

Коррекция овуляторного цикла у старых самок-крыс под влиянием негормонального препарата Амберен

¹Е.И.Маевский, ¹М.Л.Учитель, ²А.Н. Мурашев, ²С.Г. Семушкина,
¹Л.А.Богданова

¹Учреждение Российской Академии наук Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пуцино, eim11@mail.ru;
142290, г. Пуцино Московской обл. ул. Институтская, 3. Тел. +7(4967) 732648

²Учреждение Российской Академии наук Институт биоорганической химии РАН (Филиал), Пуцино, murashev@fibkh.serpukhov.su

Резюме

Негормональная пищевая добавка Амберен, содержащая аминокислоты, аммониевые и другие соли янтарной и fumarовой кислот и небольшое количество витамина Е, вводилась в течение трехнедельного курса самкам крыс WKY и SHR в возрасте 16-21 месяцев, находящимся в фазе диэструса. Судя по микроскопии влагалищных мазков, Амберен существенно влиял на структуру эстрального цикла не у всех самок, а только у тех, которые имели беременность в анамнезе. Изменения эстрального цикла под влиянием Амберена заключались в значительном увеличении доли эструса и сокращении времени диэструса. Несмотря на относительно большие дозы сукцината в составе препарата, введении Амберена не сопровождалось подъемом артериального давления.

Ключевые слова: овуляторный цикл, старые крысы, субстраты энергетического обмена, рожавшие и нерожавшие самки.

Correction of an estral cycle at old female rats under influence of non hormonal preparation Amberen

¹E.I.Maevsky, ¹M.L.Uchitel, ²A.N.Murashev, ²S.G.Semishina, ¹L.A.Bogdanova

Institute of theoretical and experimental biophysics of Russian Academy of sciences, Branche of the Institute of bioorganic chemistry, Pushchino, Russia.
eim11@mail.ru; murashev@fibkh.serpukhov.su

Summary

Old inbred female rats WKY and SHR in the age of 16-21 month, which were in diestrus, had been given for three weeks a placebo or non hormonal food additive AMBEREN, containing some amino acids, ammonium and other salts of succinate and fumarate, and small doses of tocopherol. AMBEREN essentially influenced structure of estral cycle, according to microscopic picture of vaginal smears, but exclusively only at those female rats, who had earlier pregnancy. Estral cycle changes under AMBEREN influence consisted in significant increase in a share of estrus and in a reduction of diestrus time. Despite of rather big succinate doses in AMBEREN, its introduction was not accompanied by a rise of arterial blood pressure.

Ранее нами было показано, что в ранний постклимактерический период у самок мышей возможна коррекция овуляторного цикла препаратом Амберен, что проявляется в

нормализации длительности эстрального цикла, увеличении доли фазы эструса, в восстановлении структуры костей скелета, и в ряде случаев - репродуктивной активности [1]. В клинических плацебо контролируемых испытаниях выявлено благотворное действие препарата Амберен при патологическом течении климакса у женщин. Проведение курса препарата Амберен способствовало уменьшению частоты и выраженности «приливов», чувства тревожности, утомляемости, сонливости и бессонницы, реже наблюдались спонтанные подъемы артериального давления (АД), повышались работоспособность и настроение [1]. У большей части женщин в условиях климакса после курса Амберена выявлено существенное повышение концентрации эстрадиола в крови, при неизменном уровне фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов. По-видимому, это отражает особенности регуляции в оси гипоталамус-гипофиз-яичники, где определяющим фактором является не столько абсолютный уровень тропных гормонов, а режим их осцилляций [2].

Неожиданной находкой оказалось облегчение Амбереном явлений климактерического дискомфорта у женщин в отдаленный период: переживших вхождение в фазу климакса 10-15 лет тому назад. В связи с этим мы решили проверить в эксперименте, возможно ли проявление воздействия препарата Амберен на фоне почти замершего в диэструсе овуляторного цикла у старых самок крыс.

Цель исследования заключалась в проверке возможного влияния препарата АМБЕРЕН на течение овуляторного цикла у старых самок крыс.

Материалы и методы.

Исследования выполнены на 32 старых инбредных самках крыс, включающих 19 нормотензивных животных линии Wistar Kyito (WKY) и 13 генетически эквивалентных им спонтанно гипертензивных крыс линии SHR, отличающихся от WKY только фенотипически: по уровню АД. Животные группы WKY в течение всей жизни сохраняют нормальных цифры АД, тогда как у крыс линии SHR уже в возрасте 3-4 месяцев стойко повышается АД с последующим прогрессированием гипертензии и развитием атеросклероза сосудов. Вследствие этого продолжительность жизни, достигающая в среднем 2,5 лет у WKY, сокращается у животных SHR примерно на полгода. В эксперимент были взяты самки в возрасте от 16 до 21 месяца (средний возраст 18,8 месяца). В начале эксперимента средняя масса тела самок WKY составила 240 г, а самок SHR - 208 г. За 6 недель (по окончании курса плацебо или препарата Амберен) вес животных несколько возрос: у WKY до 247 г, а у SHR до 213 г. Среди взятых в эксперимент самок 16 перенесли по две беременности в возрасте от 4 до 7 месяцев, а 16 самок ни разу не рожали. Средний возраст самок с репродуктивным анамнезом составил 19,2 мес., а в группе нерожавших самок - 18,5 мес.

Эксперимент проводился в течение 6 недель. В первый 3 недели - животные обследовались без введения плацебо или препарата Амберен. Затем в течение 3 недель животные, разделенные случайным образом на контрольную и опытную группы, получали внутривенно раствор плацебо или препарата Амберен в дозе 5 мл на кг массы тела ежедневно. Разовая доза препарата Амберен составляла 40 мг на кг массы тела (в 8 раз больше, чем доза для человека, согласно предписанию Руководства для доклинических испытаний новых лекарственных препаратов, Минздрав, 2005 г). Каждые 1,5 недели: в начале, в середине и по окончании каждого 3 недельного этапа у животных измеряли величины систолического АД и частоту сердечных сокращений (ЧСС) неинвазивным непрямым методом с помощью хвостовой манжеты. Исходные значения АД у самок WKY составляли $121 \pm 9,0$ мм рт.ст., у самок SHR - $183 \pm 6,0$ мм рт.ст.

Ежедневно в 9 часов утра у каждой самки брали влагалищный мазок, чтобы определить фазу и закономерности протекания остаточного овуляторного цикла у отобранных в эксперимент животных.

Полученные данные обрабатывали с помощью параметрических и непараметрических критериев статистики.

Результаты.

У крыс линии WKY в течении эксперимента не происходило существенных отклонений АД. У животных линии SHR, получавших плацебо, наметилась тенденция к нарастанию величин АД до $197 \pm 3,0$ мм рт. ст. ($p > 0.05$). Однако, препарат АМБЕРЕН, содержащий сукцинат, от использования которого можно было ожидать подъема АД, судя по данным He at all.[3] и дискуссии [4], не вызывал дополнительной гипертензии, напротив, несколько препятствовал приросту АД по сравнению с контрольной группой: величины АД у SHR не превышали в среднем 189 ± 6.1 мм рт. ст. Величины ЧСС не претерпевали закономерных отклонений в обеих группах самок.

Овуляторный цикл в обеих группах (WKY и SHR) характеризовался исходно резко укороченной фазой эструса и удлиненным диэструсом по сравнению с животными

более молодого возраста, только что вошедшими в фазу климакса [1] при широком индивидуальном варьировании. Статистически значимых сдвигов в эстральном цикле вводимые Амберен или плацебо не инициировали ни у крыс WKY, ни у крыс SHR.

Однако при разделении животных на группы по признаку рожавшие – нерожавшие выявились статистически достоверные сдвиги в эстральном цикле под влиянием курса препарата Амберен, без сколько-нибудь заметных отклонений после введения плацебо. У рожавших самок (по две беременности в анамнезе) курс Амберена способствовал значительному удлинению фазы эструса и укорочению диэструса независимо от того, были ли это самки WKY или SHR (рис.1).

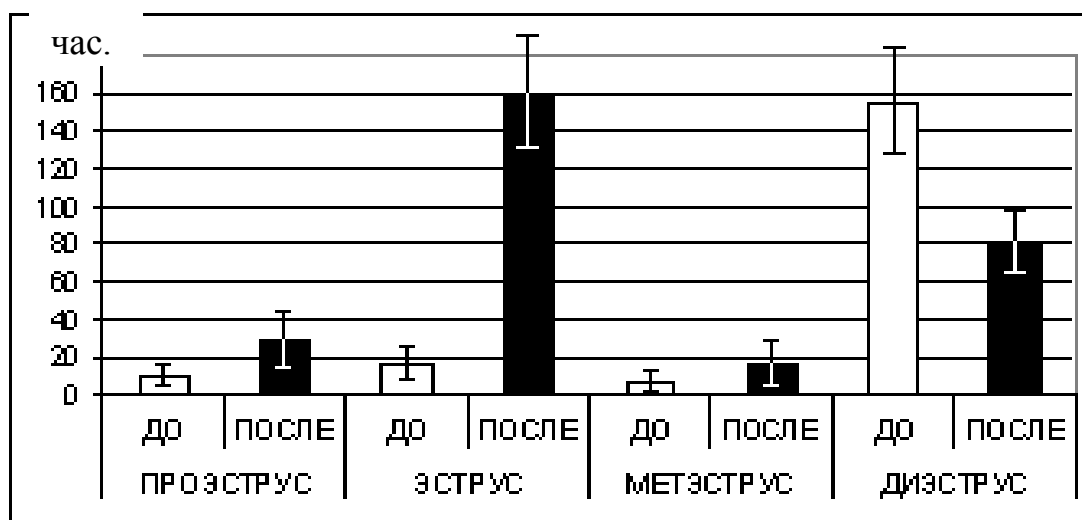


Рис.1. Изменения суммарной длительности (час) различных фаз овуляторного цикла за весь период обследования до приема препарата и после проведения курса Амберена у старых рожавших крыс. Приведены средние величины, и значения отклонений d , представляющих произведение t (при данном n) и ошибки средней вариационного ряда.

В группе нерожавших самок WKY и SHR (без репродуктивного анамнеза) ни препарат Амберен, ни плацебо не вызвали статистически значимых изменений гормонального статуса, отслеживаемого по влагалищным мазкам (рис.2).

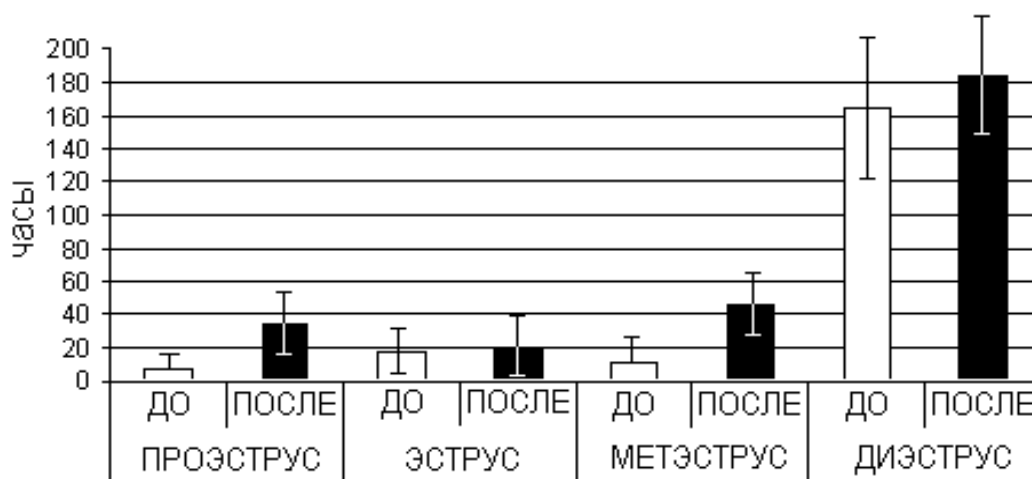


Рис.2. Суммарная длительность различных фаз овуляторного цикла у старых нерожавших крыс (WKY- 4 крысы и SHR- 4 крысы) до и после курса препарата Амберен.

Полученные данные свидетельствуют о достоверной активации фазы эструса и укорочении диэструса у рожавших крыс, тогда как у нерожавших животных подобных отклонений не наблюдалось.

Обсуждение

В процессе беременности гормональная система млекопитающих дополняется, во-первых, плацентой и, во-вторых, гормональной системой растущего плода. Формируется фето-плацентарно-материнская система контроля и продукции гормонов. Только за счет гормонпродуцирующей активности плаценты происходит 100-1000-кратное приращение уровня половых гормонов, резчайший всплеск уровня фолликулостимулирующего, лютеинизирующего, адренокортикотропного и хориоганального гормонов, кортикостероидов, катехоламинов, пролактина и др. [2]. Эти изменения кардинальным образом преобразуют функционирование оси гипоталамус - гипофиз-периферические эндокринные железы беременной самки. Такое полимодальное и растянутое во времени изменение гормонального статуса, происходящей при беременности и последующем кормлении, в значительной мере обратим. В большинстве случаев беременность, роды и кормление обеспечивают некое обновление организма, хотя это и не возврат к более «юному» гормональному статусу на кривой онтогенетического развития. Перенесенный репродуктивный процесс формирует иную «норму» и, по-видимому, нейроэндокринные перестройки, происходящие во время и после беременности, запускают или делают более лабильной всю систему нейроэндокринной регуляции. Судя по представленным нами данным, становится и более вероятным обращение элевационных сдвигов (по В.М.Дильману, 1974) даже в старости. В результате рожавшие самки оказались способными откликнуться на «призыв» терапии, проводимой с применением Амберена, в сторону некоторого снижения порога восприятия сигналов периферических эндокринных желез. В рамках теории В.М. Дильмана – это ключевой признак «омоложения». У нерожавших самок регуляция нейроэндокринной системы выглядит более ригидной. По-видимому, отсутствие опыта экстремальных сдвигов беременности сказывается в виде отсутствия механизма формирования упомянутой лабильности.

В итоге прием препарата Амберен вызвал некоторый сдвиг в сторону «омоложения» овуляторного цикла только у более лабильных самок, имевших репродуктивный анамнез.

Подчеркнем, что препарат Амберен не является гормональным средством. Он включает аминокислоты, аммониевые и другие соли янтарной и фумаровой кислот и весьма малые дозы витамина Е. Однако гормональный ответ организма на прием препарата Амберен сопоставим по силе с результатами гормональной терапии. Это свидетельствует о тесной и сложной взаимосвязи сигнальной функции интермедиатов энергетического и пластического обмена с системой нейроэндокринной регуляции, пока не укладывающейся в рамки сегодняшних представлений.

Напомним, что мы встречали благоприятные сдвиги под влиянием препарата Амберен в условиях «задержавшегося» постклимактерического симптомокомплекса у женщин в стадии стойкой менопаузы в возрасте 60 и 70, и более лет, имевших репродуктивный анамнез. Однако систематическая проверка этого явления на статистически репрезентативном материале потребует дополнительных клинических исследований.

Выводы:

1. Введение препарата АМБЕРЕН старым самкам крыс линии WKY и спонтанно гипертензивной линии SHR, не приводит к существенным изменениям артериального давления и частоты сердечных сокращений.

2. Введение препарата АМБЕРЕН старым самкам крыс линий WKY и SHR способствует увеличению фазы эструса и укорочению фазы диэструса лишь у тех животных, которые ранее перенесли беременность.

Литература:

1. Е.И.Маевский, А.Б.Песков, М.Л.Учитель, А.Г.Погорелов, Н.Ю. Сахарова, Е.Ф.Вихлянцева, Л.А.Богданова, М.Н.Кондрашова. Композиция на основе сукцината «омолаживает» стареющих мышечных волокон и смягчает симптомы менопаузы у женщин без гормональной заместительной терапии. // WWW.MEDLINE.RU: Биомедицинский журнал. т 8, ГЕРОНТОЛОГИЯ, ЭНДОКРИНОЛОГИЯ. СЕНТЯБРЬ 2007. Дата поступления: 28.08.2007. с. 497-517.
2. Физиология эндокринной системы, под ред Дж. Грифина, С. Охеды. Изд-во: М Юином, Лаборатория знаний. Перевод с английского под ред. А.С.Ахметова, 2008. 496 с. (Textbook of endocrine physiology. Fifth edition. Ed. J.E.Griffin, S R. Ollender, Oxford, 2004).
3. He W, Miao F, Lin D, Schwandner RT, Wang Z, Gao J, Chen et al. Citric acid cycle intermediates as ligands for orphan G-protein-coupled receptors. Nature 2004; **429**:188-193. 15.
4. Hebert SC. Physiology: Orphan detectors of metabolism. Nature 2004; **429**:143-145.
5. В.М.Дильман. Эндокринологическая онкология Медицина, М., 1974, 398 с.