

Сухой экстракт *Vitex agnus-castus* BNO 1095 (Циклодинон®) ингибирует избыточные сокращения и воспаление в экспериментальных моделях первичной дисменореи

Первичная дисменорея (ПД) – болезненные спазмы во время менструации при отсутствии патологии органов малого таза, которые тесно связаны с другими менструальными состояниями и объединяются термином «предменструальный синдром» (ПМС). Первичная дисменорея является частой гинекологической жалобой, особенно у молодых женщин, у которых ее распространенность составляет 40-50%. Интенсивность боли, ассоциированной со спазмами матки, может варьировать от умеренной до тяжелой. Спазмы часто сопровождаются болью в спине, тошнотой, рвотой и диареей. У некоторых пациенток ПД является препятствием в учебе, работе или повседневных делах.

Боль имеет самую высокую интенсивность в дни, непосредственно предшествующие менструации, и, вероятно, возникает вследствие, по крайней мере, трех зависящих от времени биологических процессов. Во-первых, спазматические сокращения матки у женщин с ПД более интенсивны, имеют большую частоту и продолжительность, чем у женщин без ПД, и часто описываются как схваткообразные. Во-вторых, эти сокращения матки могут вызвать вазоконстрикцию в эндометрии и таким образом ограничить кровоснабжение, что приводит к гибели клеток, ишемии и продукции активных форм кислорода (АФК). В-третьих, даже при отсутствии инфекции непосредственно перед менструацией происходит иммуноподобный инфлюкс клеток воспаления (тучных клеток, эозинофилов, нейтрофилов, макрофагов), которые облегчают распад ткани эндометрия путем высвобождения протеаз, провоспалительных простагландинов (PG), лейкотриенов, цитокинов и хемокинов. Эти три процесса, вероятно, воздействуют одновременно, усиливая боль во время менструальных спазмов, однако точные молекулярные механизмы описанного явления до сих пор не установлены.

Среди различных провоспалительных цитокинов PGF2α и PGE2 принадлежит ведущая роль в модуляции сокращений матки и вазоконстрикции у небеременных и беременных соответственно. Внутриматочное введение PGF2α (но не PGE2) в секреторной фазе повышает сократительность матки, что свидетельствует о важном значении PG в патогенезе ПД и боли. Кроме того, происходят сложные взаимодействия между гормонами, медиаторами, базальной температурой тела, паттернами сна и центральной нервной системой, которые также недостаточно изучены.

Одними из возможных молекулярных механизмов ПД является снижение уровней эстрогенов и прогестерона, инициирующее провоспалительный и проконтрактильный каскады, и снижение уровня фермента супероксиддисмутазы, в норме обезвреживающего АФК и защищающего клетки от повреждения, индуцированного окислительным стрессом. Менструальнозависимое увеличение продукции АФК активирует ядерный транскрипционный фактор

каппа В (NFκB), который, в свою очередь, повышает продукцию PG (особенно PGF2α), хемокинов и провоспалительных цитокинов. PGF2α-индуцированные сокращения матки и вазоконстрикция вызывают гипоксию и боль в миометрии. Вместе с экспрессией провоспалительных медиаторов, которые притягивают и активируют лейкоциты, это приводит к воспалению, деструкции ткани и возникновению характерного менструального кровотечения, после которого интенсивность боли обычно уменьшается.

Для лечения ПМС и ПД широко применяются нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), например ибупрофен и напроксен, которые подавляют продукцию PG путем ингибирования циклооксигеназы (ЦОГ)-1 и -2. Однако применение большинства безрецептурных НПВП ассоциируется с развитием гастроинтестинальных побочных эффектов (тошноты, язв) и почечной дисфункции. У 10-30% женщин с ПД отмечена резистентность к лечению ингибиторами ЦОГ, что свидетельствует о вовлечении других медиаторов в патогенез этого состояния. Такими медиаторами могут быть лейкотриены, уровни которых у женщин с ПД повышены. Впрочем, на сегодняшний день не зарегистрирован ни один ингибитор 5-липоксигеназы (фермента, с помощью которого из арахидоновой кислоты образуются лейкотриены), одобренный для терапии пациенток с ПМС.

Для коррекции симптомов ПМС женщины все чаще отдают предпочтение эффективным альтернативным средствам, прежде всего растительным препаратам, использование которых ассоциируется с низкой частотой побочных эффектов. Плоды дерева *Vitex agnus-castus*, также известного как прутняк обыкновенный или авраамово дерево, традиционно применяют для устранения симптомов ПМС легкой степени тяжести – боли, отеков и изменений настроения. Стандартизированный экстракт плодов *Vitex agnus-castus* (сухой экстракт VAC) признан и продается в Европе как растительный препарат, эффективный в облегчении симптомов ПМС, с менее выраженными побочными эффектами по сравнению с НПВП. Эффективность и безопасность сухого экстракта VAC

в купировании симптомов ПМС, таких как нерегулярные менструации и боль в груди (мастодиния), доказаны во многих контролируемых клинических исследованиях.

Механизм действия экстракта VAC в уменьшении выраженности симптомов ПМС до конца не установлен, вероятно, из-за большого количества потенциально активных составляющих экстракта, в том числе иридоидов, флавоноидов и дитерпенов. Например, получено достаточно доказательств того, что экстракт VAC действует на допаминовые D₂-рецепторы гипоталамо-гипофизарной оси, подавляя системное высвобождение пролактина гипофизом, что уменьшает симптомы ПМС. Однако способность экстракта VAC оказывать локальное противосократительное и противовоспалительное действие при ПД до сих пор не изучалась.

Таким образом, целью данного исследования было изучить способность стандартизированного экстракта VAC BNO 1095 (Циклодинон®, Bioponica AG) модулировать ряд потенциальных механизмов, ответственных за развитие дисменореи, с использованием *in vivo*, *in vitro* и ферментных анализов, уделяя особое внимание сокращениям матки, боли, а также продукции и высвобождению провоспалительных молекул – PG, лейкотриенов, цитокинов и АФК.

Методы

В модели дисменореи крысам женского пола (линия Sprague Dawley) один раз в сутки вводили эстрадиола бензоат 10 мг/кг массы тела с целью индуцирования гиперплазии эндометрия в качестве предпосылки для дальнейшего индуцирования окситоцином подобной дисменореи сокращений матки. Животных разделили на три группы для назначения BNO 1095, физиологического раствора (контроль) или карпрофена (НПВП). На 12-й день вводили окситоцин (2000 мМЕ/кг, или 3,33 мкг/кг), после чего оценивали степень стимуляции миометрия и болевую реакцию.

Для анализа антиконвульсионного действия *in vitro* использовали полоски изолированной матки крыс линии Sprague Dawley. За 18 ч до эксперимента животным вводили диэтилстильбестрол (0,25 мг/кг). Сокращения миометрия индуцировали путем добавления окситоцина, PGF2α или вазопрессиона. После стабилизации сокращений регистрировали ответ на введение BNO 1095, ритодрина (положительный контроль) и 0,5% водного раствора этанола (обычный контроль). Аналогичный эксперимент

с использованием образцов человеческой матки, полученных от небеременных доноров пременопаузального возраста, проводили с использованием окситоцина (индуцирование сокращений), испрадипина (положительный контроль) и 0,5% водного раствора этанола (обычный контроль). Изучали также ингибирование 5-липоксигеназы и биосинтеза лейкотриенов в изолированных человеческих моноцитах, высвобождение цитокинов мононуклеарами периферической крови человека и высвобождение АФК макрофагами человека при участии BNO 1095.

Результаты

На экспериментальной модели ПД установлено, что BNO 1095 дозозависимо уменьшал количество окситоцин-индуцированных сокращений матки и интенсивность связанной с ними боли, не вызывая седации или локомоторного дефицита. Значительное снижение частоты индуцированных сокращений под воздействием BNO 1095 также наблюдалось во время опытов с использованием изолированной маточной ткани животных и человека (рис. 1).

BNO 1095 существенно не ингибировал активность фосфодиэстеразы (подтипы 4B2, 4D1 и 8A1), но оказывал мощный ингибирующий эффект на биосинтез лейкотриенов человеческими моноцитами и значительно подавлял активность 5-липоксигеназы.

ЦОГ-опосредованный синтез PGE2 и тромбоксана B2 человеческими моноцитами, стимулированными липополисахаридом, на фоне применения BNO 1095 изменялся незначительно. Однако BNO 1095 эффективно дозозависимо ингибировал высвобождение провоспалительных цитокинов IL-1β, IL-6, IL-8, фактора некроза опухоли (TNF) и воспалительного протеина макрофагов 1α (MIP-1α; рис. 2).

В изолированных макрофагах и нейтрофилах человека и в бесклеточной среде BNO 1095 продемонстрировал мощный антиоксидантный эффект, снижая продукцию АФК (рис. 3).

Обсуждение

Спазмолитическое и обезболивающее действие BNO 1095

На человеческих и животных моделях сокращения матки могут быть опосредованы окситоцином, вазопрессином или PGF2α, хотя физиологическая значимость каждого лиганда в большой степени зависит от состояния имплантации (т.е. от того, беременна ли женщина) и временного периода беременности или менструального/эстрального цикла. В модуляции и индукции менструации также участвуют другие молекулы, прежде всего прогестерон, эстрогены и PGE2. Единая модель, которая объясняла бы патогенез ПД, до сих пор не разработана, однако клиническое применение

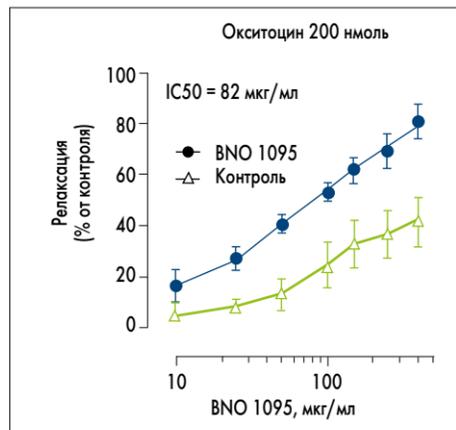


Рис. 1. Зависимое от концентрации антиконвульсионное действие BNO 1095 на маточную ткань человека: релаксация сокращений, индуцированных окситоцином 200 нмоль (0,2 мкг/мл)

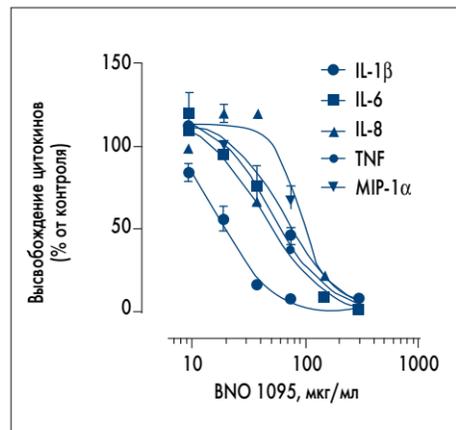


Рис. 2. Зависимое от концентрации ингибирование индуцированного липополисахаридом высвобождения воспалительных цитокинов мононуклеарами периферической крови человека

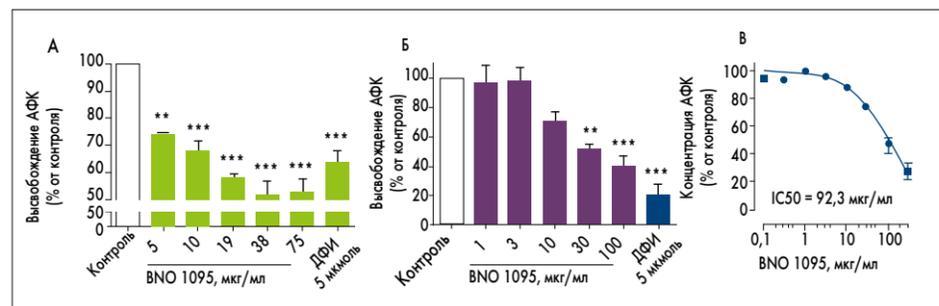


Рис. 3. Анализ влияния BNO 1095 на продукцию АФК макрофагами (А), нейтрофилами (Б) и антиоксидантную активность в отношении АФК в бесклеточной среде (В)

ДФИ – дифенил иодоний; *p<0,05; **p<0,001; ***p<0,0001.

НПВП и оральных контрацептивов для лечения связанной с менструацией боли и ПМС свидетельствует о вовлечении этих молекул в возникновение указанных симптомов.

В использованной модели дисменореи BNO 1095 уменьшал количество окситоцин-индуцированных сокращений матки и интенсивность боли. Дополнительные доказательства спазмолитического действия экстракта получены в экспериментах с применением маточной ткани животных и человека, в которых BNO 1095 дозозависимо подавлял сокращения, индуцированные окситоцином, вазопрессином и PGF 2α . Эти данные согласуются с результатами исследования Afif и соавт., согласно которым изоориентин (флавоноид, содержащийся в экстракте BNO 1095) дозозависимо ингибировал сокращения матки крыс и морских свинок *in vitro*. Антиспазмолитический эффект BNO 1095 может объясняться способностью этого экстракта уменьшать боль, связанную с менструальными спазмами.

Полученные результаты также дополняют данные многочисленных исследований, проведенных *in vitro*, которые продемонстрировали нейроэндокринный механизм действия экстракта BNO 1095, а именно его связывание с допаминовыми D $_2$ -рецепторами, которое ингибирует высвобождение пролактина гипофизом и подавляет системный гормональный каскад, ответственный за развитие широкого спектра симптомов у женщин с ПМС. Таким образом, BNO 1095 оказывает не только системное, но и локальное воздействие в матке, контролируя биологические процессы, происходящие во время менструации.

Снижение уровня провоспалительных молекул под действием BNO 1095

Сегодня трудно определить, какие молекулы и процессы связаны с ПД, а какие — с нормальным менструальным циклом, поскольку дисменорея, по-видимому, является «преувеличением» здоровых процессов организма. Однако появляется все больше доказательств того, что провоспалительные молекулы и воспалительные клетки играют важную роль в деструкции эндометрия, помогая отторжению его функционального слоя при отсутствии беременности. Этот процесс не является болезненным состоянием, однако воспаление и рекрутинг лейкоцитов в позднюю секреторную фазу, к сожалению, могут усиливать ощущение боли и/или сокращение матки у женщин с ПД.

В проведенном исследовании для демонстрации способности BNO 1095 подавлять высвобождение провоспалительных лейкотриенов, цитокинов/хемокинов и АФК использовали клеточный и бесклеточный анализ. С учетом новых доказательств участия воспалительных медиаторов, которые влияют на иммунный ответ, облегчая отторжение эндометрия во время менструации, способность BNO 1095 мощно подавлять высвобождение этих медиаторов может объяснить положительные эффекты экстракта в лечении ПД.

Сегодня доказано, что лейкотриены усиливают ощущение боли в матке и могут вызвать ее сокращение. Это подтверждается повышением уровней LTC $_4$ и LTD $_4$ в менструальной крови женщин с ПД.

Следовательно, ингибирование сокращения матки путем снижения уровня этих цистеиниловых лейкотриенов является одним из возможных молекулярных механизмов действия BNO 1095, что также наблюдалось в экспериментах на животных *in vivo*. Примечательно, что в проведенном исследовании BNO 1095 не влиял на ЦОГ-1/ЦОГ-2-зависимый метаболизм арахидоновой кислоты. Это свидетельствует об отсутствии значительного ингибирования высвобождения PGE $_2$, PGF 2α и тромбоксана B $_2$, ассоциированного с повышенным воспалительным ответом матки во время менструации.

Полученные результаты также указывают на то, что антиоксидантные соединения,

содержащиеся в BNO 1095, могут уменьшать выраженность боли путем обезвреживания АФК, которые, как известно, повышают продукцию PGF 2α , хемокинов, провоспалительных цитокинов во время менструации. АФК вместе с медно-цинковой супероксиддисмутазой и NF κ B считаются важными передатчиками сигнала между снижением уровня эстрогенов и прогестерона и деструкцией эндометрия опосредованно через стимуляцию экспрессии ЦОГ-2 и высвобождение PGF 2α .

Противовоспалительные и антиоксидантные эффекты экстракта VAC и его отдельных компонентов наблюдали и другие исследователи. Например, Choudhary и соавт. продемонстрировали, что кастицин ингибирует липоксигеназу *in vitro*, а флавоноид витексин уменьшает продукцию провоспалительных цитокинов и выраженность боли, индуцированной воспалением,

на экспериментальной модели воспаления. Эти противовоспалительные и антиоксидантные свойства экстракта VAC и его составляющих могут частично обуславливать положительные эффекты BNO 1095 в отношении ПМС и боли, связанной с менструацией.

Выводы

Данные, полученные на экспериментальной модели ПД *in vivo*, а также исследования *in vitro* с использованием изолированных тканей матки крыс и человека, свидетельствуют о значительных спазмолитических свойствах BNO 1095, которые реализуются путем локальных эффектов и дополняют существующую способность экстракта к нейроэндокринному ингибированию высвобождения пролактина. Кроме того, BNO 1095 продемонстрировал мощную противовоспалительную активность

in vitro, а именно подавлял биосинтез лейкотриенов (но не простагландинов), высвобождение цитокинов и продукцию АФК изолированными лейкоцитами человека. Способность BNO 1095 ингибировать высвобождение этих провоспалительных молекул из мигрирующих и воспалительных клеток дополняет спазмолитическое действие экстракта и поддерживает его положительные эффекты, которые наблюдались во время терапии менструальных расстройств.

Список литературы находится в редакции.

Статья печатается в сокращении.
Rohrl J., Werz O., Ammendola A., Kunstle G. Vitex agnus-castus dry extract BNO 1095 (AgnucastonR) inhibits uterine hyper-contractions and inflammation in experimental models for primary dysmenorrhea. Clinical Phytoscience, 2016; 2: 20.

Подготовил Алексей Терещенко



Bionorica®

Порушення менструального циклу?

Циклодинон®



нормалізує менструальний цикл¹



відновлює гормональну рівновагу²



не містить гормонів³

Розкриваючи силу рослин

Циклодинон®. Показання. Порушення менструального циклу і/або безпліддя пов'язане з недостатністю жовтого тіла. **Застосування.** Препарат приймають по 1 таблетці 1 раз на день. Лікування триває протягом 3 місяців без перерви на час менструації. **Протипоказання.** Не можна застосовувати у випадку підвищеної чутливості до плодів прутняку звичайного або до будь-якого із допоміжних компонентів препарату. **Особливі застереження.** У випадку виникнення болю або набухання молочних залоз, а також при порушеннях менструального циклу рекомендується проконсультуватися з лікарем, оскільки ці симптоми можуть свідчити про захворювання, що потребує медичного дослідження. **Застосування у період вагітності або годування груддю.** Не можна застосовувати у період вагітності або годування груддю (може спричинити зменшення лактації). **Побічні реакції.** Після застосування лікарських засобів, які містять плоди прутняку звичайного, повідомлялось про такі симптоми, як головний біль, свербіж або шлунково-кишковий дискомфорт, який проявляється нудотою, болем у ділянці шлунка. Можливі прояви підвищеної чутливості у вигляді висипу, кропив'янки, набряку Квінке, утруднення дихання та ковання.

1. В.П. Сметник, Л.Б. Бутарева Науковий центр акушерства, гінекології та перинатології РАМН, Москва. Журнал «Проблеми репродукції», том 11, 5/2005, стр. 50-54
2. W.Wuttke et al 1997. Geb Fra 57, 569-574
3. Інструкція для медичного застосування препарату

Циклодинон®. Краплі оральні, Р.П. № UA/0267/01/01 від 23.12.13. Циклодинон®. Таблетки, вкриті оболонкою, Р.П. № UA/0267/02/01 від 23.12.13. ТОВ «Біонорика» Україна, вул. Княжий Затон, 9, оф. 392, Київ, 02095. тел.: (044) 521-86-00, факс: (044) 521-86-01, e-mail: info@bionorica.ua.

Для розміщення у спеціалізованих виданнях, призначених для медичних установ та лікарів, а також для розповсюдження на семінарах, конференціях, симпозиумах з медичної тематики. Матеріал призначений виключно для спеціалістів у галузі охорони здоров'я.