

# Wpływ niesteroidowych leków przeciwzapalnych na czynność ciała żółtego

MAŁGORZATA CHROSTOWSKA, JERZY JAROSZEWSKI, WŁODZIMIERZ MARKIEWICZ

Zespół Farmakologii Katedry Patologii i Farmakologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM,  
ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn

Chrostowska M., Jaroszewski J., Markiewicz W.

## Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on corpus luteum function

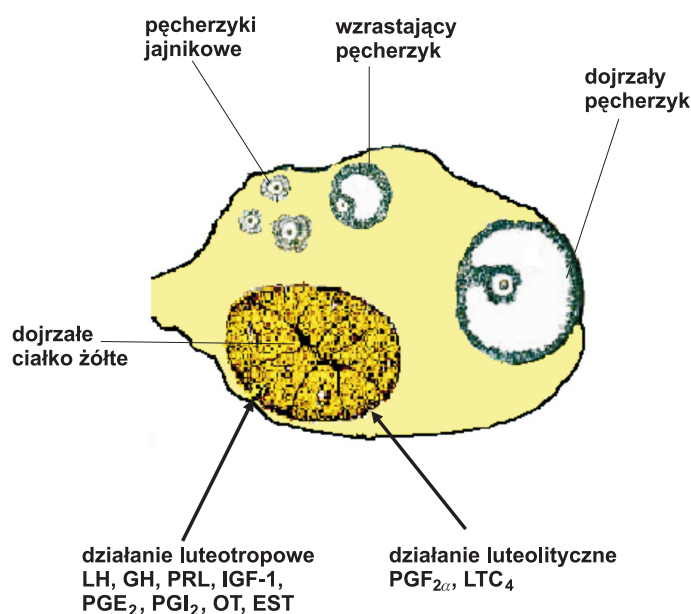
### Summary

Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are the most widely used drugs in both human and veterinary medicine. NSAIDs inhibit the enzyme cyclooxygenase in the arachidonic acid cascade. This mechanism results in a reduced or blocked synthesis of prostaglandins. Eicosanoids are very important for reproduction and their inhibition by NSAIDs may cause disorders in the ovarian cycle. The article summarizes the latest knowledge about the effects of NSAIDs on corpus luteum function.

**Keywords:** corpus luteum, prostaglandins, non-steroidal drugs

Ciało żółte (corpus luteum – CL) jest gruczołem wydzielania wewnętrznego powstającym w jajniku z pęcherzyka poowulacyjnego. Dojrzałe CL zbudowane jest z dwóch typów komórek steroidogenicznych: dużych komórek lutealnych pochodzących z warstwy ziarnistej i małych komórek lutealnych powstających z komórek osłonki. Głównym hormonem wydzielanym przez CL jest progesteron ( $P_4$ ), który jest niezbędny do utrzymania ciąży, jak również do zapewnienia cykliczności u większości gatunków ssaków (5). Nieprawidłowości w wydzielaniu hormonów przez CL prowadzą do wielu dysfunkcji związanych z reprodukcją, takich jak niepłodność, poronienia czy zaburzenia cyklu rujowego (25). Czas trwania CL warunkowany jest przez trzy następujące po sobie okresy, tj. fazę wzrostu, funkcjonalną oraz okołoluteoliczną i towarzyszą temu istotne zmiany w wydzielaniu  $P_4$ . Jeżeli nie dojdzie do zapłodnienia, CL musi ulec regresji, aby pozwolić na wzrost kolejnego pęcherzyka i owulację, dzięki czemu cykl jajnikowy rozpoczyna się na nowo (25). Prawidłowa funkcja wydzielnicza tego gruczołu jest wypadkową oddziaływania (w drodze auto-, parai endokrynnej) szeregu endogennych czynników luteotropowych i luteolitycznych (5), co schematycznie przedstawia ryc. 1. Poza tym wydzielanie w CL może być regulowane przez liczne substancje endogenne, takie jak hormony steroidowe, prostaglandyny, jak również niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ).

Zróznicowane pod względem budowy chemicznej NLPZ należą do leków często stosowanych zarówno w medycynie ludzkiej, jak i weterynaryjnej. Główny mechanizm ich działania związany jest z hamowaniem aktywności cyklooksygenazy (COX), co prowadzi do obniżenia lub zablokowania syntezy prostaglandyn (PGs) w cyklu przemian kwasu arachidonowego (12). Z uwagi na takie działanie NLPZ wywierają efekt przeciwzapalny, przeciwgorączkowy i przeciwbólowy.



**Ryc. 1.** Czynniki luteotropowe (LH – hormon luteinizujący, GH – hormon wzrostu, PRL – prolaktyna, IGF-1 – insulino-podobny czynnik wzrostu,  $PGE_2$  – prostaglandyna  $E_2$ ,  $PGI_2$  – prostaglandyna  $I_2$ , OT – oksytocyna, EST – estrogeny) i luteolityczne ( $PGF_{2\alpha}$  – prostaglandyna  $F_{2\alpha}$ ,  $LTC_4$  – leukotrien  $C_4$ ) wpływające na czynność ciała żółtego

W organizmie ssaków stwierdzono obecność trzech izoform cyklooksygenazy, różniących się miejscem ekspresji i działaniem, przy czym aktualnie poznana jest rola dwóch izoenzymów: COX-1 i COX-2 (12). Ekspresję COX-1 (określanej również jako izoforma konstytutywna) stwierdzono niemal we wszystkich tkankach ssaków, a PGs powstające przy udziale tego enzymu warunkują homeostazę organizmu i prawidłowy przebieg procesów fizjologicznych. Z kolei aktywność COX-2 indukowana

jest przez cytokiny, mitogeny oraz endotoksyny i jest obserwowana głównie w stanach zapalnych (33).

Pomimo tego, że PGs są mediatorami reakcji zapalnej odgrywają one również ważną rolę w regulacji wielu procesów fizjologicznych, włączając cykl jajnikowy ssaków. Dlatego NLPZ, poprzez oddziaływanie na syntezę PGs, mogą zaburzać uwalnianie dojrzałego oocytu, prowadzić do niepowodzenia procesu owulacji i powstania syndromu niepękniętego złuteinizowanego pęcherzyka (luteinised unruptured follicle – LUF) (8, 9). Wpływ NLPZ na owulację i proces powstawania CL został opisany wcześniej przez Chrostowską i wsp. (9). W niniejszym opracowaniu przedstawiono charakterystykę oddziaływania NLPZ na czynność wydzielniczą ciała żółtego oraz proces lutealnej regresji.

### Czynniki warunkujące funkcjonowanie CL

U wielu gatunków zwierząt prawidłowy rozwój i czynność CL warunkowane są przez hormony części gruczołowej przysadki mózgowej, tj. hormon luteinizujący (luteotropic hormone – LH) i somatotropowy hormon wzrostu (growth hormone – GH). Za substancje luteotropowe uznaje się również: laktogenny hormon prolaktynę, insulinopodobny czynnik wzrostu i wytwarzaną w części nerwowej przysadki oksytocynę (OT) (25). U niektórych gatunków zwierząt, m.in. szczurów, królików i świń funkcję taką pełnią także estrogeny, a estradiol jest głównym hormonem luteinizującym (13). Istotne dla prawidłowego funkcjonowania CL są również PGE<sub>2</sub> oraz PGI<sub>2</sub>. Najwyższy ich poziom obserwuje się we wczesnej fazie lutealnej (24), a Homeida i El-Ekna (14) wykazali, że podanie antagonistów OT powoduje opóźnienie powstawania CL poprzez supresję syntezy PGI<sub>2</sub>. Dodanie PGI<sub>2</sub> do komórek lutealnych krów, owiec i ludzi powodowało zwiększoną sekrecję P<sub>4</sub> (4, 6), przy czym wewnątrzkomórkowy mechanizm regulujący ten proces nadal pozostaje niewyjaśniony. Również PGE<sub>2</sub> wzmacnia produkcję P<sub>4</sub> w komórkach lutealnych krów i owiec (25).

Procesem decydującym o długości trwania CL jest lutealna regresja, która cechuje się utratą zdolności komórek lutealnych do syntetyzowania i wydzielania P<sub>4</sub> (21). U większości gatunków ssaków regresja CL zależna jest od obecności funkcjonalnej macicy. Wykazano, że histerektomia u jałówek, owiec, świń, świń morskich i wielu innych gatunków (z wyjątkiem naczelnych) powoduje znaczne opóźnienie tego procesu (25). Głównym czynnikiem indukującym proces luteolizy jest maciczna PGF<sub>2α</sub> (20), a regresję CL, inicjowaną przez PGF<sub>2α</sub>, obserwowano m.in. u owiec (34), bydła (31), szczurów (28) i świń morskich (7). Synteza i wydzielanie przez macicę luteolitycznie działającej PGF<sub>2α</sub> jest u wielu gatunków zwierząt (świń morskich, bydła, koni, świń i owiec) stymulowana przez OT (25). Ponadto wykazano, że PGF<sub>2α</sub> hamuje syntezę P<sub>4</sub> u krów, owiec, świń, ludzi, szczurów i królików poprzez obniżenie wrażliwości receptorów na czynniki luteotropowe oraz hamowanie transportu cholesterolu, który jest niezbędny do syntezy tego hormonu (25). Wyniki badań ostatnich lat wskazują, że do czynników luteolitycznych należy również leukotrien C<sub>4</sub> (LTC<sub>4</sub>) oraz tlenek azotu (16).

### Wpływ NLPZ na ciało żółte

Istotna rola PGs, zarówno w procesie powstawania, jak i regresji CL, daje podstawy by sądzić, że NLPZ, które hamują syntezę prostanoidów, mogą wpływać na funkcję wydzielniczą i czas trwania tego gruczołu.

Powstanie w pełni funkcjonalnego CL jest zależne w dużym stopniu od wzrostu nowych naczyń krwionośnych (25). Badania przeprowadzone przez Milvae i Hansela (24) wykazały, że domaciczne podanie indometacyny (40 mg 2 × dziennie od 4. do 6. dnia cyklu rujowego) hamuje rozwój CL i znacznie obniża stężenie P<sub>4</sub> w osoczu. Autorzy sugerują, że przyczyną tego zjawiska jest zahamowanie syntezy PGI<sub>2</sub>, niezbędnej do prawidłowej angiogenezy w kształtującym się CL. Założenia te zostały poparte wynikami badań Sakurei i wsp. (29), w których wykazano, że podanie NS-398, selektywnego inhibitora COX-2 lub indometacyny hamuje powstawanie naczyń w CL szczurów, przy czym efekt ten był silniej wyrażony po zastosowaniu NS-398. Brak wpływu SC-560, selektywnego inhibitora COX-1, na tworzenie CL oraz większa skuteczność NS-398 w porównaniu z indometacyną sugerują, że czynnikiem warunkującym prawidłową angiogenezę jest COX-2, jednak mechanizm działania tego enzymu pozostaje nadal niewyjaśniony (29). Nieprawidłowości objawiające się znacznym skróceniem długości cyklu (od 1 do 8 dni) oraz fazy lutealnej wykazano u kobiet, które otrzymywały 3 g kwasu acetylosalicylowego przez 20 dni, począwszy od 5. dnia cyklu (32). NLPZ, podane w fazie lutealnej, wywierają swój wpływ na CL nie tylko przez oddziaływanie na rozwój naczyń krwionośnych, ale mogą także hamować wydzielanie gonadotropin z przysadki, ponieważ proces ten jest również regulowany przez PGs. Zatem podanie NLPZ może prowadzić pośrednio do zniesienia działania luteotropowego hormonów przysadkowych.

Odmienne wpływ na funkcję CL mają NLPZ podane w fazie środkowo- lub późnolutealnej. Horton i Poysler (15) już w latach siedemdziesiątych zaobserwowali, że podskórne podanie indometacyny w dawce 10 mg dwukrotnie w ciągu doby wydłużało cykl rujowy świńek morskich o ok. 3 dni, zaś domaciczne podanie tego leku (33 mg do każdego rogu) wywierało jeszcze silniejszy efekt, przedłużając cykl do 51-75 dni. Autorzy sugerowali, że efekt ten był wynikiem hamowania biosyntezy PGF<sub>2α</sub> odpowiedzialnej za regresję CL i tym samym za zakończenie cyklu rujowego. Również u owiec domaciczna infuzja 20 mg indometacyny dwukrotnie w ciągu doby przez 6 dni (od 12 do 17 dnia cyklu) skutecznie zapobiegała luteolizie i podtrzymywała wydzielanie P<sub>4</sub> do 18. dnia cyklu, podczas gdy poziom tego hormonu w grupie kontrolnej obniżał się istotnie począwszy od 14. dnia cyklu. Dawka domaciczna (40 mg 2 × dziennie przez 8 dni) hamowała regresję CL u jałówek (19). Z kolei w badaniach przeprowadzonych przez Mellin i Busch (22) nie stwierdzono istotnego wpływu NLPZ (aspiryny, kwas flufenamowego) podanych p.o. lub i.m., na długość cyklu rujowego u owiec. Autorzy sugerowali, że inhibitory syntezy PGs silniej oddziałują na mechanizmy luteolityczne po ich bezpośrednim podaniu do macicy. Nowsze badania wykazały jednak skuteczność NLPZ (megluminianu fluniksyny w dawce 2,2 mg/kg

m.c.) w zapobieganiu regresji CL u owiec, zarówno po podaniu doustnym (4 × dziennie przez 9 dni począwszy od 11. dnia cyklu) (26), jak i parenteralnym (2 × dziennie przez 8 dni od 14. dnia cyklu) (3), oraz u lam po podaniu dożylnym (2,2 mg/kg m.c. co 6 godz. od 6. do 12. dnia cyklu) (1). Stosunkowo niewielkie wydłużenie cyklu u owiec (ok. 2 dni) po podaniu dożylnym autorzy tłumaczą tym, że lek zaczęto podawać 11. dnia cyklu, w momencie gdy zaobserwowano już obniżenie się stężenia  $P_4$ , co znaczyło, że proces luteolizy już się rozpoczął, a tym samym możliwe było już tylko jego opóźnienie. Wykluczono hipotezę, że zastosowana dawka fluniksyny (2,2 mg/kg m.c.) była zbyt niska, ponieważ została ona uznana za wystarczającą do zahamowania wydzielania  $PGF_{2\alpha}$  (2). Również indometacyna (10 mg/kg m.c.) podawana między 10.-13. lub 14.-17. dniem cyklu u macior znacznie wydłużała cykl rujowy (17). Dłuższy czas trwania CL po indometacynie zaobserwowano także u królików (11), szczurów oraz chomików (18).

NLPZ wpływają na funkcję CL nie tylko przez bezpośrednie hamowanie syntezy  $PGF_{2\alpha}$ . Udokumentowano obniżenie poziomu OT po podaniu kozom w fazie lutealnej indometacyny (w dawce 10 mg/kg m.c.) (10). Jest to o tyle istotne, że – jak już wcześniej wspomniano – OT stymuluje wydzielanie macicznej  $PGF_{2\alpha}$  (27). Nie wyjaśnione natomiast pozostaje fizjologiczne znaczenie miejscowo produkowanych PGs w regulacji czynności CL u naczelnych. Podanie we wlewie ciągłym do CL (100 µg/h) meklofenamatu u małą przez 7 dni znacznie obniżyło poziom  $P_4$  oraz skróciło fazę lutealną. W przeciwieństwie do tego podanie tej samej dawki leku do żyły jarzmowej nie wywierało takiego efektu, co sugeruje luteotropową rolę lokalnie produkowanych metabolitów kwasu arachidonowego (30). Istotne obniżenie poziomu  $P_4$  obserwowano również w hodowli komórek lutealnych małą po infuzji meklofenamatu (w dawce 100 µM) (35).

Wyniki dotychczasowych badań jednoznacznie wskazują na istotny wpływ NLPZ na układ rozrodczy. Poprzez zahamowanie syntezy PGs leki te wpływają na rozwój pęcherzyków, owulację czy wreszcie funkcjonowanie CL. Ze względu na szerokie zastosowanie NLPZ celowe wydaje się prowadzenie dalszych badań, które przyczynią się do pełnego wyjaśnienia ich wpływu na funkcjonowanie jajnika zwierząt.

## Piśmiennictwo

1. *Aba M. A., Kindahl H., Forsberg M., Quiroga M., Auza N.*: Levels of progesterone and changes in prostaglandin  $F_{2\alpha}$  release during luteolysis and early pregnancy in llamas and the effect of treatment with flunixin meglumine. *Anim. Reprod. Sci.* 2000, 59, 87-97.
2. *Aiumlamai S., Odensvick K., Stabenfeldt G., Kindahl H.*: Regulation of prostaglandin biosynthesis with flunixin meglumine in bovine species. *J. Vet. Med.* 1990, 37, 16-22.
3. *Ake-Lopez R., Segura-Correa J. C., Quintal-Franco J.*: Effect of flunixin meglumine on the corpus luteum and possible prevention of embryonic loss in Pelibuey ewes. *Small Ruminant Research* 2005, 59, 83-87.
4. *Alila H. W., Corradino R. A., Hansel W.*: A comparison of the effects of cyclooxygenase prostanoids on progesterone production by small and large bovine luteal cells. *Prostaglandins* 1988, 82, 259-270.
5. *Arosh J. A., Banu S. K., Chapdelaine P., Madore E., Sirois J., Fortier M. A.*: Prostaglandin biosynthesis, transport, and signaling in corpus luteum: a basis for autoregulation of luteal function. *Endocrinology* 2004, 145, 2551-2560.
6. *Bennegard-Eden B., Hahlin M., Hamberger L.*: Luteotropic effects of prostaglandin  $I_2$  and  $D_2$  on isolated human corpora luteum. *Fertil. Steril.* 1990, 54, 459-464.

7. *Blatchley F. R., Donovan B. T., Horton E. W., Poysner N. L.*: The release of prostaglandins and progesterin into the utero-ovarian venous blood of guinea-pigs during the oestrous cycle and following oestrogen treatment. *J. Physiol.* 1972, 223, 69-88.
8. *Chrostowska M., Barański W., Markiewicz W., Maślanka T., Jaroszewski J., Janowski T.*: Influence of meloxicam on the ovulation in heifers. The 4<sup>th</sup> Symp. Soc. Biol. Reprod. & Joint Pol.-Jap. Seminar, Kraków 2005, s. 42.
9. *Chrostowska M., Jaroszewski J. J., Maślanka T.*: Wpływ niesteroidowych leków przeciwzapalnych na owulację i tworzenie ciała żółtego. *Medycyna Wet.* 2005, 61, 865-869.
10. *Cooke R. G., Homeida A. M.*: Delayed luteolysis and suppression of the pulsatile release of oxytocin after indomethacin treatment in the goat. *Res. Vet. Sci.* 1984, 36, 48-51.
11. *Davies I. J., Yoshinaga K., Ryan K. J.*: The effects of combined dexamethasone and indomethacin treatment on the outcome of pregnancy in the rabbit. *Biol. Reprod.* 1976, 15, 551-554.
12. *Hayes E. C., Rock J. A.*: COX-2 inhibitors and their role in gynecology. *Obstet. Gynecol. Surv.* 2002, 57, 768-780.
13. *Holt J. A.*: Regulation of progesterone production in the rabbit corpus luteum. *Biol. Reprod.* 1989, 40, 201-208.
14. *Homeida A. M., El-Ekhnah M. M.*: Inhibition of luteal function by oxytocin antagonist in goats (*Capra hircus*). *J. Reprod. Fertil.* 1992, 94, 279-285.
15. *Horton E. W., Poysner N. L.*: Elongation of oestrous cycle in the guinea-pig following subcutaneous or intra-uterine administration of indomethacin. 1973, 49, 98-105.
16. *Jaroszewski J. J., Skarżyński D. J., Hansel W.*: Nitric oxide as a local mediator of prostaglandin  $F_{2\alpha}$ -induced regression in bovine corpus luteum: an in vivo study. *Exp. Biol. Med.* 2003, 228, 1057-1062.
17. *Kraeling R. R., Rampacek G. B., Kiser T. E.*: Corpus luteum function after indomethacin treatment during the estrous cycle and following hysterectomy in the gilt. *Biol. Reprod.* 1981, 25, 511-518.
18. *Lau I. F., Saksena S. K., Chang M. C.*: Effects of indomethacin, an inhibitor of prostaglandin biosynthesis, on the length of pseudopregnancy in rat and hamsters. *Acta Endocrinol.* 1975, 78, 343-348.
19. *Lewis P. E., Warren J. E. Jr.*: Effect of indomethacin on luteal function in ewes and heifers. 1977, 46, 763-767.
20. *McCracken J. A., Glew M. E., Scaramuzzi R. J.*: Corpus luteum regression induced by prostaglandin  $F_{2\alpha}$ . *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1970, 30, 544-547.
21. *McGuire W. J., Juengel J. L., Niswender G. D.*: Protein kinase C second messenger system mediates the antisteroidogenic effects of prostaglandin  $F_{2\alpha}$  in the ovine corpus luteum in vivo. *Biol. Reprod.* 1994, 51, 800-806.
22. *Mellin T. N., Busch R. D.*: Corpus luteum function in the ewe: effect of  $PGF_{2\alpha}$  and prostaglandin synthetase inhibitors. *Prostaglandins* 1976, 12, 303-314.
23. *Milvae R. A., Hansel W.*: The effects of prostacyclin ( $PGL_2$ ) and 6-keto- $PGF_{1\alpha}$  on bovine plasma progesterone and LH concentrations. *Prostaglandins* 1980, 20, 641-647.
24. *Milvae R. A., Hansel W.*: Inhibition of bovine luteal function by indomethacin. *J. Anim. Sci.* 1985, 60, 528-531.
25. *Niswender G. D., Juengel J. L., Silva P. J., Rollyson M. K., McIntush E. W.*: Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol. Rev.* 2000, 80, 1-29.
26. *Odensvik K., Gustafsson H., Kindahl H.*: The effect of oral administration of flunixin on luteolysis in heifers. *Thierogenology* 1997, 1, 148.
27. *Roberts J. S., Barcikowski B., Wilson L. Jr., Skarnes R. C., McCracken J. A.*: Hormonal and related factors affecting the release of  $PGF_{2\alpha}$  from the uterus. *J. Steroid. Biochem.* 1975, 6, 1091-1097.
28. *Saksena S. K., Shaikh S. A., Shaikh A. A.*: Uterine and peripheral plasma  $F$ -prostaglandins correlated with peripheral progesterone in cyclic rats. *Prostaglandins* 1973, 4, 243-249.
29. *Sakurai T., Tamura K., Okamoto S., Hara T., Kogo H.*: Possible role of cyclooxygenase II in the acquisition of ovarian luteal function in rodents. 2003, 69, 835-842.
30. *Sargent E. L., Baughman W. L., Novy M. J., Stouffer R. L.*: Intraluteal infusion of a prostaglandin synthesis inhibitor, sodium meclofenamate, causes premature luteolysis in rhesus monkeys. *Endocrinology* 1988, 123, 2261-2269.
31. *Shemesh M., Hansel W.*: Levels of prostaglandin F (PGF) in bovine endometrium, uterine venous, ovarian arterial and jugular plasma during the estrous cycle. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1975, 148, 123-126.
32. *Souka A. R., Medhat M., Rahman H. A., Osman M., Sokkary H. E.*: Effect of aspirin of the luteal phase of human menstrual cycle. *Contraception* 1984, 29, 181-188.
33. *Stone S., Khamastha M. A., Nelson-Piercy C.*: Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and reversible female infertility: is there a link? *Drug Saf.* 2002, 25, 545-551.
34. *Thorburn G. D., Cox R. J., Currie W. B., Restall B. J., Schneider W.*: Prostaglandin F concentration in the utero-ovarian venous plasma of the ewe during the oestrous cycle. *J. Endocrinol.* 1972, 53, 231-232.
35. *Zelinski-Wooten M. B., Sargent E. L., Molskness T. A., Stouffer R. L.*: Disparate effects of the prostaglandin synthesis inhibitors, meclofenamate and flurbiprofen on monkey luteal tissue in vitro. *Endocrinology* 1990, 126, 1380-1387.