

ВЛИЯНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЭКСТРАКТА ГРАНАТА НА ТЕЧЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ВЫЗВАННОГО МИРИНГОСКЛЕРОЗА

*¹Каф. болезней уха, горла и носа Азербайджанского
медицинского университета, г. Баку;*

²Кафедра оториноларингологии, Ondokuz Mayıs University, г. Самсун, Турция

Мирингосклероз – это состояние, характеризующееся гиалинизацией и кальцификацией коллагеновых структур в барабанной перепонке, и часто является результатом миринготомии или шунтирования барабанной перепонки [8]. Миринготомия, в свою очередь, наиболее распространенная хирургическая процедура, выполняемая для лечения рецидивирующих серозных отитов [1-3]. После миринготомии концентрация кислорода в барабанной полости достигает того же уровня, что и в наружном слуховом проходе. В результате образуется гипероксическая среда в барабанной полости. Образование свободных радикалов, вызванное гипероксической средой, ускоряют течение воспалительного процесса, усиливая тем самым повреждение тканей. Синтез коллагена и кальцификация, которые возникают во время процесса заживления, индуцируют мирингосклероз [2, 9, 10]. Из этого следует, что ингибирование высвобождения свободного радикала кислорода уменьшит уровень воспаления, что имеет важное значение в профилактике мирингосклероза [1, 3-5]. Использование антиоксидантов, таких как витамин Е, аскорбиновая кислота, селен, N-ацетилцистеин и L-карнитин, может препятствовать образованию мирингосклероза [1, 3, 6, 7].

Гранат (*Punica granatum*) является важным плодом из-за высокого содержания полифенолов и антиоксидантной активности. Плоды содержат фенольные соединения, такие как антоцианы, флавонолгликозиды, процианидины, эллагиновую кислоту

и ее производные. Их высокая антиоксидантная способность обусловлена фенольными соединениями, в том числе дубильными веществами, флавоноидами и антоцианинами [5].

Целью данного исследования было определение эффективности перорального введения экстракта граната на развитие мирингосклероза.

В экспериментально полученной модели мирингосклероза ингибирующее действие гранатового экстракта на формирование патологии исследовалось микроскопически.

Материалы и методы

Обработка экстракта граната

Концентрат сока был получен на кафедре фармакологии из свежесжатого гранатового сока на ротационном испарителе «ВУСНІ» (Швейцария) при контролируемой температуре (50 °С) и пониженном давлении (50 мбар). Удельный вес полученной концентрации составлял 1,34 г/мл.

Ход эксперимента

Экспериментальные исследования были проведены на лабораторных животных (40 крыс, весом от 250 до 300 г) с нормальным строением наружного слухового прохода и барабанной перепонки, которые были подразделены на 4 группы по 10 животных в каждой (табл. 1).

Крысам в группах ОЭГ и КЭГ вводили экстракт граната (100 мкл/день) через зонд за день до проведения миринготомии. После анестезии внутривентрикулярно введе-

нием кетамина гидрохлорида 50 мг/кг и ксилазина гидрохлорида 5 мг/кг, была произведена миригготомия обеих барабанных перепонки у крыс в группе позитивного контроля и группах ОЭГ и КЭГ. Для проведения миригготомии использовался миллиметровый стерильный каутер и операцион-

ный микроскоп. Разрез шириной 1 мм проводился в задне-верхнем квадранте. Группа отрицательного контроля не подвергалась какой-либо хирургической процедуре. Животным в группах ОЭГ и КЭГ был введен экстракт граната (100 мкл/день) через зонд: сразу после миригготомии, через 24 и 48 ч.

Таблица 1

Группы	
Негативный контроль	Без вмешательств (n=10)
Позитивный контроль	Миригготомированные животные, не получавшие экстракт граната (n=10)
ОЭГ	Миригготомированные животные, получавшие обычный экстракт граната (ОЭГ) (n=10)
КЭГ	Миригготомированные животные, получавшие концентрированный экстракт граната (КЭГ) (n=10)

После 14-дневного периода восстановления, животные в группах положительного контроля, ОЭГ и КЭГ умерщвлялись, барабанные перепонки удалялись для дальнейшего исследования. Перед умерщвлением микроскопически оценивалось и регистрировалось состояние всех барабанных перепонки. Развитие мириггосклероза наблюдалось у всех крыс во всех группах за исключением 2 барабанных перепонки в группе КЭГ.

Микроскопическое исследование. В конце 14-дневного периода восстановления, непосредственно перед умерщвлением, были изучены барабанные перепонки во всех группах. Обнаруженные склеротические фокусы оценивались с использованием 3-балльной шкалы: 0 (без мириггосклероза), (+) наличие мириггосклероза рядом с рукояткой молоточка, (++) наличие мириггосклероза в правом верхнем квадранте и рядом с рукояткой молоточка, (+++) наличие большого склеротического поражения, простирающегося от рукоятки молоточка до костного кольца (рис. 1).

Статистический анализ

Данные анализировались с использованием программы SPSS 15.0 (Статистический пакет для социальных наук). При оценке статистически значимой разницы

между результатами значение p менее 0,02 считалось статистически значимым ($p < 0,02$).

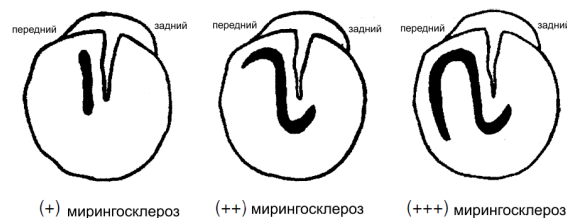


Рис. 1. Схематическое картина оценки тяжести мириггосклероза при проведении отомикроскопии.

Результаты

Результаты, полученные через 14 дней после хирургического вмешательства с учетом формации мириггосклероза представлены в табл. 2 и на рис. 2.

Как видно из результатов, приведенных в табл. 2, выраженность мириггосклероза была статистически достоверно большей в контрольной группе по сравнению с группой ОЭГ ($p=0,008$) и с группой КЭГ ($p=0,005$). Не было обнаружено статистически значимой разницы в сравнении интенсивности мириггосклероза в группах ОЭГ и КЭГ ($p=0,24$).

Оценка развившегося мирингосклероза

Выраженность мирингосклероза	Позитивный контроль (К) абс. (%)	ОЭГ абс. (%)	КЭГ абс. (%)	P
-	0 (%)	0 (%)	2 (10%)	К – ОЭГ= 0,008 К – КЭГ= 0,005 ОЭГ – КЭГ=0,24
+	6 (30 %)	13 (65 %)	14 (70 %)	
++	7 (35 %)	7 (35 %)	4 (20 %)	
+++	7 (35 %)	0 (%)	0 (%)	

Примечания: ОЭГ – обычный экстракт граната; КЭГ – концентрированный экстракт граната.

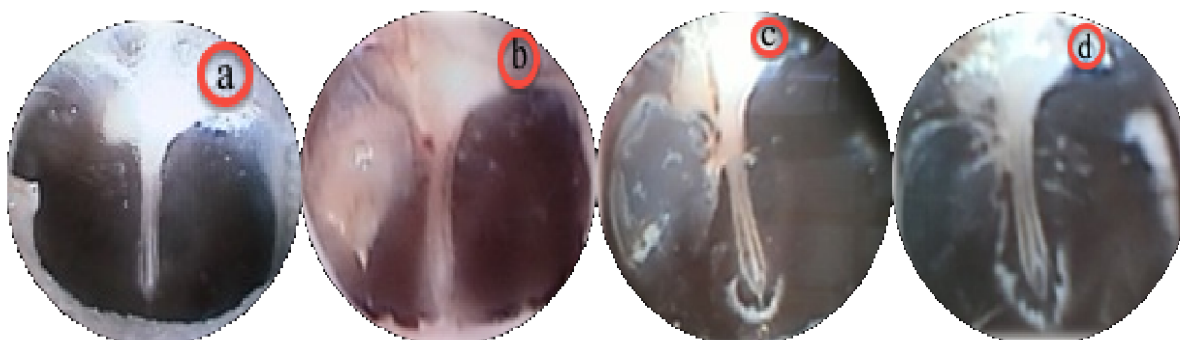


Рис. 2. Мирингосклероз различной степени выраженности на барабанных перепонках левого уха лабораторных животных. Изображения получены с помощью педиатрического жесткого эндоскопа 0° через 14 суток наблюдения:

- a – нормальная барабанная перепонка;
- b – мирингосклероз легкой степени; склероз, прилегающий к рукоятке молоточка;
- c – умеренный мирингосклероз; подковообразный склероз в конце рукоятки молоточка и в переднем верхнем квадранте;
- d – выраженный мирингосклероз; подковообразный склероз в конце рукоятки молоточка и дугообразный склероз в переднем кольце.

Обсуждение

Через 14 суток наблюдения за лабораторными животными было установлено, что распространенность склероза в барабанной мембране была статистически достоверно выше у крыс контрольной группы, в сравнении с животными, получавшими экстракт граната. Полученные данные позволяют сделать вывод, что экстракт граната эффективен для профилактики развития мирингосклероза.

Экстракт граната ингибирует развитие мирингосклероза в барабанной перепонке у крыс, и может стать хорошей альтернативой

для лечения мирингосклероза, который может развиваться после миринготомии и применения вентиляционной трубки. Тем не менее, для обоснования этого вывода на модели барабанной перепонки человека необходимы дальнейшие комплексные исследования.

Заключение

Применение экстракта граната приводит к предотвращению мирингосклероза благодаря его противовоспалительным и антиоксидантным свойствам.

Литература

1. Spratley JE, Hellström SO, Mattsson C, Pais-Clemente M. Topical ascorbic acid reduces myringosclerosis in perforated tympanic membranes. A study in rat. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2001;110:585-91.
2. Song JJ, Kwon SK, Cho CG, Park SW. The effect of caffeic acid phenethyl ester on the prevention of experimentally induced myringosclerosis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2007;71:1287-91.
3. Ozcan C, Gorur K, Cinel L, Talas DU, Unal M, Cinel. The inhibitory effect of topical N-acetylcysteine application on myringosclerosis in perforated rat tympanic membrane. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2002;63:179-84.
4. Karlıdag T, İlhan N, Kaygusuz I, Keles E, Yalcin S. Comparison of free radicals and antioxidant enzymes in chronic otitis media with and without tympanosclerosis. *Laryngoscope*. 2004;114:85-9.
5. Forseni M, Hansson GK, Bagger-Sjöback D, Hultcrantz M. An immunohistochemical study of inducible nitric oxide synthase in the rat middle ear, with reference to tympanosclerosis. *Acta Otolaryngol*. 1999;119:577-82.
6. Polat S, Oztürk O, Uneri C, Yüksel M, Haklar G, Bozkurt S. Determination of reactive oxygen species in myringotomized tympanic membranes: effect of vitamin E treatment. *Laryngoscope* 2004;114:720-5.
7. Akbas Y, Pata YS, Görür K, Polat G, et al. The effect of L-carnitine on the prevention of experimentally induced myringosclerosis in rats. *Hear Res* 2003;184:107-12.
8. Ferlito A. Histopathogenesis of tympanosclerosis. *J Laryngol Otol*. 1979;93(1):25-37.
9. Mattsson C, Stierna P, Hellstrom S. Treatment with dexamethasone arrests the development of myringosclerosis after myringotomy. *Am J Otol*. 2000;21:804-8.
10. Görür K. Etiopathogenesis of tympanosclerosis and myringosclerosis. *Otoscope*. 2004;4:125-9.

Поступила в редакцію 25.05.18

© Р.Ш. Гувалов, В.М. Панахиан, Р.Я. Гурбанов, 2018

ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ ГРАНАТА НА ПЕРЕБІГ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ВИКЛИКАНОГО МІРИНГОСКЛЕРОЗУ

Гувалов Р.Ш., Панахиан В.М., Гурбанов Р.Я.

А н о т а ц і я

Мета: вивчення впливу екстракту граната на перебіг експериментально індукованого мірингосклерозу.

Матеріали і методи: 40 щурів (Sprague-Dawley) вагою від 250 до 300 г були розподілені на 4 групи по 10 тварин в кожній: негативний контроль; позитивний контроль; група тварин, які отримували звичайний екстракт граната (ОЕГ) і тварини, які отримували концентрований екстракт граната (КЕГ). Тваринам усіх груп, крім групи негативного контролю, було проведено міринготомію обох барабанних перетинки в задньому верхньому квадранті. Тварини груп ОЕГ і КЕГ отримували 100 мкл/добу екстракту граната через зонд за 24 години до міринготомії, відразу після маніпуляції і через 24 і 48 годин після міринготомії. Мікроскопічні дані про мірингосклероз оцінювалися і реєструвалися протягом 14-добового періоду загоєння, після чого тварини умертвлялись і барабанні перетинки видалялись для подальшого дослідження.

Результати. Вираженість мірингосклерозу у тварин контрольної групи статистично значимо відрізнялась від такої в групах ОЕГ і КЕГ ($p=0,008$ і $p=0,005$, відповідно), в той час як достовірних відмінностей між групами ОЕГ і КЕГ виявлено не було ($p=0,24$).

Висновки: використання екстракту граната сприяє профілактиці мірингосклерозу.

Ключові слова: мірингосклероз, екстракт граната.

**EFFECTS OF THE USE OF POMEGRANATE EXTRACT
ON THE COURSE OF EXPERIMENTALLY INDUCED MYRINGOSCLEROSIS**

^{1,2}Guvalov RS, ¹Panahian VM, ¹Gurbanov RY

*Department of Otorhinolaryngology Azerbaijan Medical University; Baku, Azerbaijan;
Ondokuz Mayıs University, Department of Otorhinolaryngology; Samsun, Turkey
e-mail: vafa_panahian@mail.ru*

Abstract

Aim: to determine the effects of orally administered pome granate extract on experimentally induced myringosclerosis.

Materials and Methods: Forty Sprague-Dawley male rats, weighing between 250-300 grams were divided into 4 as negative control (10), positive control (10), traditional pome granate extract (TPE) (10) and laboratory pome granate extract (LPE) (10) groups. All tympanic membranes in the positive control, TPE and LPE groups were myringotomised at the posterior-superior quadrant. TPE and LPE groups received 100 µl/day pome granate extract via catheter for 24 hours before myringotomy, immediately after myringotomy and 24 and 48 hours after myringotomy. Microscopic findings of myringosclerosis were evaluated and recorded before sacrifice. After a 14 day healing period, rats were sacrificed and tympanic membranes were removed.

Results: Myringosclerosis intensity was statistically significant in the control group when compared with the TPE and LPE groups ($p=0,008$ and $p=0,005$ respectively). There was no statistically significant difference between TPE and LPE groups ($p=0,24$).

Conclusion: Usage pome granate extract as anti-inflammatory and antioxidant effect by over coming the acute inflammation process that leads to prevention of myringosclerosis.

Keywords: myringosclerosis, Pome granate extract