلتون  $100 \text{ mg/kg}$  به ترتیب  $92.86\%$ ،  $83.93\%$  و  $96.43\%$  درصد محاسبه شد (جدول ۱).

شاخص پروستاتیت

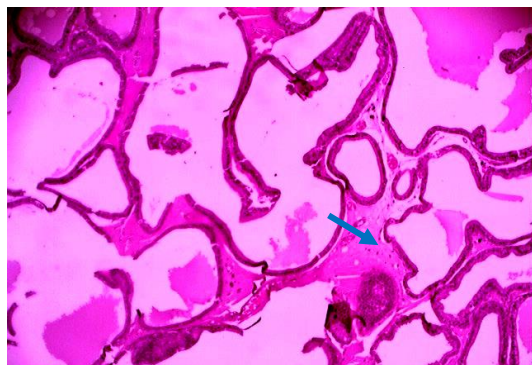


نمودار ۱- تأثیر درمان پنتوکسی‌فیلین بر اندیس پروستاتیت در موش‌های صحرایی مبتلا به پروستاتیت مزمن غرباكتريایی.

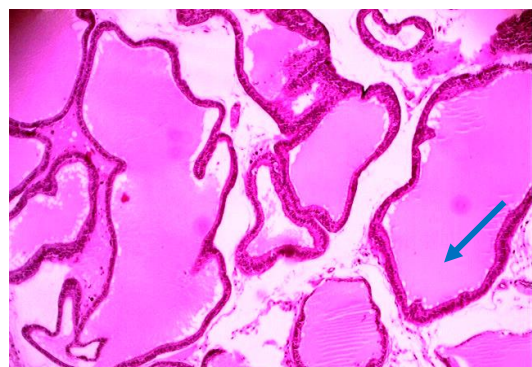
a:  $p < 0.01$  در مقایسه با گروه کنترل منفی، b:  $p < 0.01$  و c:  $p < 0.05$  در

مقایسه با گروه کنترل مثبت

## ۲- تحلیل آسیب‌شناسی بافتی بافت پروستات



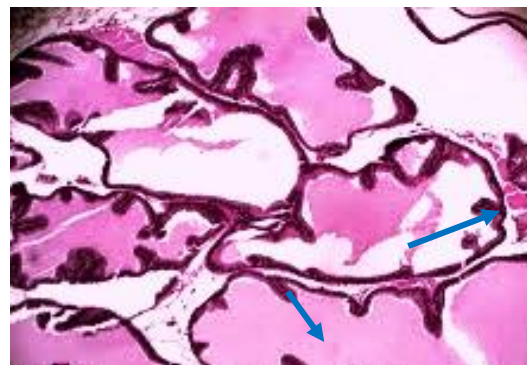
نگاره ۴- نمای ریزیینی از بافت پروستات یک موش صحرائی نر نژاد ویستار از گروه درمانی (القاء پروستاتیت با کاراجینان و درمان با پنتوکسی فیلین  $50\text{ mg/kg}$ )؛ ساختمان بافت‌شناسی بافت پروستات در مقایسه با گروه کنترل مثبت بهبود پیدا کرده است. لومن‌ها طبیعی بوده (پیکان) و رشد پاپیلاری مشاهده نگردید ( $\text{H\&E}$ ،  $100\times$ ).



نگاره ۵- نمای ریزیینی از بافت پروستات یک موش صحرائی نر نژاد ویستار از گروه درمانی (القاء پروستاتیت با کاراجینان و درمان با پنتوکسی فیلین  $100\text{ mg/kg}$ )؛ ساختمان بافت‌شناسی بافت پروستات در مقایسه با گروه کنترل مثبت بهبود پیدا کرده است. لومن‌ها طبیعی بوده و در بعضی مناطق اپی‌تلیوم توپول‌ها کمی ضخیم‌تر (پیکان) از گروه کنترل منفی مشاهده می‌گردد ( $\text{H\&E}$ ،  $100\times$ ).

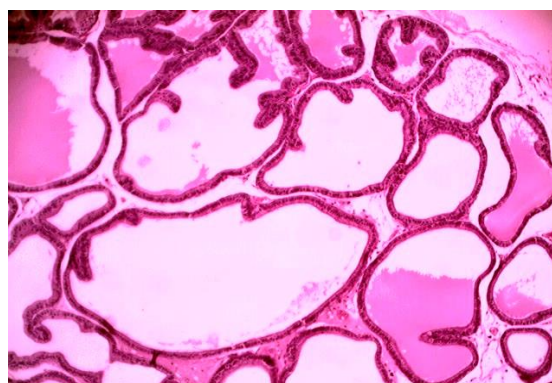
### بحث

در این مطالعه مدل پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی از طریق تزریق داخل پروستات ماده محرک التهاب آور کاراجینان، در موش‌های صحرائی ایجاد گردید. از مزایای این روش این است که انجام آن نسبتاً ساده می‌باشد و سویه‌های حساس موش صحرائی به راحتی در دسترس هستند و از نظر القاء درد و التهاب کاملاً مشابه شکل بالینی پروستاتیت مزمن



نگاره ۲- نمای ریزیینی از بافت پروستات یک موش صحرائی نر نژاد ویستار از گروه کنترل مثبت (القاء پروستاتیت با کاراجینان بدون درمان)؛ در ساختار بافت‌شناسی بافت پروستات بی‌نظمی کاملاً مشهود است. توپول‌ها پهن‌تر شده‌اند. حجم لومن هر لوله کاهش یافته است و هیپرپلازی غده به‌همراه تزیاید اپی‌تلیال و رشدهای پاپیلاری (پیکان) مشاهده می‌شود ( $\text{H\&E}$ ،  $100\times$ ).

در گروه‌های استاندارد و درمانی بخصوص گروه درمان شده با پنتوکسی فیلین  $50\text{ mg/kg}$  ظاهر استروما طبیعی بود. رشد پاپیلاری مشاهده نگردید. بافت همبند بطور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته بود و در بعضی مناطق شبیه کنترل منفی بنظر می‌رسید. لومن توپول‌ها طبیعی بودند و در بعضی مناطق اپی‌تلیوم کمی ضخیم‌تر از گروه کنترل منفی بود. ساختمان بافت‌شناسی بافت پروستات در مقایسه با گروه کنترل مثبت بهبود پیدا کرده بود (نگاره ۳، ۴ و ۵).



نگاره ۳- نمای ریزیینی از بافت پروستات یک موش صحرائی نر نژاد ویستار از گروه استاندارد (القاء پروستاتیت با کاراجینان و درمان با سرنیلتون  $100\text{ mg/kg}$ )؛ ساختمان بافت‌شناسی بافت پروستات در مقایسه با گروه کنترل مثبت بهبود پیدا کرده است ( $\text{H\&E}$ ،  $100\times$ ).

آنیون رادیکال سوپراکسید (یکی از مهمترین رادیکال‌های آزاد) به‌طور عمده بوسیله سوپراکسید دیسموتاز به پراکسید هیدروژن متابولیزه می‌شود. سپس پراکسید هیدروژن تولید شده توسط کاتالاز یا گلوکاتیون پراکسیداز به اکسیژن مولکولی غیر سمی تبدیل می‌شود. وقتی تعادل بین گونه‌های فعال اکسیژن و آنتی‌اکسیدان‌های پروستات بهم بخورد، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پروستات (نظیر سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتیون پراکسیداز) به‌صورت مشخصی کاهش می‌یابد (۲۰). سیتوکین‌های بسیاری با فعالیت‌های بیولوژی گسترده در محیط پروستات ترشح می‌شوند (۱۷). این سیتوکین‌های التهابی (شامل لنفوکین‌هایی نظیر اینترلوکین ۶، اینترلوکین ۱۰ و اینترفرون گاما و مونوکین‌هایی نظیر فاکتور نکروزکننده تومور آلفا، فاکتور رشد شبیه فیبروبلاست) مولکول‌های پیام‌رسان محلول هستند و به‌عنوان واسطه‌هایی جهت پاسخ‌های ایمنی و التهابی عمل می‌کنند (۷). مشاهده شده است که میزان فاکتور نکروزکننده تومور آلفا و اینترفرون گاما می‌تواند بصورت معنی‌داری در شرایط مزمن التهابی پروستاتیت افزایش یابد (۱۰). اینترلوکین ۶ جزء کلیدی جهت رشد استرومای پروستات است و در بیماران مبتلا به پروستات به میزان زیادی ترشح می‌شود (۱۲). بعلاوه، افزایش میزان اینترلوکین ۶ از طریق تولید اینترفرون گاما تحریک می‌شود و به نوبه خود لنفوسیت‌های T را جذب و یک چرخه معیوب آغاز خواهد شد (۴). پنتوکسی‌فیلین به‌عنوان یک مشتق متیل‌گراتین، بدلیل مهار غیر اختصاصی فسفودی‌استراز به‌عنوان گشادکننده عروق عمل می‌کند و منجر به تقویت تولید نوکلئوتیدهای حلقوی نظیر آدنوزین مونوفسفات حلقوی و گوانوزین مونوفسفات حلقوی می‌شود. پنتوکسی‌فیلین به‌عنوان دارویی با اثرات بازدارنده تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد سمی (۷)، مهار‌گرانتین اکسیداز (آنزیمی که در تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن بکار می‌رود) (۱۷) و مهارکننده قوی سیتوکین‌ها به‌خصوص فاکتور نکروزکننده تومور آلفا که جزء کلیدی در تحریک تولید گونه‌های فعال

غیرباکتریایی در انسان می‌باشد (۱۹). در طول پاسخ التهابی القاء شده توسط کاراجینان (۸)، در ابتدا لکوسیت‌ها و ماست سلها برای تولید رادیکال‌های آزاد و واسطه‌های مختلفی مانند کموکین‌ها و سیتوکین‌ها به خدمت گرفته می‌شوند که آنها نیز سلول‌های التهابی بیشتری را برای تولید رادیکال‌های آزاد فرا می‌خوانند و حمله رادیکال‌های آزاد به غشاء پلاسمایی سلول‌ها منجر به تشکیل مالون دی‌آلدئید (Malondialdehyde) می‌شود. بعلاوه ممکن است رادیکال‌های آزاد التهاب را از طریق فعالسازی بیان ژن‌هایی نظیر فاکتور رونوشت هسته‌ای (Nuclear factor- $\kappa$ B) (کمپلکس پروتئینی است که رونوشت برداری از DNA هسته، تولید سیتوکین و بقاء سلول را کنترل می‌کند) شروع و یا تقویت کند. فعال شدن فاکتور رونوشت هسته‌ای پاسخ التهابی تقویتی خود را از طریق تنظیم بیش از حد تولید سیتوکین‌های پیش‌التهابی مثل فاکتور نکروزکننده تومور آلفا، ایجاد می‌سازد (۱۸). تزریق داخل پروستاتی کاراجینان (۸) می‌تواند ارتشاح سلول‌های التهابی را القاء سازد و بیان ژن آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ (COX2) را در پروستات موش‌های صحرایی افزایش دهد. آنزیم سیکلواکسیژناز آنزیم کلیدی سنتز پروستاگلندین است که در دو ایزوform مشاهده شده است: سیکلواکسیژناز ۱ و ۲ (۱۵). فرآیندهای التهابی باعث افزایش تنظیم سیکلواکسیژناز ۲ می‌شوند. سپس پروستاگلندین‌های مشتق از سیکلواکسیژناز ۲ به‌ویژه پروستاگلندین E2 تولید می‌شود که فاکتورپاتوژنیک اولیه‌ی علائمی نظیر درد، تب و تورم (سه ویژگی کلاسیک التهاب) می‌باشد. پاتوژن اختصاصی پروستاتیت هنوز نامشخص است (۱۷). با این وجود، تعدادی از مطالعات نشان دادند که افزایش استرس اکسیداتیو در داخل بدن و به تبع آن آسیب اکسیداتیو پروستات ارتباط نزدیکی با پروستاتیت مزمن دارند (۲۰). گرانولوسیت‌ها در مایع پروستات سطح بالایی از گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species) را تولید می‌کنند (۱۱). در شرایط طبیعی، تولید و حذف گونه‌های فعال اکسیژن در یک تعادل پویا قرار دارد.

بدن نیز ارتباط دارد. بنابراین، اندیس پروستاتیت بطور مستقیم با وزن پروستات ارتباط دارد.

بررسی آسیب شناسی بافتی بافت پروستات موش‌های صحرائی که پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی در آنها توسط کاراجینان القاء شده بود هیپرپلازی غده به‌همراه پرولیفراسیون اپی‌تلیال، افزایش قطر توپولها به‌همراه کاهش حجم لومن توپولها و بهم ریختگی شکل توپولها را نشان داد. این یافته با نتایج سایر محققین کاملاً مطابقت دارد (۱۹ و ۱۸، ۷). همه‌ی تغییرات ایجاد شده توسط کاراجینان پس از تجویز خوراکی سرنیلتون و پنتوکسی فیلین، مخصوصاً دز ۵۰ mg/kg پنتوکسی فیلین به مدت ۲۱ روز بهبود پیدا کرد. این یافته‌ها شواهد بیشتری را در تأیید اثربخشی پنتوکسی فیلین در بهبود پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی در موش صحرائی، فراهم نمود.

برای نخستین بار نتایج مطالعه حاضر نشان داد که پنتوکسی فیلین می‌تواند بطور شگفت‌انگیزی تخریب آسیب شناسی بافتی بافت پروستات القاء شده توسط کاراجینان را کاهش دهد. مطالعات بالینی گسترده تری جهت اعتبار بخشی نتایج حاصل از این مطالعه قبل از تصمیم‌گیری در مورد اینکه آیا پنتوکسی فیلین به اندازه کافی در انسان‌های مبتلا به پروستاتیت مزمن یا سندرم درد مزمن لگنی کاربردی هستند، نیاز است.

#### فهرست منابع

1. Amirkabirian, N., Teimouri, F., Esmaily, H., Mohammadirad, A., Aliahmadi, A., Abdollahi, M. (2007): Protection by pentoxifylline of diazinon-induced toxic stress in rat liver and muscle. *Toxicol. Mech. Methods*. 17(4): 215-221.
2. Barua, C.C., Pal, S.K., Roy, J.D., Buragohain, B., Talukdar, A., Barua, A.G. (2011): Studies on the anti-inflammatory properties of *Plantago erosa* leaf extract in rodents. *J. Ethnopharmacol*. 134(1): 6-62.

اکسیژن از میتوکندری است (۹-۸)، شناخته شده است. بدلیل اثر مهار فاکتور نکروز کننده تومور آلفا، شواهد روز افزونی نشان داده اند که پنتوکسی فیلین اثرات سودمند گسترده‌ای بر تعدیل پیشرفت اختلالات مربوط به استرس اکسیداتیو نظیر دیابت (۸)، کولیت (۹)، واریکوسل (۱۰) و پانکراتیت حاد، دارد. در این مطالعه برای نخستین بار درمان پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی القاء شده با کاراجینان در موش‌های صحرائی با پنتوکسی فیلین برای ۲۱ روز به‌صورت معنی‌دار توسعه هیپرپلازی مزمن پروستات را متوقف ساخت که از طریق پائین آوردن افزایش وزن پروستات و اندیس پروستاتیت و از طریق بررسی آسیب‌شناسی بافتی به اثبات رسید.

تجویز خوراکی پنتوکسی فیلین به میزان ۵۰ و ۱۰۰ mg/kg به مدت ۳۰ روز بصورت معنی‌داری افزایش وزن پروستات را به ترتیب به اندازه ۹۶/۴۳ و ۸۳/۹۳ درصد، متوقف ساخت، درحالی‌که درصد مهار اندیس پروستاتیت به ترتیب به اندازه ۹۸/۷۱ و ۶۹/۲۳ درصد در موش‌های صحرائی مبتلا به پروستاتیت مزمن، افزایش یافت. تأثیر حاصل از دز ۵۰ mg/kg پنتوکسی فیلین قابل مقایسه و حتی بهتر از نتایج بدست آمده با سرنیلتون (داروی استاندارد درمان پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی) بود (۱۸). چون پنتوکسی فیلین به‌صورت معنی‌داری از افزایش اندیس پروستاتیت جلوگیری می‌کند، نشان می‌دهد که این دارو دارای اثرات بازدارنده بر پروستاتیت مزمن در موش صحرائی می‌باشد.

افزایش وزن پروستات حاصل از تجویز داخل پروستاتی کاراجینان به‌همراه تغییرات آسیب شناسی بافتی پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی مشابه نتایج گزارش شده توسط سایر محققین بود (۱۹-۱۸).

شاخص پروستاتیت به‌عنوان شاخص اصلی اثرات درمان‌های پروستاتیت مزمن غیرباکتریایی القاء شده با کاراجینان در مدل موش صحرائی مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما با تغییرات وزن



3. Cross, A.R., Jones, O.T.G. (1991): Enzymic mechanisms of superoxide production. *Biochim. Biophys. Acta.* 1057(3): 281-298.
4. De Nunzio, C., Kramer, G., Marberger, M., Montironi, R., Nelson, W., Schröder, F., Sciarra, A., Tubaro, A. (2011): The controversial relationship between benign prostatic hyperplasia and prostate cancer: the role of inflammation. *Eur. Urol.* 60(1): 106-117.
5. Jena, A.K., Vasisht, K., Sharma, N., Kaur, R., Dhingra, M.S., Karan, M. (2016): Amelioration of testosterone induced benign prostatic hyperplasia by *Prunus* species. *Ethnopharmacol.* 190: 33-45.
6. Hasani, P., Yasa, N., Vosough-Ghanbari, S., Mohammadirad, A., Dehghan, G., Abdollahi, M. (2007): In vivo antioxidant potential of *Teucrium polium*, as compared to  $\alpha$ -tocopherol. *Acta. Pharm.* 57(1): 123-129.
7. Lu, B., Cai, H., Huang, W., Wu, X., Luo, Y., Liu, L., Zhang, Y. (2011): Protective effect of bamboo shoot oil on experimental nonbacterial prostatitis in rats. *Food. Chem.* 124(3): 1017-1023.
8. Moran, L.J., Misso, M.L., Wild, R.A., Norman, R.J. (2010): Impaired glucose tolerance, type 2 diabetes and metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum. Reprod. Update.* 16(4): 347-363.
9. Murri, M., Luque-Ramírez, M., Insenser, M., Ojeda-Ojeda, M., Escobar-Morreale, H.F. (2013): Circulating markers of oxidative stress and polycystic ovary syndrome (PCOS): a systematic review and meta-analysis. *Hum. Reprod Update.* 19(3): 268-288.
10. Nadler, S.T., Stoehr, J.P., Schueler, K.L., Tanimoto, G., Yandell, B.S. and Attie, A.D. (2000): The expression of adipogenic genes is decreased in obesity and diabetes mellitus. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 97(21): 11371-11376.
11. Pasqualotto, F.F., Sharma, R.K., Potts, J.M., Nelson, D.R., Thomas, A.J., Agarwal, A. (2000): Seminal oxidative stress in patients with chronic prostatitis. *Urol.* 55(6): 881-885.
12. Paulis, G., Conti, E., Voliani, S., Bertozzi, M.A., Sarteschi, M.L., Menchini, F.F. (2003): Evaluation of the cytokines in genital secretions of patients with chronic prostatitis. *Archivio italiano di urologia, andrologia: organo ufficiale [di] Societa italiana di ecografia urologica e nefrologica.* 75(4): 179-186.
13. Ranjbar, A., Ghahremani, M.H., Sharifzadeh, M., Golestani, A., Ghazi-Khansari, M., Baeeri, M., Abdollahi, M. (2010): Protection by pentoxifylline of malathion-induced toxic stress and mitochondrial damage in rat brain. *Hum. Exp. Toxicol.* 29(10): 851-864.
14. Rezvanfar, M.A., Saadat, S., Saadi, H.A.S., Mansoori, P., Saeedi, S., Gooshe, M., Baeeri, M., Abdollahi, M. (2015): Cellular and molecular mechanisms of pentoxifylline's beneficial effects in experimental polycystic ovary. *Theriogenol.* 83(6): 968-977.
15. Ricciotti, E., FitzGerald, G.A. (2011): Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 31(5): 986-1000.
16. Wang, X., Zhong, S., Xu, T., Xia, L., Zhang, X., Zhu, Z., Zhang, M., Shen, Z. (2015): Histopathological classification criteria of rat model of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome. *Int. Urol. Nephrol.* 47(2): 307-316.
17. Wilson, M.J., Woodson, M., Wiehr, C., Reddy, A., Sinha, A.A. (2004): Matrix metalloproteinases in the pathogenesis of estradiol-induced nonbacterial prostatitis in the lateral prostate lobe of the Wistar rat. *Exp. Mol. Pathol.* 77(1): 7-17.
18. Yang, X., Yuan, L., Chen, J., Xiong, C., Ruan, J. (2014): Multitargeted protective effect of *Abacopteris penangiana* against carrageenan-induced chronic prostatitis in rats. *Ethnopharmacol.* 151(1): 343-351.
19. Zeng, F., Chen, H., Yang, J., Wang, L., Cui, Y., Guan, X., Wang, Z., Niu, J., Zu, X., Qi, L., Zhang, X. (2014): Development and validation of an animal model of prostate inflammation-induced chronic pelvic pain: Evaluating from inflammation of the prostate to pain behavioral modifications. *Plos One.* 9(5).
20. Zhou, J.F., Xiao, W.Q., Zheng, Y.C., Dong, J., Zhang, S.M. (2006): Increased oxidative stress and oxidative damage associated with chronic bacterial prostatitis. *Asian. Androl.* 8(3): 317-323.