

# Сухий екстракт *Vitex agnus-castus* BNO 1095 (Циклодинон®) інгібує надмірні скорочення і запалення в експериментальних моделях первинної дисменореї

**Первинна дисменорея (ПД) – менструальні болючі спазми за відсутності патології малого таза, які тісно пов'язані з іншими менструальними станами, що об'єднуються терміном «передменструальний синдром» (ПМС). Первинна дисменорея є частотою гінекологічною скаргою, особливо у молодих жінок, у яких її поширеність становить 40-50%. Інтенсивність болю, асоційованого зі спазмами матки, може варіювати від помірної до тяжкої. Спазми часто супроводжуються болем у спині, нудотою, блюванням і діареєю. У деяких випадках ПД заважає жінкам навчатися, працювати або займатися звичайними повсякденними справами.**

Біль має найбільшу інтенсивність у дні, що безпосередньо передують менструації, і, ймовірно, виникає внаслідок принаймні трьох залежних від часу біологічних процесів. По-перше, спазматичні скорочення матки у жінок з ПД є більш інтенсивними, мають більшу частоту і тривалість порівняно з жінками без ПД і часто описуються як переймоподібні. По-друге, ці скорочення матки можуть викликати вазоконстрикцію в ендометрії і таким чином обмежувати кровопостачання, що призводить до загибелі клітин, ішемії і продукції активних форм кисню (АФК). По-третє, навіть за відсутності інфекції безпосередньо перед менструацією відбувається імуноподібний інфлюкс запальних клітин (мастоцитів, еозинофілів, нейтрофілів, макрофагів), які полегшують розпад ендометріальної тканини шляхом вивільнення протеаз, прозапальних простагландинів (PG), лейкотрієнів, цитокінів і хемокінів. Ці три процеси, ймовірно, мають одночасний вплив, посилюючи біль під час менструальних спазмів, проте точні молекулярні механізми описаного явища дотепер не встановлені.

Серед різних прозапальних цитокінів PGF2 $\alpha$  і PGE2 належить провідна роль у модуляції скорочень матки і вазоконстрикції у вагітних і невагітних жінок відповідно. Внутрішньоматкове призначення PGF2 (але не PGE2) у секреторній фазі підвищує скоротливість матки, що свідчить про важливу участь PG у патогенезі ПД і болю. Крім того, відбуваються складні взаємодії між гормонами, медіаторами, базальною температурою тіла, патернами сну і центральною нервовою системою, які також є недостатньо вивченими.

Одними з можливих молекулярних механізмів ПД є зниження рівнів естрогенів і прогестерону, що ініціює прозапальний і проконтракtilний каскади, і зниження рівнів ферменту супероксиддисмутазу (СОД), яка в нормі знешкоджує АФК і захищає клітини від індукованого окислювальним стресом пошкодження. Менструально-залежне збільшення продукції

АФК активує ядерний транскрипційний фактор каппа В (NF $\kappa$ B), що у свою чергу підвищує продукцію PG (особливо PGF2 $\alpha$ ), хемокінів і прозапальних цитокінів. PGF2 $\alpha$ -індуковані скорочення матки та вазоконстрикція спричиняють гіпоксію і біль у міометрії. Разом з експресією прозапальних медіаторів, які притягують та активують лейкоцити, це призводить до запалення, деструкції тканини і виникнення характерної менструальної кровотечі, після якої інтенсивність болю зазвичай зменшується.

Для лікування ПМС і ПД широко використовуються нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП), наприклад ібупрофен і напроксен, які пригнічують продукцію PG шляхом інгібування циклооксигеназ (ЦОГ-1 і ЦОГ-2). Проте застосування більшості безрецептурних НПЗП асоціюється з розвитком гастроінтестинальних побічних ефектів (нудоти, виразок) і ниркової дисфункції. Також 10-30% жінок з ПД не відповідають на інгібітори ЦОГ, що свідчить про залучення інших медіаторів до патогенезу цього стану. Такими медіаторами можуть бути лейкотрієни, рівні яких є підвищеними у жінок з ПД. Утім, на сьогодні не зареєстровано жодного інгібітора 5-ліпоксигенази (ферменту, за допомогою якого з арахідонової кислоти утворюються лейкотрієни), схваленого для терапії ПМС.

Для корекції симптомів ПМС жінки дедалі частіше надають перевагу ефективним альтернативним засобам, перш за все рослинним препаратом, використання яких асоціюється з низькою частотою побічних ефектів. Плоди дерева *Vitex agnus-castus*, також відомого як прутняк звичайний або авраамове дерево, традиційно застосовують для лікування менструальних симптомів легкого ступеня тяжкості – болю, набряків і змін настрою. Стандартизований екстракт плодів *Vitex agnus-castus* (сухий екстракт VAC) визнаний і продається в Європі як рослинний препарат, ефективний у полегшенні симптомів ПМС з менш вираженими побічними ефектами порівняно з НПЗП. Ефективність і безпеку сухого

екстракту VAC у лікуванні симптомів ПМС, таких як нерегулярні менструації і біль у грудях (мастодинія), доведені в багатьох контрольованих клінічних дослідженнях.

Механізм дії екстракту VAC у лікуванні менструальних симптомів до кінця не з'ясовано, ймовірно, внаслідок великої кількості потенційно активних складових екстракту, у тому числі іридоїдів, флавоноїдів і дитерпенів. Наприклад, отримано достатньо доказів того, що екстракт VAC діє на дофамінові D2-рецептори гіпоталамо-гіпофізарної осі, пригнічуючи системне вивільнення пролактину гіпофізом, що зменшує симптоми ПМС. Проте здатність екстракту VAC чинити локальну протискоротливу і протизапальну дію при ПД дотепер не вивчалася.

Отже, метою цього дослідження було вивчити здатність стандартизованого екстракту VAC BNO 1095 (Циклодинон®, Bioponica AG) модулювати низку потенційних механізмів, відповідальних за розвиток дисменореї, з використанням *in vivo*, *in vitro* і ферментних аналізів, приділяючи особливу увагу скороченням матки, болю, а також продукції і вивільненню прозапальних молекул – PG, лейкотрієнів, цитокінів та АФК.

## Методи

У моделі дисменореї шурам жіночої статі (лінія Sprague Dawley) один раз на добу вводили естрадіолу бензоат 10 мг/кг маси тіла з метою індукування гіперплазії ендометрію як передумови для подальшого індукування окситоцином дисменорея-подібних скорочень матки. Тварин розподілили на три групи для призначення BNO 1095, фізіологічного розчину (контроль) або карпрофену (НПЗП). На 12-й день вводили окситоцин (2000 мМО/кг, або 3,33 мкг/кг), після чого оцінювали ступінь стимуляції міометрію і больову реакцію.

Для аналізу антиконвульсивної дії *in vitro* використовували смужки ізольованої матки шури Sprague Dawley. За 18 год до експерименту тваринам вводили діетилстильбестрол (0,25 мг/кг). Скорочення міометрію індукували шляхом додавання окситоцину, PGF2 $\alpha$  або вазопресину. Після стабілізації скорочень реєстрували відповідь на BNO 1095, ритодрин (позитивний контроль) і 0,5%

водний розчин етанолу (звичайний контроль). Аналогічний експеримент з використанням зразків людської матки, отриманих від невагітних жінок пременопаузального віку, проводили з використанням окситоцину (індукування скорочень), ісрадіпіну (позитивний контроль) і 0,5% водного розчину етанолу (звичайний контроль). Також вивчали інгібування 5-ліпоксигенази і біосинтезу лейкотрієнів в ізольованих людських моноцитах, вивільнення цитокінів мононуклеарами периферичної крові людини і вивільнення АФК макрофагами людини у присутності BNO 1095.

## Результати

На експериментальній моделі ПД встановлено, що BNO 1095 дозозалежно зменшував кількість окситоцин-індукованих скорочень матки й інтенсивність пов'язаного з ними болю, не викликаючи седативі або локомоторного дефіциту. Значне зниження частоти індукованих скорочень під дією BNO 1095 також спостерігалось під час дослідів з використанням ізольованої маткової тканини тварин і людини (рис. 1).

BNO 1095 суттєво не інгібував активність фосфолітази (підтипи ФДЕ-4B2, 4D1 і 8A1), але виявив потужний інгібувальний ефект біосинтезу лейкотрієнів людськими моноцитами і значно пригнічував активність 5-ліпоксигенази.

ЦОГ-опосередкований синтез PGE2 і тромбоксану B2 людськими моноцитами, стимульованими ліпополісахаридом, у присутності BNO 1095 змінювався незначно. Проте BNO 1095 ефективно дозозалежно інгібував вивільнення прозапальних цитокінів IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, фактора некрозу пухлини (TNF) і запального протеїну макрофагів 1 $\alpha$  (MIP-1 $\alpha$ ) (рис. 2).

В ізольованих макрофагах і нейтрофілах людини та в безклітинному середовищі BNO 1095 продемонстрував потужний антиоксидантний ефект, знижуючи продукцію АФК (рис. 3).

## Обговорення

### Спазмолітична і знеболювальна дія BNO 1095

На людських і тваринних моделях скорочення матки можуть опосередковуватись окситоцином, вазопресинном або PGF2 $\alpha$ , хоча фізіологічна значущість кожного ліганду значною мірою залежить від стану імплантації (тобто від того, чи є жінка вагітною) і часового періоду вагітності або менструального/естрального циклу. У модуляції та індукції менструації також беруть участь інші молекули, насамперед

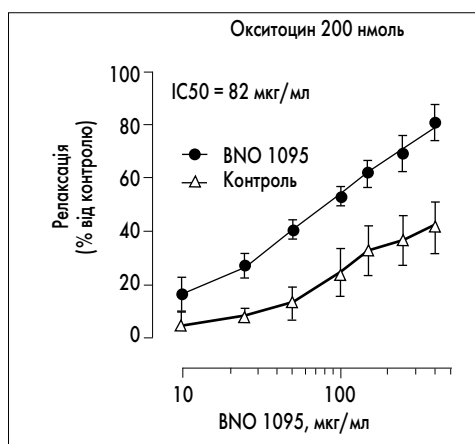


Рис. 1. Концентраційно-залежна антиконвульсивна дія BNO 1095 на маткову тканину людини: релаксація скорочень, індукованих окситоцином 200 нмоль (0,2 мкг/мл)

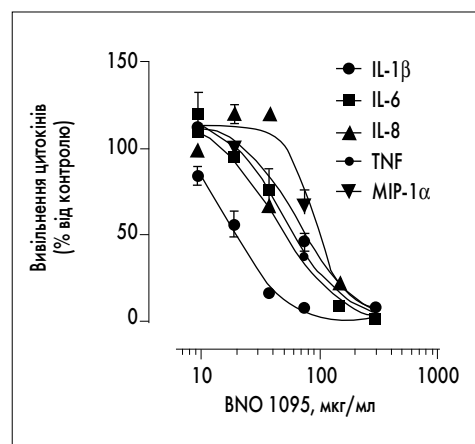


Рис. 2. Концентраційно-залежне інгібування ЛПС-індукованого вивільнення запальних цитокінів мононуклеарами периферичної крові людини

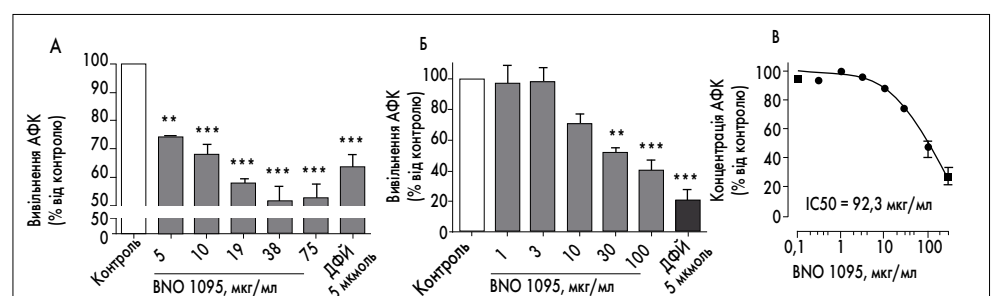


Рис. 3. Аналіз впливу BNO 1095 на продукцію АФК макрофагами (А), нейтрофілами (Б) і антиоксидантну активність щодо АФК у безклітинному середовищі (В)

ДФЙ – дифеніл ейдоніум; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,001$ ; \*\*\* $p < 0,0001$ .



прогестерон, естрогени і PGE2. Єдиною моделлю, яка б пояснювала патогенез ПД, дотепер не розроблено, проте клінічне застосування НПЗП та оральних контрацептивів для лікування менструального болю і ПМС свідчить про залучення цих молекул у виникнення зазначених симптомів.

У використаній моделі дисменореї BNO 1095 зменшував кількість окситоцину-індукованих скорочень матки та інтенсивність болю. Додаткові докази спазмолітичної дії екстракту отримано в експериментах із застосуванням маткової тканини тварин і людини, у яких BNO 1095 дозозалежно пригнічував скорочення, індуковані окситоцином, вазопресиноном і PGF2 $\alpha$ . Ці дані узгоджуються з результатами дослідження Afif і співавт. [22], згідно з якими ізоорієнтин (флавоноїд, що міститься в екстракті BNO 1095) дозозалежно інгібував скорочення матки щурів і морських свинок *in vitro*. Антиспазмолітичний ефект BNO 1095 може пояснювати здатність цього екстракту зменшувати біль, пов'язаний із менструальними спазмами.

Отримані результати також доповнюють дані численних досліджень, проведених *in vitro*, які продемонстрували нейроендокринний механізм дії екстракту BNO 1095, а саме його зв'язування з дофаміновими D2-рецепторами, що інгібує вивільнення пролактину гіпофізом і пригнічує системний гормональний каскад, відповідальний за розвиток широкого спектра симптомів у жінок з ПМС. Таким чином, BNO 1095 проявляє не лише системну, а й локальну дію в матці, контролюючи біологічні процеси, які відбуваються під час менструації.

#### Зниження рівня прозапальних молекул під дією BNO 1095

На сьогодні важко визначити, які молекули і процеси пов'язані з ПД, а які – з нормальним менструальним циклом, оскільки дисменорея, імовірно, є «перебільшенням» здорових процесів організму. Проте з'являється дедалі більше доказів того, що прозапальні молекули і запальні клітини відіграють важливу роль у деструкції ендометрію, допомагаючи відторгненню функціонального шару ендометрію за відсутності вагітності. Цей процес не є хворобливим станом, проте запалення і рекрутинг лейкоцитів у пізній секреторній фазі, на жаль, можуть посилювати відчуття болю і/або скорочення матки у жінок з ПД.

У проведеному дослідженні для демонстрації здатності BNO 1095 пригнічувати прозапальні лейкотрієни, цитокіни/хемокіни і АФК використали клітинні та безклітинні аналізи. З урахуванням нових доказів участі запальних медіаторів, які впливають на імунну відповідь, полегшуючи відторгнення ендометрію під час менструації, здатність BNO 1095 потужно пригнічувати вивільнення цих медіаторів може пояснювати позитивні ефекти екстракту в лікуванні ПД.

На сьогодні доведено, що лейкотрієни посилюють відчуття болю в матці і можуть спричиняти її скорочення. Це підтверджується підвищенням рівнів LTC4 і LTD4 в менструальній крові жінок з ПД. Отже, інгібування скорочень матки шляхом зниження рівня цих цистеїнілових лейкотрієнів є одним із можливих молекулярних механізмів дії BNO 1095, що також спостерігалось в експериментах на тваринах *in vivo*. Цікаво, що у проведеному дослідженні BNO 1095 не впливав на ЦОГ-1/ЦОГ-2-залежний метаболізм арахідонової кислоти, що свідчить про відсутність значного інгібування вивільнення PGE2, PGF2 $\alpha$  і тромбоксану B2, асоційованого з підвищеною запальною відповіддю матки під час менструації.

Отримані результати також вказують на те, що антиоксидантні сполуки, які містяться у BNO 1095, можуть зменшувати біль шляхом знешкодження АФК, що,

як відомо, підвищують продукцію PGF2 $\alpha$ , хемокінів, прозапальних цитокінів під час менструації. Вважається, що АФК разом з мідно-цинковою супероксиддисмутазою і NF $\kappa$ B є важливими передавачами сигналу між зниженням рівня естрогенів і прогестерону та деструкцією ендометрію опосередковано через стимуляцію експресії ЦОГ-2 і вивільнення PGF2 $\alpha$ .

Протизапальні та антиоксидантні ефекти екстракту VAC і його окремих компонентів спостерігали й інші дослідники. Наприклад, Choudary і співавт. продемонстрували, що кастицин інгібує ліпоксигеназу *in vitro*, а флавоноїд вітексин знижує продукцію прозапальних цитокінів і біль, індукований запаленням, на експериментальній моделі запалення. Ці протизапальні

та антиоксидантні властивості екстракту VAC і його складників можуть частково відповідати за позитивні ефекти BNO 1095 стосовно ПМС і менструального болю.

#### Висновки

Дані *in vivo*, отримані на експериментальній моделі ПД, а також дослідження *in vitro* з використанням ізольованих тканин матки щурів і людини свідчать про значні спазмолітичні властивості BNO 1095, які реалізуються шляхом локальних ефектів і доповнюють раніше встановлену здатність екстракту до нейроендокринного інгібування вивільнення пролактину. Крім того, BNO 1095 продемонстрував потужну протизапальну активність *in vitro*, а саме пригнічував

біосинтез лейкотрієнів (але не простагландинів), вивільнення цитокінів і продукцію АФК ізольованими лейкоцитами людини. Здатність BNO 1095 інгібувати вивільнення цих прозапальних молекул з мігруючих та запальних клітин доповнює спазмолітичну дію екстракту і підтримує його позитивні ефекти, які спостерігалися під час лікування менструальних розладів.

Список літератури знаходиться в редакції.  
Стаття друкується в скороченні.

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

Переклад з англ. **Олексій Терещенко**



Bionorica®

Порушення менструального циклу?

Циклодинон®



нормалізує менструальний цикл<sup>1</sup>



відновлює гормональну рівновагу<sup>2</sup>



не містить гормонів<sup>3</sup>

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 ковтання.

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.