

УДК 615.454.1:001.893.54:618.173:582.635.38

О. С. СИНИЦЫНА, И. М. РЫЖЕНКО, А. В. ЗАЙЧЕНКО, М. Л. БАВЫКИНА

Национальный фармацевтический университет

РЕДУКЦИЯ СИМПТОМОВ ГИПОЭСТРОГЕНИИ У ОВАРИОЭКТОМИРОВАННЫХ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ ВАГИНАЛЬНОГО ГЕЛЯ С ЭКСТРАКТОМ ШИШЕК ХМЕЛЯ

Проведенные исследования показали эффективность введения вагинального геля с экстрактом шишек хмеля овариоэктомированным крысам, что проявлялось умеренным снижением их массы тела, а также выраженным уменьшением частоты «приливов жара» и стабилизацией температурной кривой. По выраженности лечебного действия гель с фитозэкстрактом уступал вагинальным суппозиториям с эстриолом. Полученные результаты позволяют рекомендовать данный препарат с фитоэстрогеном для комплексной терапии вазомоторных нарушений, которые наблюдаются у женщин с гипотестрогеновыми расстройствами.

Ключевые слова: овариоэктомированные самки крыс; дефицит эстрогенов; «приливы жара»; гель с экстрактом шишек хмеля; фитоэстрогены

ВСТУПЛЕНИЕ

Современные женщины треть своей жизни проживают в период пери- и постменопаузы. По прогнозам ВОЗ к концу 2015 года около 46 % женщин в мире будет находиться в возрасте 45 лет и старше [3]. Возрастные инволютивные изменения сопровождаются нарушением гормонального фона и ассоциированы с прекращением функции яичников. В связи с этим у большинства женщин диагностируется патологический симптомокомплекс – климактерический синдром, который резко снижает качество жизни пациенток [5, 6]. Это требует проведения ранней диагностики и своевременной терапии, начиная с первых дней появления климактерических симптомов, которые на ранних стадиях включают расстройства соматического статуса и вазомоторные нарушения. К альтернативному варианту терапии вегетосудистых расстройств в климактерии относят применение фитоэстрогенов, которые имеют ряд преимуществ перед гормональными средствами, сочетая в себе эффективность последних, высокую тропность к органам-мишеням и минимум побочных эффектов [17].

Лечебные свойства хмеля (*Humulus lupulus L.*) издавна использовались как в народной, так и традиционной медицине. Вместе с тем официальные лекарственные препараты, содержащие фитоэстрогены хмеля, появились относительно недавно [12]. Эстрогеноподобное вещество 8-пренилнارينгенин (8-prenylnaringenin, 8-PN) из хмеля было выделено

и описано только в 1999 г. Среди известных фитоэстрогенов, таких как даидзеин и генистеин (из сои), куместрол (из клевера или люцерны), 8-PN является одним из самых мощных фитоэстрогенов [13]. Не так давно был выделен другой пренилфлавоноид – изоксантохумол, присутствующий в хмеле в значительно больших количествах. Последний является проэстрогеном и метаболизируется в 8-PN под влиянием кишечной микрофлоры [15, 16].

В последнее время на мировом фармацевтическом рынке появились вагинальные гели комбинированного состава, которые содержат экстракт хмеля и предназначены для коротко- и долгосрочной терапии атрофических проявлений у женщин в период менопаузы как альтернатива гормональным средствам местного действия. Но эти лекарственные средства или их аналоги в Украине отсутствуют [14, 18]. Фитоэстрогены, как правило, применяются в виде пероральных лекарственных форм. Представлялось интересным изучить возможные системные эффекты, которые могут проявляться при вагинальном применении геля с фитоэстрогенами шишек хмеля.

Целью данной работы стало изучение влияния вагинального геля, содержащего густой экстракт шишек хмеля (ГЭШХ), на массу тела и вазомоторные проявления (аналог симптома «приливы жара») у овариоэктомированных крыс в сравнении с суппозиториями, содержащими эстриол.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования проведены на 30 аутобредных самках белых нелинейных крыс мас-

© Синицына О. С., Рыженко И. М., Зайченко А. В., Бавыкина М. Л., 2015

Таблица

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ МАССЫ ТЕЛА ОВАРИОЭКТОМИРОВАННЫХ САМОК КРЫС ЗА ПЕРИОД ЛЕЧЕНИЯ ИССЛЕДУЕМЫМИ ПРЕПАРАТАМИ, (n = 6)

Группы животных	Масса крыс до овариоэктомии, г	Масса крыс после моделирования патологии, г (5-ая нед.)	Прирост массы тела крыс после моделирования патологии, %	Масса тела крыс после лечения, г (9-ая нед.)	Прирост или снижение массы тела крыс за период лечения, %	Прирост массы тела крыс с момента начала эксперимента, %
ИК	193,33 ± 5,58	209,00 ± 5,97	6,7	215,80 ± 3,96	3,3	11,6
ЛОС	191,67 ± 3,80	206,67 ± 1,67	7,4	212,50 ± 2,39	2,8	10,9
КП	192,67 ± 4,96	233,33 ± 4,01 ^{*/**}	18,6	245,00 ± 1,83 ^{*/**}	5,0	27,2
Э	194,17 ± 4,55	230,00 ± 1,83 ^{*/**}	15,5	223,33 ± 2,11 ^{**/**}	-2,9	15,0
ГЭШХ	195,83 ± 5,540	230,83 ± 2,39 ^{*/**}	16,9	230,00 ± 1,83 ^{*/**/**/+}	-0,4	17,5

Примечание:

- 1) * – достоверно относительно группы ИК (p < 0,05);
- 2) ** – достоверно относительно группы ЛОС (p < 0,05);
- 3) *** – достоверно относительно группы КП (p < 0,05);
- 4) + – достоверно относительно группы Э (p < 0,05).

сой 190-195 г, которых содержали в стандартных условиях вивария НФаУ на обычном пищевом рационе и свободном доступе к воде.

Моделирование у животных состояния, близкого к климактерическому синдрому у женщин, осуществляли при помощи билатеральной овариоэктомии по Я. Д. Киршенблату [2]. Ложнооперированным животным проводили лапаротомию и ушивание раны без удаления яичников.

Животные были разделены на 5 групп: интактные животные (ИК); ложнооперированные самки крыс (ЛОС); контрольная патология (КП); овариоэктомированные крысы, леченные вагинальным гелем с ГЭШХ; овариоэктомированные животные, которым вводили препарат сравнения – вагинальные суппозитории «Овестин», содержащие действующее вещество эстриол (Э) производства компании Органон, Нидерланды, серия G44874.

Гель комбинированного состава, который в качестве основного действующего вещества содержит ГЭШХ, а также аскорбиновую кислоту и вспомогательные вещества, разработан на кафедре аптечной технологии лекарств им. Д. П. Сало НФаУ под руководством профессора Вишневецкой Л. И.

На 35-й день после кастрации самкам вагинально вводили препараты на протяжении 28 дней (ежедневно в 9:00): ГЭШХ в дозе 0,06 мг/кг, Э – 0,03 мг/кг. Терапевтическая доза препарата была рассчитана с помощью коэффициента перерасчета доз по Рыболовлеву Ю. Р. [4].

Климактерический синдром является сложным симптомокомплексом, который на фоне изменения гормонального фона включает вазомоторные, соматические и метаболические нарушения. В связи с этим в данном эксперименте мы исследовали изменение массы животных, а также динамику суточной

температуры у основания хвоста (аналог симптома «приливы жара» у женщин) у кастрированных и леченых крыс под влиянием изучаемых препаратов [11].

Динамику массы тела оценивали по данным контрольного взвешивания самок крыс на электронных весах натошак в конце каждой недели проведения опыта с 9:00 до 12:00. Прирост массы тела наблюдали в течение 9-ти недель, которые были разделены на 2 этапа. Первый этап включал 1-5 недель эксперимента (моделирование гипоестрогении), второй этап – 6-9 недель (введение изучаемых препаратов). В конце 5-ой недели проводили контрольное взвешивание животных. Изменение массы тела измеряли в процентах по отношению к исходной массе.

Для оценки изменений вазомоторной реакции организма животных после овариоэктомии измеряли температуру кожи у основания хвоста крысы каждый час с 9:00 до 12:00 с помощью кожного термометра (Thermo Tec Q5, Medical Indicators Inc, США) в конце курсового лечения исследуемыми препаратами.

Полученные результаты обработаны методом вариационной статистики с использованием стандартного пакета программ «Statistica 6.0», межгрупповые различия оценивали по t-критерию Стьюдента [8]. Статистически значимыми считали различия при p < 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По данным литературы патологическое увеличение массы тела у женщин в период климактерия является следствием дефицита эстрогенов, гестагенов в крови и их дисбаланса, а также результатом психосоматических нарушений, которые развиваются впоследствии [9].

На момент начала эксперимента все животные имели примерно одинаковую массу: 191,67 ± 3,80-195,83 ± 5,54 г (таблица).

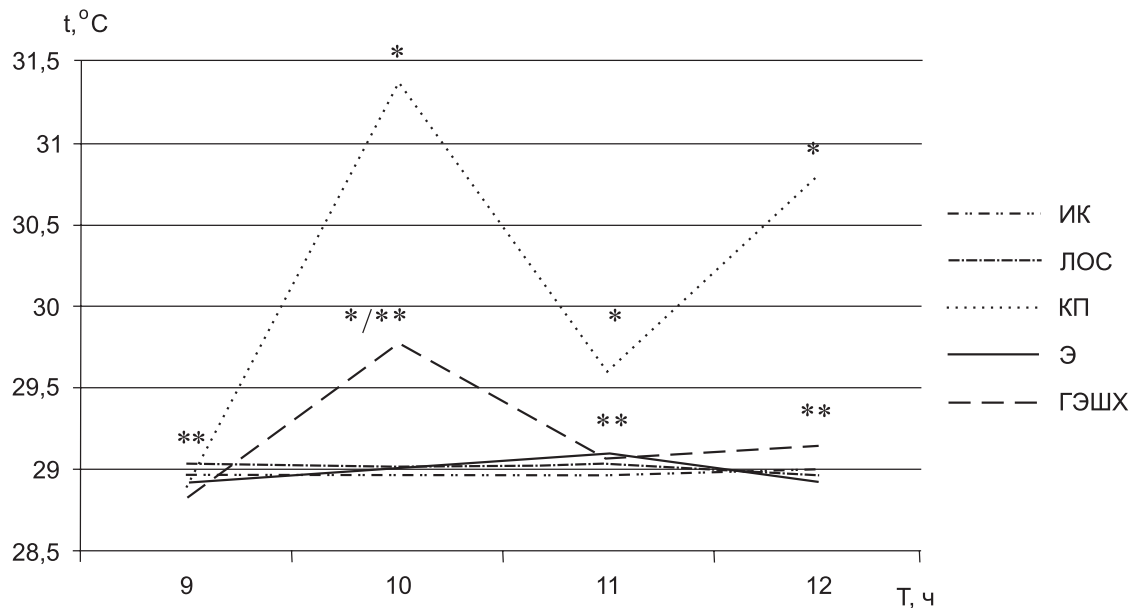


Рис. Влияние вагинального геля с ГЭШХ на температуру кожи у основания хвоста крыс в сравнении с колебаниями температуры у интактных, ложнооперированных и кастрированных животных.

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с ИК; ** – $p < 0,05$ по сравнению с КП.

К концу 5-ой недели эксперимента в группе животных ИК и ЛОС отмечался незначительный прирост массы тела крыс, который составил 6,7-7,4 %. В то же время после моделирования патологии масса тела овариоэктомированных животных статистически достоверно увеличивалась до 233,33 г и прирост ее превышал таковой у интактных крыс в среднем на 8,8-12 %. Прибавка массы тела у кастрированных самок является показателем релевантности данной модели [7].

Наблюдение за животными (6-я-9-я неделя) показало, что масса здоровых и ложнооперированных крыс продолжала несколько увеличиваться, однако прирост массы за этот период по сравнению с 5-ой неделей составил лишь 2,8-3,3 %. При этом у животных группы КП можно было констатировать достоверное увеличение массы тела по сравнению с ИК, а прирост ее составлял 5 %.

В конце последней недели эксперимента масса тела леченных крыс была существенно ниже ($p < 0,05$), чем масса животных в группе КП, а потери массы жировой ткани составили в среднем 15,0-21,7 г.

С момента первоначального взвешивания и до выведения животных из эксперимента (9-ая неделя) прирост массы тела крыс в группе ГЭШХ был на 10 % ниже, чем в группе КП и достоверно не отличался от значений препарата сравнения. Это свидетельствует о том, что при 28-дневном курсовом введении вагинальный гель, содержащий фитоэстрогены шишек хмеля, способен замедлить прирост массы тела у кастрированных самок крыс. При этом в группе животных, которым в качестве заместительной гормоно-

терапии вводили суппозитории с Э, масса крыс практически приближалась к таковой у здоровых животных и была несколько меньше, чем при вагинальном введении животным ГЭШХ. Следовательно, ни один из исследуемых препаратов не вызывал увеличения массы кастрированных крыс. Однако наиболее эффективным средством для нормализации избыточного веса при гипозестрогении оказались суппозитории с Э, а гель с ГЭШХ при этом проявлял умеренный превентивный эффект.

Одним из ранних симптомов проявления климактерического синдрома являются вазомоторные нарушения (приливы жара, повышенная потливость, головная боль, гипотония или гипертензия и др.) [1].

Измерение температуры кожи у основания хвоста крыс ИК показало, что этот показатель достоверно не изменялся по сравнению с исходным значением. У ложнооперированных животных по сравнению с интактными также не наблюдалось статистически значимых изменений температуры и колебаний температуры между периодами измерения. В группе животных КП отмечались скачки температуры с колебанием до 2,5 градусов, которые оценивались как эквиваленты «приливов жара». Появление выраженных пиков и спадов на температурной кривой свидетельствовало о нарушении вегетативных функций организма овариоэктомированных животных, а также о нарушении гуморальной терморегуляции (рис.).

Вагинальное введение геля с ГЭШХ кастрированным самкам вызывало нормализацию температурной реакции. Вероятно, механизм действия препарата на терморегуляцию связан со способностью фито-

эстрогенов связываться с β -эстрогеновыми рецепторами, а также влиять на высвобождение лютеинизирующего и тиреотропного гормонов (путем снижения их концентрации), которые играют ключевую роль в патогенезе «приливов жара». У животных, получавших в качестве заместительной гормонотерапии фитоэстрогены, отмечен лишь один пик повышения температуры, значение которого достоверно отличалось от значения пиков нелеченных крыс, и среднее колебание которого не превышало 1 °С.

При курсовом введении препарата сравнения у подопытных животных не наблюдали признаков «приливов жара», а температура на протяжении всего периода измерения статистически не отличалась от температуры интактных крыс.

Полученные результаты подтвердили данные литературы о том, что эстрогены как эндогенного, так и экзогенного происхождения способны уменьшать частоту «приливов жара» и стабилизировать температурную кривую [6]. Наиболее эффективным препаратом для купирования «приливов жара» при климактерическом синдроме является препарат сравнения – суппозитории Э. Вагинальный гель с фитоэстрогенами шишек хмеля оказывал выраженный положительный эффект на стабилизацию температурной кривой, незначительно уступая при этом суппозиториям с Э.

Анализ результатов изучения влияния вагинального введения ГЭШХ на массу тела и нейровегетативные проявления («приливы жара») у самок крыс с эстрогендефицитным состоянием показал, что фитопрепарат умеренно уменьшал массу тела животных и выражено нормализовал температурную реакцию, несколько уступая эндогенному эстрогену – суппозиториям, содержащим Э.

ВЫВОДЫ

1. В условиях билатеральной овариэктомии у самок крыс наблюдались увеличение массы тела и резкие скачкообразные колебания температуры кожи у основания хвоста, которые оценивались как «приливы жара», характерные для климактерического синдрома.
2. Заместительная терапия вагинальным гелем, содержащим фитоэстрогены шишек хмеля, способствовала умеренному снижению массы тела и выраженной стабилизации температуры тела животных. По совокупности эффектов вагинальный гель с фитоэстрогенами несколько уступал суппозиториям, содержащим эстриол.
3. Вагинальный гель с густым экстрактом шишек хмеля является перспективным препаратом для использования в составе комплексной терапии вазомоторных нарушений («приливов жара») легкой и умеренной степени тяжести, обусловленных дефицитом эстрогенов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ИНФОРМАЦИИ

1. Гависова А. А. Климактерический синдром: особенности терапии психоэмоциональных нарушений / А. А. Гависова, М. А. Твердикова, А. А. Балущкина // Рус. мед. журн. – 2009, сентябрь. – № 20. – С. 43-48.
2. Киршенблат Я. Д. Практикум по эндокринологии. – М., 1969. – С. 55-57.
3. Минеев В. Н. Менопаузальный синдром – проблема внутренней медицины. Альтернативные подходы к лечению менопаузальных расстройств. – С.Пб.: «Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости», 2005. – № 2. – С. 49-56.
4. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Докл. АН СССР. – 1979. – № 6. – С. 1513-1516.
5. Сметник В. П. Климактерические расстройства и методы их коррекции / В. П. Сметник // Consilium medicum. – 2007. – № 6. – С. 65-70.
6. Сметник В. П. Приливы: загадки климактерия / В. П. Сметник // Климактерий. – 2009. – № 1. – С. 5-12.
7. Плотникова Т. М. Влияние экстракта мааки амурской на липидный спектр и перекисное окисление липидов в мембранах эритроцитов после овариэктомии у крыс / Т. М. Плотникова // Эксперим. и клин. фармакол. – 2008. – Т. 71, № 6. – С. 28-30.
8. Халафян А. А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных. 3-е изд. [учеб.] / А. А. Халафян. – М.: ООО «Бином-Пресс», 2007. – 512 с.
9. Al-Safi Z. A., Polotsky A. J. Obesity and Menopause. – Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology, Published Online: December 22, 2014.
10. Baber R. J. Randomized placebo-controlled trial of an isoflavone supplement and menopausal symptoms in women / R. J. Baber // Climacteric. – 1999. – Vol. 2 (2). – P. 85-92.
11. Bowe J. The hop phytoestrogen, 8-prenylnaringenin, reverses the ovariectomy-induced rise in skin temperature in an animal model of menopausal hot flashes / [J. Bowe, X. F. Li, J. Kinsey-Jones et al.] // J. Endocrinol. – 2006. – Vol. 191. – P. 399-405.
12. Erkkola R. Стандартизованный экстракт хмеля в облегчении симптомов менопаузы / [R. Erkkola, S. Vervarcke, S. Vansteelandt et al.] // Репродукт. эндокринолог. – 2011, декабрь. – № 2. – С. 72-78.
13. Milligan S. R. Identification of a potent phytoestrogen in hops (*Humulus lupulus* L.) and beer / [S. R. Milligan, J. C. Kalita, A. Heyerick et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1999. – Vol. 84. – P. 2249-2252.
14. Morali G. Open, non-controlled clinical studies to assess the efficacy and safety of a medical device in form of gel topically and intravaginally used in postmenopausal women with genital atrophy. *Arzneimit-*

- tel Forschung / [G. Morali, F. Polatti, E. N. Metelitsa et al.] // Drug Res. – 2006. – Vol. 56. – P. 230-238.
15. Possemiers S. Metabolism of isoflavones, lignans and prenylflavonoids by intestinal bacteria: producer phenotyping and relation with intestinal community / [S. Possemiers, S. Bolca, E. Eeckhaut et al.] // FEMS Microbiol. Ecol. – 2007. – Vol. 61. – P. 372-383.
16. Possemiers S. The prenylflavonoid isoxanthohumol from hops (*Humulus lupulus* L.) is activated into the potent phytoestrogen 8-prenylnaringenin in vitro and in the human intestine / [S. Possemiers, S. Bolca, C. Grootaert et al.] // J. Nutr. – 2006. – Vol. 136. – P. 1862-1867.
17. Sherrard J. European (IUSTI/WHO) guideline on the management of vaginal discharge / J. Sherrard, G. Donders, D. White, J. S. Jensen // Intern. J. of STD & AIDS. – 2011. – Vol. 22, № 8. – P. 421-429.
18. Sparavigna A. A controlled, randomized, open label study in postmenopausal women to assess the safety and the efficacy of a vaginal moisturizer: [an instrumental approach] / [A. Sparavigna, B. Tenconi, I. De Ponti et al.] // Open J. of Obstetrics and Gynecol. – 2013. – Vol. 3. – P. 395-399.
19. Vitale D. C. Isoflavones: estrogenic activity, biological effect and bioavailability / D. C. Vitale // Eur. J. of Drug Metabolism and Pharmacokinetics. – 2013. – Vol. 38. – P. 15-25.

УДК 615.454.1:001.893.54:618.173:582.635.38**О. С. Сініцина, І. М. Риженко, Г. В. Зайченко, М. Л. Бавикіна****РЕДУКЦІЯ СИМПТОМІВ ГІПОЕСТРОГЕНІЇ У ОВАРІОЕКТОМОВАНИХ ЩУРІВ ПІД ВПЛИВОМ ВАГІНАЛЬНОГО ГЕЛЮ З ЕКСТРАКТОМ ШИШОК ХМЕЛЮ**

Проведені дослідження показали ефективність введення вагінального гелю з екстрактом шишок хмелю оваріоектомованим щурам, що проявлялося у помірному зниженні маси їх тіла, а також вираженому зменшенні частоти «припливів жару» і стабілізації температурної кривої, при цьому дещо поступаючись вагінальним супозиторіям з естріолом. Отримані результати дозволяють рекомендувати даний препарат, що містить фітоестрогени хмелю, для комплексної терапії вазомоторних порушень, які спостерігаються у жінок з гіпоестрогеновими розладами.

Ключові слова: оваріоектомовані самиці щурів; дефіцит естрогенів; «припливи жару»; гель з екстрактом шишок хмелю; фітоестрогени

UDC 615.454.1:001.893.54:618.173:582.635.38**O. S. Sinitsyna, I. M. Ryzhenko, G. V. Zaychenko, M. L. Bavykina****REDUCING SYMPTOMS GIPOESTROGENIYA HAVE OVARIOEKTOMIROVANNYH RATS UNDER THE INFLUENCE VAGINAL GEL WITH EXTRACTS OF HOPS**

The researches carried out have shown efficiency of introduction of vaginal gel with extract of hop cones in spayed rats, resulting in moderate reduction of their body weight and expressed decrease of “warmth” frequency and stabilization of the temperature curve, though yielding to vaginal suppositories with esteriol. The results allow to recommend this preparation with phytoestrogen for complex treatment of vasomotor disorders in women having hypoestrogenous disorders.

Key words: spayed rat females; deficit of estrogens; “warmth”; gel with extract of hop cones; phytoestrogens

Адреса для листування:
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 22.10.2015 р.