

Оценка влияния негормональной сукцинат-содержащей композиции на уровень эстрадиола, фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов в крови женщин во время менопаузы.

Е.И.Маевский

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, Россия, Московская область, г. Пушкино. emaevsky@iteb.ru

РЕФЕРАТ

Выполнен повторно статистический анализ первичного цифрового материала ранее описанных плацебо-контролируемых клинических исследований воздействия сукцинат-содержащей композиции на гормональный и психо-эмоциональный статус женщин при развитии климактерического синдрома. Непараметрические критерии статистики оказались существенно информативнее, чем ранее использованный параметрический критерий t Стьюдента в связи с отсутствием нормального распределения в полученных выборках. Наиболее информативным оказался парный критерий знаков. Помимо обнаруженного ранее повышения уровня эстрадиола нами выявлен статистически значимый прирост концентраций ФСГ и ЛГ в крови женщин. Также установлено, что коррекция климактерического синдрома с помощью метаболической композиции не нарушила физиологических корреляционных соотношений между гормонами. В опытной и контрольной группах более высокому уровню эстрадиола соответствуют более низкие концентрации ФСГ и ЛГ в крови. Воздействие метаболической композиции на гормональный и психо-эмоциональный статус женщин зависело от начального состояния перед курсом метаболической коррекции. На фоне пониженного начального уровня эстрадиола в крови воздействие метаболитной терапии более выражено. Выполненное исследование подтвердило правило: при отсутствии нормального распределения в выборках анализируемых клинических данных стандартное использование параметрических критериев маскирует реальную картину событий и приводит к формированию некорректных выводов.

Ключевые слова:

Климактерический синдром. метаболитная коррекция, эстрадиол, фолликулостимулирующий гормон, лютеинизирующий гормон, эффективность непараметрической статистики.

Evaluation of effectiveness of a non-hormonal succinate-based composition on the levels of estradiol, follicle-stimulating and luteinizing hormones in women's blood during menopause.

E.I. Maevsky

The Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences» (ITEB RAS),
Russia, Moscow region, city of Pushino. emaevsky@iteb.ru

ABSTRACT

The repeated statistical analysis of the primary digital data from the previous placebo-controlled clinical study on the effects of a succinate-containing composition on the climacteric syndrome was carried out. Nonparametric statistics were significantly more informative than the previously used parametric Student's t-test, since there was no normal distribution in the obtained samples. Among the most informative was paired sign test. In addition to the previously observed increase in estradiol levels, we observed a statistically significant increase in the concentrations of LH and FSH. It was found that the correction of climacteric syndrome with the metabolic composition has not disturbed the physiological ratios between these hormones. In the experimental and control groups, higher levels of estradiol corresponded to lower concentrations of FSH and LH in the blood. Impact of the metabolic composition on the hormonal and psycho-emotional status of women depended on the initial hormonal and psycho-emotional state before the metabolic correction. The effects of metabolic composition were more pronounced when initial blood estradiol levels were low. In the absence of normal distributions in the samples of the analyzed clinical data, a standard use of parametric criteria masked the real picture and led to incorrect conclusions.

Keywords:

Climacteric syndrome. metabolite correction, estradiol, follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, effectiveness of nonparametric statistics.

ВВЕДЕНИЕ

Опубликованный ранее анализ результатов экспериментальных и плацебо-контролируемых клинических исследований [1] свидетельствовал о существенной коррекции с помощью негормональной сукцинат-содержащей композиции эстрального цикла и торможении развития остеопороза у самок крыс пострепродуктивного периода, а также о значимом ослаблении таких симптомов климактерического синдрома (КС) у женщин в возрасте 40-60 лет, как тревожность, нарушение сна, утомляемость, депрессия и др., встречающихся в 90% случаев при менопаузе [19]. Повторное обращение к результатам описанного ранее исследования обусловлено вопросом, возникшим по поводу возможной причины малой информативности - «стабильности» уровней ФСГ и ЛГ, несоответствующей более чем 4-х кратному повышению концентрации эстрадиола в крови женщин после трехнедельного приема субстратной композиции. Для того, чтобы разобраться в этом вопросе мы решили вновь проанализировать первичный цифровой материал выполненного ранее клинического исследования.

Опубликованное описание клинической части исследований основано на результатах статистической обработки первичного массива цифровой информации с помощью параметрического t критерия Стьюдента. Такая обработка широко используется в подавляющем большинстве медико-биологических работ без учета того, что абсолютно обязательным первоначальным требованием для применения t критерия Стьюдента является наличие нормального распределения в анализируемых выборках [2, 8, 11]. Ограниченное использование непараметрических критериев, очевидно, было обусловлено тем, что в регламентирующих документах до 2003 г. статистическая обработка доклинических и клинических данных с помощью непараметрических критериев статистики рассматривалась лишь как дополнительная процедура «для проверки гипотезы о различиях (или сходстве) между средними значениями». Тогда как по канонам статистики это альтернатива, жестко определяемая отсутствием нормального распределения в анализируемых выборках данных [2, 8, 11]. Искусственная нормализация выборки не простая задача [8] в биологических и тем более в клинических исследованиях. В эксперимента на лабораторных животных одного вида и пола, подборе особей, близких по возрасту, весу, условиям содержания и чувствительности к исследуемому воздействию,

жестком регламентировании условий формирования репрезентативных (по численности) контрольных и опытных групп удается получать данные, достаточно хорошо описываемые нормальным распределением более чем в 50% случаев. В клинических исследованиях, несмотря на существенно большие массивы данных, практически чрезвычайно трудно сформировать группы из близких по индивидуальным показателям пациентов, даже после тщательного отбора по антропометрическим характеристикам, полу, возрасту и множеству критериев включения и исключения, принимаемых согласно дизайну исследования, одобренному этическим комитетом. Соответственно обнаружение нормального распределения в клинических данных, скорее всего, редко встречающийся случай, чем реальная возможность.

В опубликованной статье [1], как и в большинстве биомедицинских работ, нет упоминания о характере распределения в полученных выборках данных. Поэтому, обратившись к первичной цифровой информации, прежде всего, мы посчитали необходимым проверить нормальность распределения в представленных выборках. При этом сохранялась надежда на то, что более адекватная статистическая обработка поможет выявить взаимосвязь между гормонами гипофиза и яичников: фолликулостимулирующим гормоном (ФСГ), лютеинизирующим гормоном (ЛГ) и эстрадиолом. Важно было узнать, не нарушаются ли межгормональные отношения, характеризующие состояние нейрогормональной регуляции в системе гипоталамус - гипофиз – яичники. Дисрегуляция физиологических межгормональных взаимоотношений является неизбежным следствием гормональной заместительной терапии (ГЗТ). В настоящее время ГЗТ (Hormone replacement therapy) принята в качестве стандарта лечения, предназначенного для ослабления и торможения развития неблагоприятных и патологических проявления КС [14]. При том, что ГЗТ далеко не всегда способствует торможению климактерического прогрессирования сердечно-сосудистых заболеваний, неврологических и когнитивных расстройств [13]. Более того, ГЗТ предопределяет, как правило, повышение риска развития гормонально-зависимых опухолей [10, 12]. Из-за высокого риска подобных осложнений рекомендуется использовать различные модификации ГЗТ и по возможности альтернативные средства для ослабления патологических проявления КС [4,17, 19, 21]. Этим в значительной мере обусловлен научный и практический интерес к исследованиям и использованию негормональных метаболических средств, способствующих облегчению течения КС.

Первоначальным стимулом к исследованию влияния сукцинат-содержащей композиции на течение КС стало открытие В.М.Дильманом, В.М.Анисимовым и

М.Н.Кондрашовой способности вводимого в организм сукцината восстанавливать чувствительность гипоталамуса к эстрогенам у старых овариоэктомированных самок крыс [7]. Падение чувствительности гипоталамуса к сигналам гормональной обратной связи является естественным признаком старения организма [5, 6]. Обнаруженное на фоне сукцинат-содержащей «метаболической терапии» восстановление чувствительности гипоталамуса к малым дозам эстрогенов, выполняющих роль сигналов отрицательной обратной связи, авторы исследования оценили как сдвиг в сторону омоложения организма. Мы рассмотрели эти представления в свете современных знаний о возможном механизме влияния сукцината на гипоталамус [3]. Особое место среди них занимает действие малых концентраций сукцината в качестве лиганда орфанового рецептора QPR91 [9] и стабилизатора гипоксии-индуцируемого фактора (HIF) [20].

Вышеизложенное инициировало проверку на имеющемся клиническом материале степени сохранности физиологических взаимоотношений между эстрадиолом, ФСГ и ЛГ после воздействия на организм женщин, находящихся в менопаузе, метаболической сукцинат-содержащая композиция.

Цель настоящей работы заключалась в анализе первичного цифрового материала, полученного ранее в ходе плацебо-контролируемого клинического исследования, для выявления изменений во взаимосвязи между уровнями эстрадиола, ФСГ и ЛГ у женщин в период менопаузы под воздействием курса негормональной метаболической сукцинат-содержащей композиции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исходным материалом послужила первичная цифровая документация по материалам выполненного и описанного ранее [1] плацебо-контролируемого клинического исследования по оценке воздействия сукцинат-содержащей композиции на фоне менопаузы. Первичную документацию в базе данных Microsoft Access нам любезно предоставили д.м.н. А.Б.Песков и М.Л.Учитель.

Для пояснения существа рассматриваемых материалов напомним наиболее важные на наш взгляд моменты ранее выполненного исследования [1].

Состав негормональной метаболической композиции был разрешен для клинического применения Институтом питания АМН РФ.

Все компоненты состава (табл. 1) были расфасованы в две быстрорастворимые желатиновые капсулы так, чтобы сукцинат аммония был изолирован от остальных

субстанций. Разделение компонентов по капсулам обусловлено способностью сукцината аммония уменьшать сохранность других компонентов при их совместном хранении.

Таблица 1. Состав негормональной метаболической композиции

Компонент	Количество
Содержимое белой капсулы	
Сукцинат аммония	200 мг
Содержимое цветной капсулы	
Витамин Е (92% масляный раствор токоферол ацетата)	8 мг
Цинк фумарат кислый гидрат - аквахелатная димерная форма	8 мг
Кальций сукцинат кислый - аквахелатная димерная форма	92 мг
Магний сукцинат кислый 4-х водный - аквахелатная димерная форма	20 мг
Глицин	32 мг
Моно-L-глутаминат натрия гидрат	40 мг
Общая масса субстанций в обеих капсулах составляет 400 мг	

Дизайн и методика выполненного ранее исследования:

Тип исследования: поисковое с применением рандомизации, плацебо-контроля и двойного слепого контроля; контрольные точки – суррогатные.

Цель клинического исследования: оценить возможность применения указанной в табл. 1 субстратной композиции для купирования проявлений КС без применения каких-либо гормональных и иных фармакологических препаратов.

Задачи исследования

- Из числа добровольцев, пожелавших участвовать в исследовании, соответствующих критериям диагноза КС и согласно ниже указанным критериям включения и исключения, выделить случайным образом 90 человек, причем 70 человек включить в основную группу и 20 – в контрольную.
- Оценить исходный клинический статус выбранного контингента пациенток (включая status objectivus communis, гинекологический статус, психический статус), используя численно выраженные показатели, адаптированные для оценки КС
- Изучить исходное субъективное состояние пациенток путем применения стандартизированных опросников, включая шкалу Купермана.
- Изучить исходный уровень основных половых гормонов у набранного контингента (концентрации в крови эстрадиола, фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и лютеинизирующего гормона (ЛГ)).

- Изучить исходный уровень показателей холестерина обмена, глюкозы, протромбина.
- Провести трехнедельный курс приема метаболической композиции (табл. 1) в основной группе, а в контрольной – прием картофельного крахмала, упакованного в такие же капсулы - плацебо.
- Изучить динамику вышеупомянутых показателей, включая клинические, лабораторные и инструментальные.

Хронология исследования

- Наблюдение за пациентом до назначения негормональной метаболической композиции – 14 дней.
- Динамическое наблюдение за пациентом на фоне приема негормональной метаболической композиции – 21 день.
- Наблюдение за пациентом по окончании курса приема негормональной метаболической композиции – 14 дней.
- Использованный при исследованиях режим применения: по 1 белой и 1 цветной капсуле 2 раза в день (в утренние и обеденные часы, во время приема пищи).

Критерии включения в исследование:

- Наличие верифицированного диагноза КС.
- Возраст 40-60 лет.

Критерии исключения из исследования:

- Наличие тяжелой экстрагенитальной соматической патологии.
- Наличие онкологических заболеваний.
- Наличие психических заболеваний.
- Постоянный прием лекарственных препаратов, направленных на лечение КС.

Явки пациентов:

- До начала приема негормональной метаболической композиции.
- На первой неделе приема негормональной метаболической композиции (контроль переносимости).
- На второй-третьей неделе приема негормональной метаболической композиции (предварительные результаты).
- По окончании 21-дневного курса приема негормональной метаболической композиции.

Протокол обследования

Программа полного обследования (первая и последняя явки):

.1 Оценка клинического статуса по методике Kupperman в модификации Е.В. Уваровой, включая осмотр гинеколога и психиатра.

.2 Уровень актуальной тревожности (АТ) оценивали по тесту Спилбергера-Ханина.

.3 Лабораторные исследования:

- Общий анализ крови (ОАК)
- Общий анализ мочи (ОАМ)

• Биохимическое исследование крови. С помощью анализатора БИОМ-01М определяли содержание в сыворотке крови общего холестерина, А-холестерина, триглицеридов, бета-липопротеидов, липопротеидов низкой плотности (ЛНП), липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП). Содержание общего белка, глюкозы – анализатором Hitachi, фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ) и эстрадиола – с помощью иммуноферментных наборов «ГонадотропинИФА – ФСГ», «ГонадотропинИФА – ЛГ», «Micropale Steroid Estradiol»). Одновременно определяли величину протромбинового индекса.

• Гормоны сыворотки крови (ФСГ, ЛГ, эстрадиол) определяли с помощью иммуноферментных наборов «ГонадотропинИФА – ФСГ», «ГонадотропинИФА – ЛГ», «Micropale Steroid Estradiol»)

.4 Инструментальные исследования:

- ЭКГ исследование проведено однократно, при первом обследовании.
- Ультразвуковое исследование (УЗИ) матки и придатков.
- УЗИ молочных желез исследование проведено однократно, при первом обследовании

Программа промежуточного обследования (вторая и третья явки):

- Осмотр врачом-консультантом с записью в Карте пациента и контролем ведения Анкеты-дневника пациента

Первичная документация исследования

- Анкеты-дневники пациентов
- Карты пациентов
- Протоколы лабораторных и инструментальных исследований
- Вся первичная документация включена в базу данных Microsoft Access.

Возрастная характеристика группы: от 40 до 45 лет – 9 пациенток; от 45 до 50 лет – 28; от 50 до 55 лет – 25; от 55 до 60 лет – 5; в возрасте 60-61 год – 3 чел.

Все полученные данные обрабатывали с помощью параметрических критериев средствами Microsoft Excel. Результаты были представлены в виде величин средних арифметических \pm доверительный интервал при $p=0.05$.

Таким образом, описание, представленное в статье [1], основано на результатах параметрической статистической обработки данных.

В настоящей работе для обработки тех же цифровых данных использовали программу Sigma plot и непараметрические критерии статистики, в частности критерий знаков (sign test - z) [2, 11].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проверка нормальности распределений

Для выявления соответствия анализируемых выборок нормальному распределению используют несколько способов: визуальные – графические, критерий χ^2 , критерий Колмогорова-Смирнова и др. Для облегчения восприятия мы предпочли графический способ и руководствовались известными правилами: «важнейшими характеристиками нормального распределения являются постепенное симметричное уменьшение частот по мере удаления от центра распределения», как это показано на рис.1, и «совпадение средней арифметической, моды и медианы» [2].

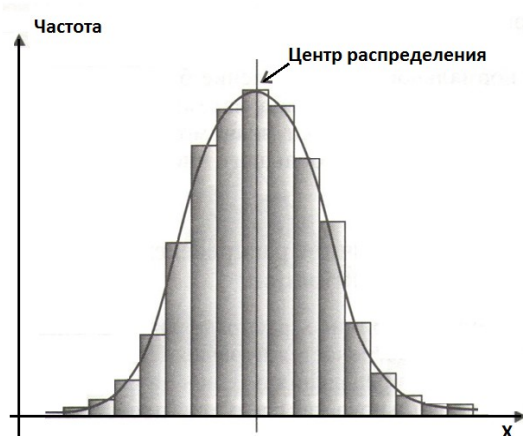


Рис.1 Гистограмма частоты признака (при отображении в виде интервалов значений X) при нормальном распределении данных [2, 8, 11].

Далее мы рассчитали стандартным образом статистические показатели средней (\bar{X}), медианы (M), стандартного отклонения (SD) и стандартной ошибки средней (SE) на основании выборок по содержанию эстрадиола, ФСГ и ЛГ в крови у обследованных женщин основной группы до и после приема негормональной метаболической композиции приведены или плацебо так, будто бы в анализируемых выборках имело место нормальное распределение данных.

Как видно, из приведенных в табл. 2 и 3 данных, расчетные показатели не соответствуют нормальному распределению. Значения средних не совпадают с величинами медиан. Величины стандартных отклонений столь велики, что приближаются к значениям средних. Малые величины стандартных ошибок средней не должны вводить в заблуждение, так как они вычисляются при относительно большой величине n, равной 63, по формуле

$$SE = SD/\sqrt{n}$$

Согласно формуле, чем больше n, тем меньше SE, но выборку это не улучшает. Именно величину SE обычно приводят вопреки статистическим канонам при описании данных в большинстве медико-биологических работ и умалчивают отсутствие определения нормальности распределения. Получаются, казалось бы, добротные расчетные величины средней и ошибки средней. В рассматриваемом нами предыдущем описании такое представление материала позволило зарегистрировать прирост концентрации эстрадиола после курса негормональной метаболической композиции с высоким уровнем значимости, но не выявило сколько-нибудь значимых сдвигов в концентрациях ФСГ и ЛГ в крови. В контрольной группе прием плацебо, напротив, сопровождался небольшой тенденцией к снижению концентрации эстрадиола и соответственно некоторым нарастанием концентраций ФСГ и ЛГ крови.

Таблица 2.

Значения концентрации эстрадиола, ФСГ и ЛГ в крови женщин основной группы до после курса приема негормональной метаболической композиции.

Статистические показатели	Начальный уровень			Конечный уровень		
	[Эстрадиол] пм/мл	[ФСГ] МЕ/л	[ЛГ] МЕ/л	[Эстрадиол] пм/мл	[ФСГ] МЕ/л	[ЛГ] МЕ/л
\bar{X}	76,54	43,15	20,75	274,22	50,28	25,15
M	44,57	35,21	16,70	150,00	49,91	21,08
SD	80,23	32,28	15,75	318,43	37,64	18,77
SE	10,11	4,07	1,98	43,74.	4,74	2,36

Таблица 3.

Значения концентрации эстрадиола, ФСГ и ЛГ в крови женщин контрольной группы до и после приема плацебо.

Статистические показатели	Начальный уровень			Конечный уровень		
	[Эстрадиол] пм/мл (n=19)	[ФСГ] МЕ/л (n=18)	[ЛГ] МЕ/л (n=20)	[Эстрадиол] пм/мл (n=19)	[ФСГ] МЕ/л (n=18)	[ЛГ] МЕ/л (n=20)
\bar{X}	68,54	43,40	19,31	57,44	53,18	28,05
M	19,41	35,93	14,61	54,05	61,25	23,34
SD	78,44	34,10	14,98	41,08	33,02	16,99
SE	18,00.	7,62	3,27	10,27	7,78	4,00

Графическое сравнение данных до и после курсового приема негормональной метаболической композиции по диаграммам Тьюки также свидетельствует лишь об увеличении после проведенного курса концентрации эстрадиола в крови, но не дает сколько-нибудь отчетливого представления об изменении концентраций ФСГ и ЛГ (рис.5).

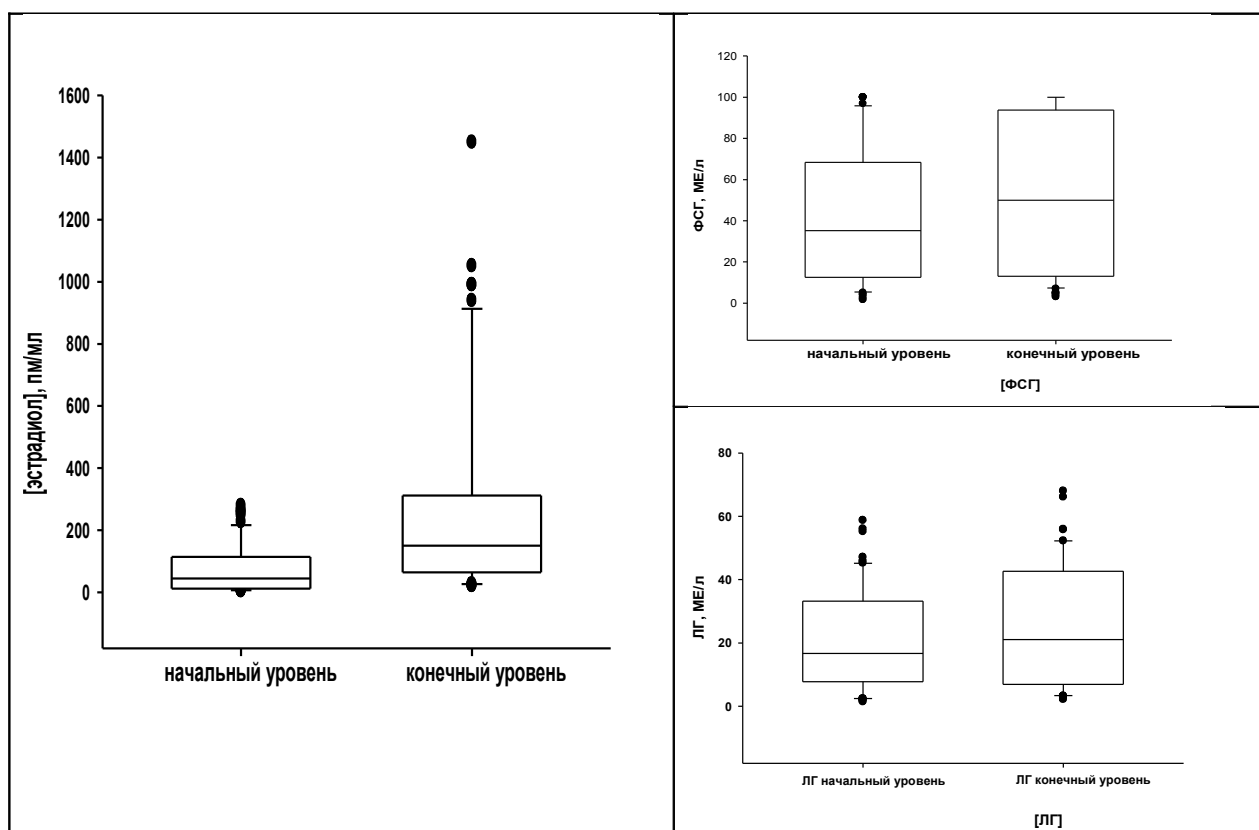


Рис. 2 Сравнение диаграмм Тьюки для концентраций эстрадиола, ФСГ и ЛГ в крови женщин основной группы до и после курса приема негормональной метаболической композиции.

Последующая проверка наличия нормальных распределений анализируемых показателей дала неудовлетворительные результаты. Полученные нами по тем же данным гистограммы распределений содержания эстрадиола, ФСГ и ЛГ (рис. 3) в крови у обследованных женщин до начала курса приема негормональной метаболической композиции далеки по своему виду от нормального распределения, показанного на рис.1. Как следует из вида гистограмм на рис.3, в основной группе начальные данные по содержанию в крови обследованных женщин эстрадиола, ФСГ и ЛГ ни коим образом не соответствуют представлениям о нормальном распределении также, как и приведенные в табл. 2 расчетные статистические показатели. Выборки по содержанию эстрадиола, ФСГ и ЛГ в крови женщин контрольной группы до приема плацебо (табл. 3, рис. 4) в той же мере далеки от нормального распределения.

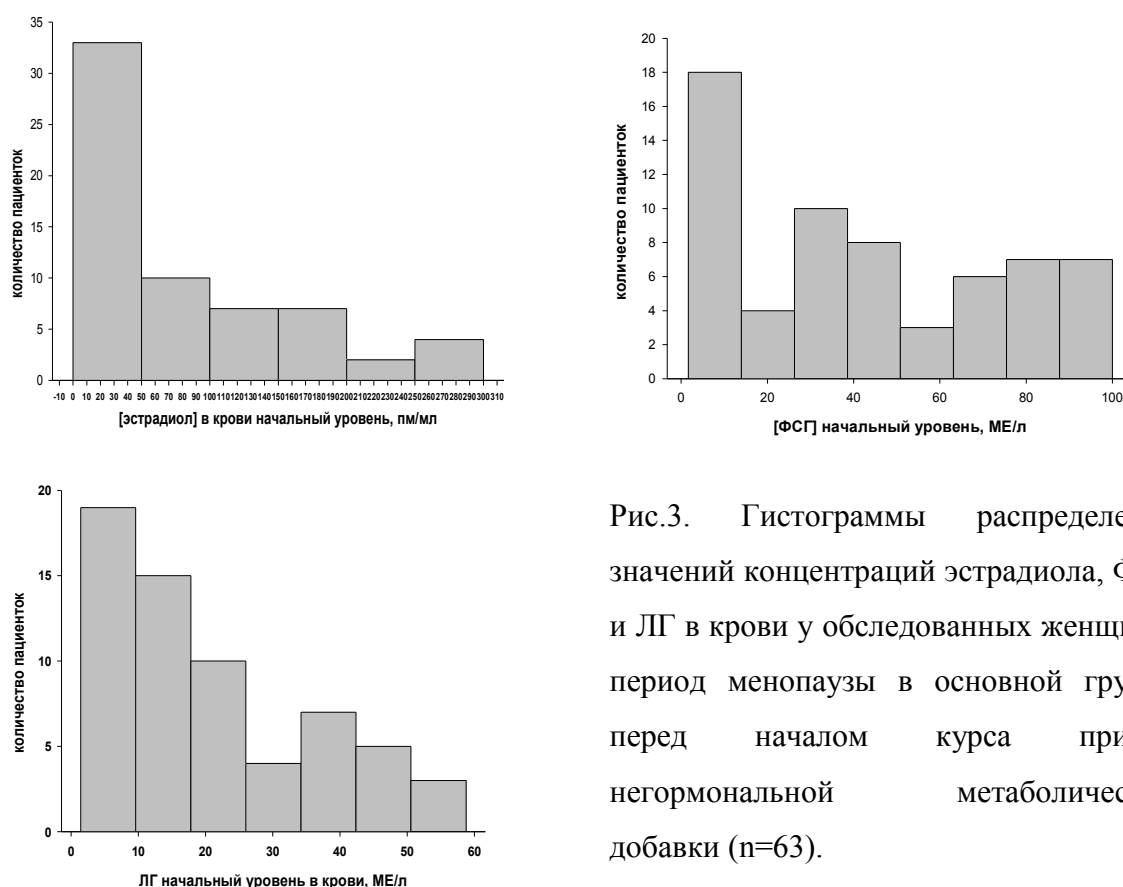


Рис.3. Гистограммы распределения значений концентраций эстрадиола, ФСГ и ЛГ в крови у обследованных женщин в период менопаузы в основной группе перед началом курса приема негормональной метаболической добавки (n=63).

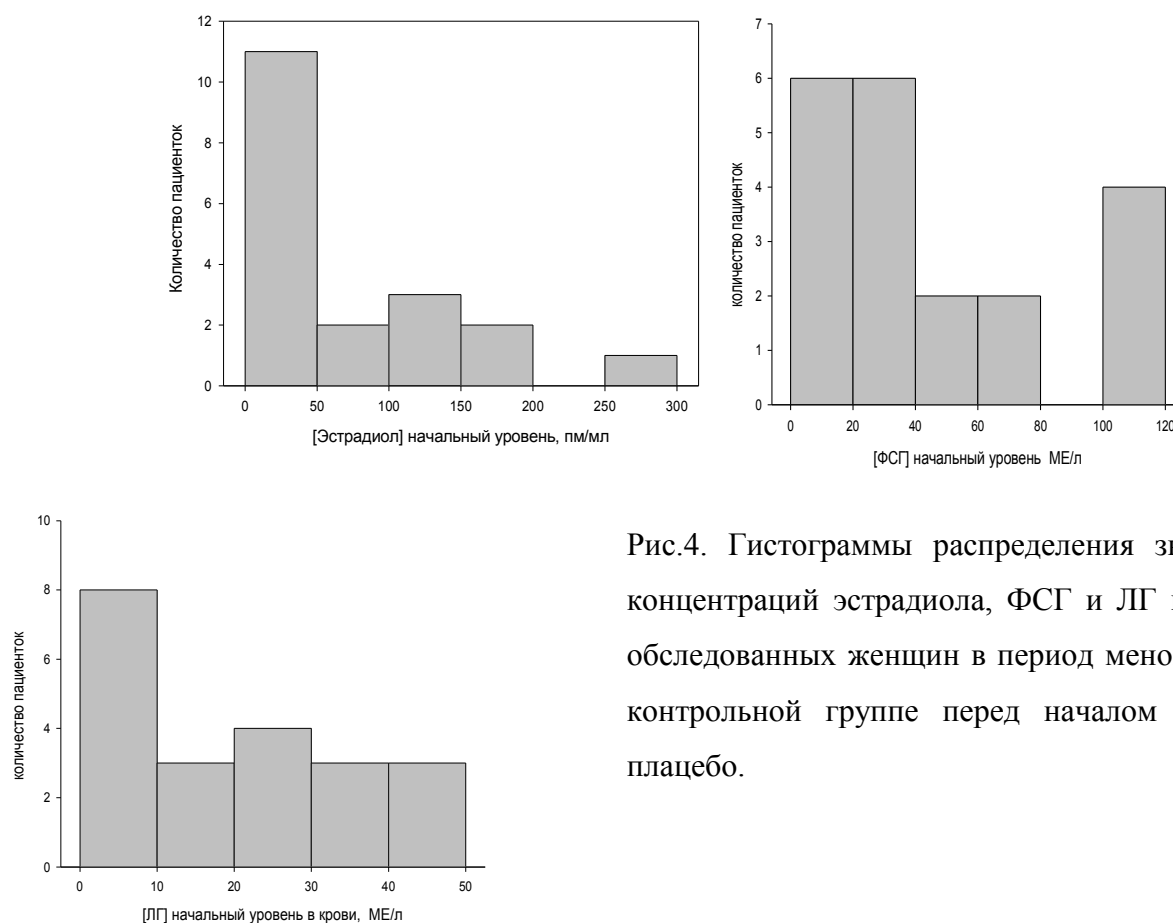


Рис.4. Гистограммы распределения значений концентраций эстрадиола, ФСГ и ЛГ в крови обследованных женщин в период менопаузы в контрольной группе перед началом приема плацебо.

Итак, ни одной проанализированной выборке нет нормального распределения в начальный период. Следовательно, использование критерия t Стьюдента для оценки и сравнения начальных показателей с последующими данными противопоказано и некорректно. Представленные начальные данные не позволяли ожидать после курса приема негормональной метаболической композиции или плацебо появления нормальных распределений в анализируемых выборках. Так и оказалось (рис. 5, 6).

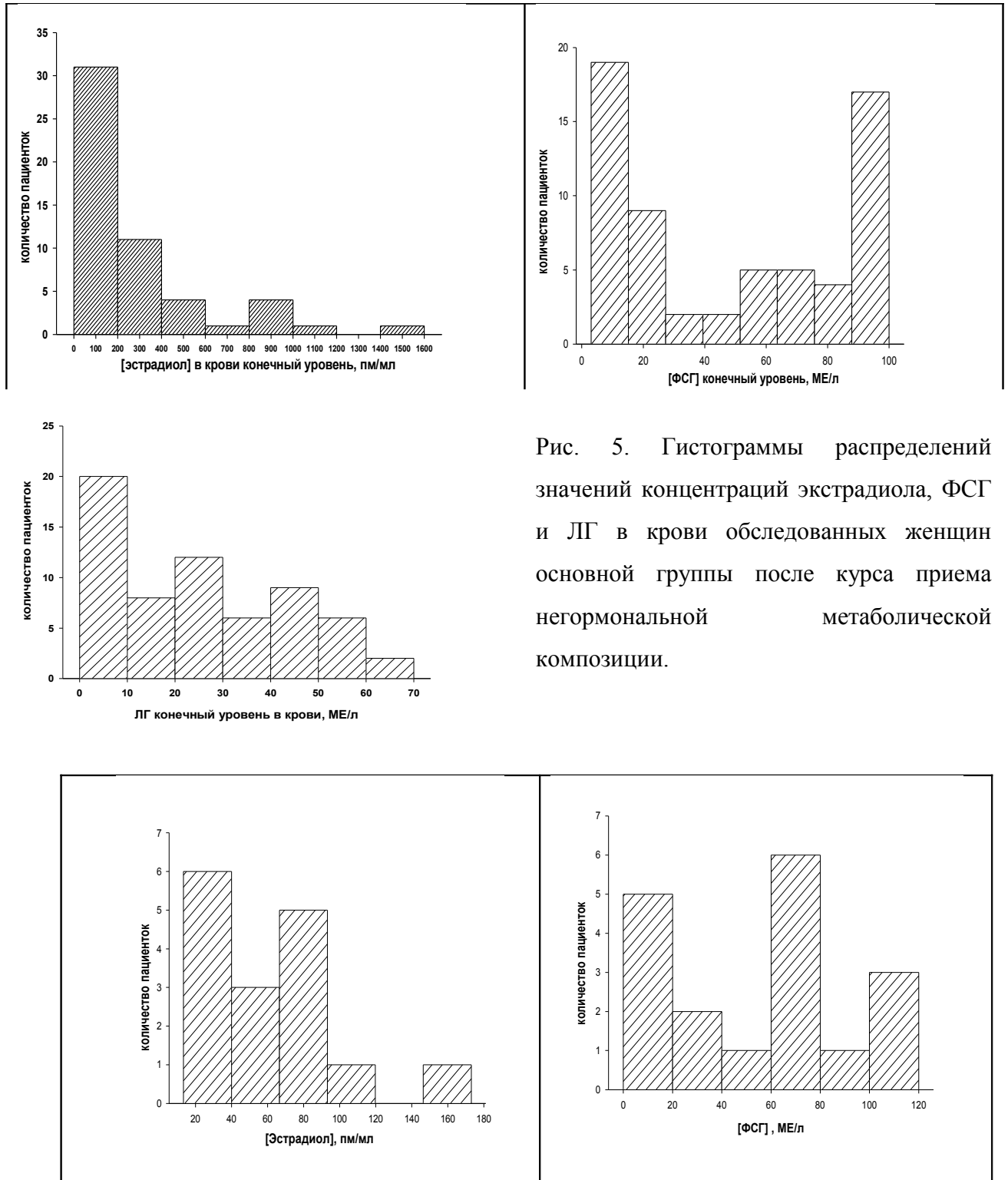


Рис. 5. Гистограммы распределений значений концентраций эстрадиола, ФСГ и ЛГ в крови обследованных женщин основной группы после курса приема негормональной метаболической композиции.

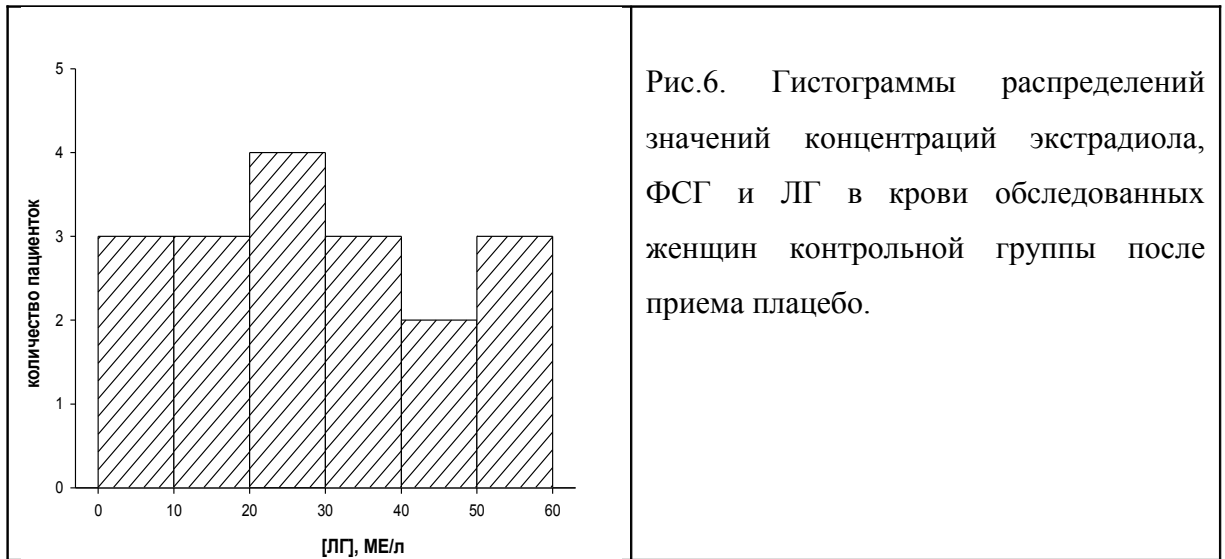


Рис.6. Гистограммы распределений значений концентраций эстрадиола, ФСГ и ЛГ в крови обследованных женщин контрольной группы после приема плацебо.

Графическое сравнение данных до и после курсового приема негормональной метаболической композиции по диаграммам Тьюки свидетельствует лишь об увеличении после проведенного курса концентрации эстрадиола в крови, но не дает сколько-нибудь отчетливого представления об изменении концентраций ФСГ и ЛГ в крови и демонстрирует отсутствие какой-либо динамики после курса плацебо (рис.7, 8).

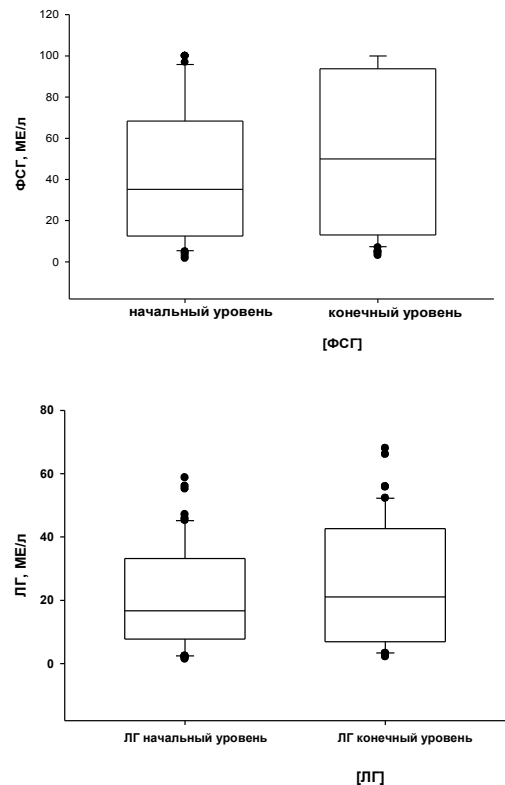
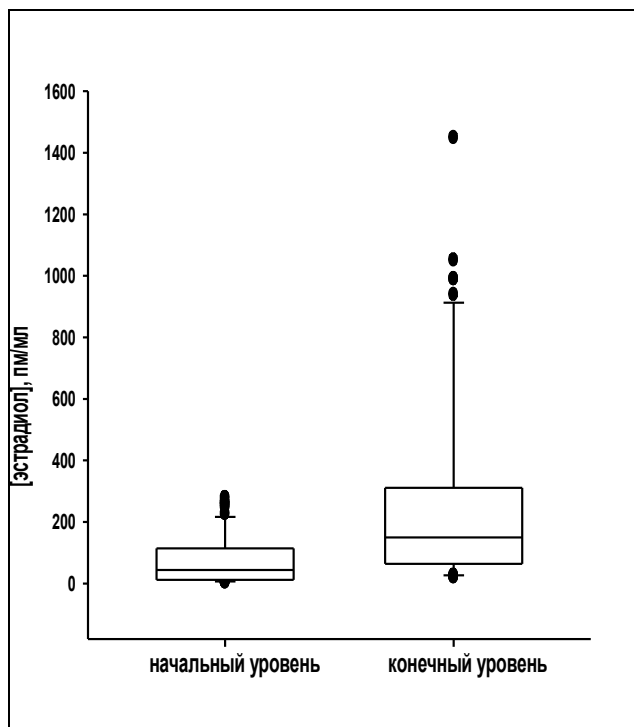


Рис. 7 Сравнение по диаграммам Тьюки концентраций эстрадиола, ФСГ и ЛГ в крови женщин основной группы до и после курса приема негормональной метаболической композиции.

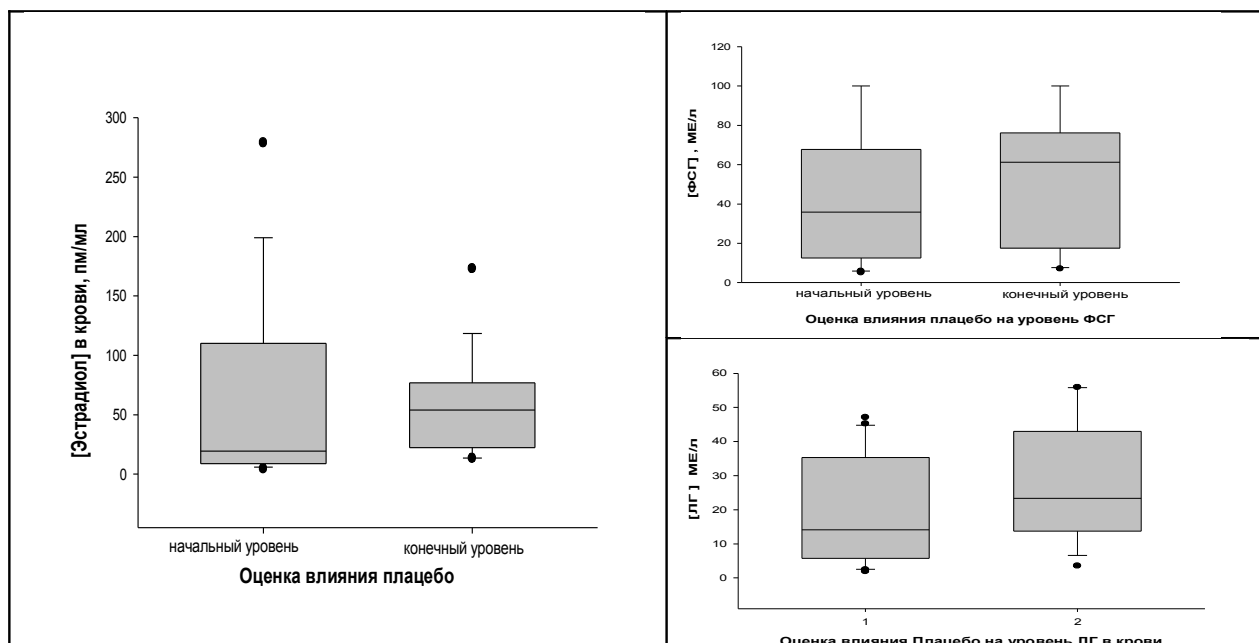


Рис. 8 Сравнение по диаграммам Тьюки концентраций эстрадиола, ФСГ и ЛГ в крови женщин контрольной группы до и после приема плацебо.

Таким образом, ни параметрические расчеты, ни графически построения не позволяют корректно (согласно правилам статистики) оценить динамику ФСГ, ЛГ и эстрадиола. Хотя отмеченное приращение уровня эстрадиола в крови после курса негормональной метаболической композиции не вызывает сомнений

Сравнение численных данных по непараметрическому тесту Kruskal-Wallis One Way Analysis of Variance on Ranks также свидетельствует о том, что различие в концентрации эстрадиола статистически значимо (statistically significant difference) $P < 0,001$ (при принятом в медицинских исследованиях минимальном уровне значимости $P < 0,05$). Изменения концентраций ФСГ и ЛГ по этому критерию незначимы: величины P составили соответственно $P = 0,247$ и $P = 0,210$. После приема плацебо все сдвиги в концентрациях эстрадиола, ФСГ и ЛГ также оказались статистически незначимы и величины P составили соответственно $0,446$; $0,348$ и $0,079$.

Для последующего анализа мы использовали наряду с некорректной для нашего исследований параметрической обработкой данных по критерию t Стьюдента и другой непараметрический критерий знаков (Sign Test - z), предназначенный для парных

сравнений в связанных выборках (табл.4). Применение Sign Test обеспечивает возможность учесть статистически направленность реакции на исследуемое воздействие у каждой пациентки в рассматриваемых парных связанных выборках. Оказалось, что в отличие от параметрического анализа по критерию t Стьюдента и непараметрического теста Kruskal-Wallis при использовании более чувствительного непараметрического критерия знаков z легко обнаруживается не только увеличение концентрации эстрадиола, но и значимое приращение концентраций ФСГ и ЛГ в крови после приема курса негормональной метаболической композиции. И это при том, что по механизму отрицательной обратной связи наблюдаемый прирост уровня эстрадиола мог бы нацело затормозить всякое приращение ФСГ и ЛГ [15, 18], как это происходит обычно при ГЗТ с использованием введения эстрадиола извне.

Для рассмотрения количественной взаимозависимости индивидуальных изменений в концентрациях эстрадиола, ФСГ и ЛГ в крови у каждой пациентки мы рассчитали ранговый коэффициент корреляции ρ по Спирмену (Spearman rank correlation coefficient) до и после приема курса негормональной метаболической композиции (табл.4). Видно, что для эстрадиола с одной стороны и ФСГ и ЛГ с другой как в начальном периоде, так и после приема курса негормональной метаболической композиции (в таблице эта группа обозначена под аббревиатурой НМК) прослеживается высокая статистически значимая отрицательная корреляция, обозначенная коэффициентом ρ . Иными словами во всех выборках более высокому уровню эстрадиола соответствует более низкий уровень ФСГ и ЛГ.

Таблица 4.

Сравнение изменений концентраций эстрадиола, ФСГ и ЛГ в крови женщин основной группы после курса негормональной метаболической композиции (НМК) по t критерию Стьюдента и критерию знаков. Приведен расчет коэффициента ранговой корреляции ρ .

Время анализа. Вид Гормона	$\bar{x} \pm SE$, (n - количество пациенток) Диапазон значений: (мин. ÷ макс.)	Вид критерия и сравнение		Коэффициент корреляции (ρ) при сопоставлении с концентрацией другого гормона
		Критерий t Стьюдента, сравнение с начальным уровнем.	Критерий знаков: направленность отклонений относительно начального уровня	
[Эстрадиол], пм/мл Начальный уровень.	76,54 ± 10,11 (n=63) 4,5 ÷ 278,8			начальные уровни ФСГ - 0,756; p<0.0005;

				и ЛГ - 0,683; p<0.001;
[Эстрадиол], пм/мл После курса метаболическо й композиции:	274,22 ±43,74 (n=53) 21,1÷1449	p =0,0003	Сравнение с начальным уровнем эстрадиола (n=53) +40; -13; Прирост: p<0,01	-
[ФСГ], МЕ/л начальный уровень.	43,15 ±4,07 (n=62) 1,65÷100			ЛГ начальный уровень - 0,752; p<0.0005
[ФСГ] МЕ/л после курса НМК	50,28 ±4,74 (n=63) 3,04÷100	p >0,1	Сравнение с начальным уровнем ФСГ (n =63) +37; - 17; Прирост: p=0,01	Эстрадиол после НМК - 0,760; p<0.0005
[ЛГ] МЕ/л начальный уровень.	20,75 ±1,98 (n=62) 1.42÷56,05			Эстрадиолом начальный -0,683; p<0.001 ФСГ начальный + 0,752; p<0.0005
[ЛГ] МЕ/л после курса НМК	24,15 ±2,91 (n=63) 2,97÷68,0	p>0,1	Сравнение с начальным уровнем ЛГ (n=63) + 37; -17 Прирост: p<0,01	Эстрадиолом после НМК - 0,673; p<0,001 ФСГ после НМК + 0,739; p<0,0005

В свою очередь между ФСГ и ЛГ всегда прослеживается и сохраняется после курса метаболической терапии значимая положительная корреляция. Подчеркнем, что эти физиологические закономерности в полной мере сохранились после приема курса негормональной метаболической композиции, не нарушившей следовательно естественное соотношение и, по-видимому, регуляторную обратную связь между яичниками и центральным звеном в оси гипоталамус – гипофиз – яичники. Тогда при ГЗТ как введение в организм относительно высоких доз экзогенных гормонов неизбежно нарушает эти физиологические соотношения между образованием собственных ФСГ, ЛГ и искусственно повышенной концентрацией эстрадиола.

В заключение мы хотели бы отметить, что отсутствие нормальных распределений в выборках начальных и «конечных» концентраций эстрадиола, ФСГ и ЛГ в крови у пациенток обеих групп подвигло нас на использование непарметрических критериев статистики согласно существующим статистическим законам. Такой подход позволил выявить четкую зависимость величины и направленности изменений концентраций

эстрадиола, ФСГ и ЛГ в крови и сохранение между определяемым гормонами закономерных физиологических корреляционных взаимоотношений. Кроме того, анализ распределений инициировал выявление зависимости в индивидуальных сдвигах некоторых неблагоприятных симптомов, сопровождающих развитие менопаузы, с учетом индивидуальной динамики и начального уровня эстрадиола. Напомним, что из данных, приведенных в табл. 2 и гистограмм на рис.3 и 4 ясно, что выборка основной группы делится медианой на уровне 44,57 пм/л по концентрации эстрадиола. Оказалось, что для пациенток с начальной концентрацией эстрадиола менее этой величины - левее медианы в 95% случаев характерно повышение концентрации эстрадиола в крови после курса метаболической терапии. Тогда как у пациенток с начальной более высокой концентрацией эстрадиола - правее уровня медианы - с равной вероятностью наблюдаются как прирост, так и снижение концентрации эстрадиола после приема негормональной метаболической композиции. При этом у пациенток с начальным пониженным уровнем эстрадиола наблюдается по 5-7 выраженных симптомов КС, которые после проведенного курса метаболической терапии, как правило, ослабевают. Так по тесту Спилберга актуальная тревожность в среднем по группе снижается у 43 % пациенток из 70 – это на грани значимости. Тогда как при низком начальном уровне эстрадиола (левее медианы) снижение тревожности наблюдалось у всех женщин (31 пациентка) при высоком уровне значимости ($P < 0,01$). Интересно отметить, что по субъективным оценкам явления тревожности уменьшались не у всех пациенток, хотя и прироста этого показателя не было отмечено ни в одном случае. Опять-таки в большей мере уменьшение тревожности после курса метаболической терапии наблюдалось на фоне наиболее высоких показателей начального уровня тревожности. Анализ показал, что именно у этих 15 пациенток с начальным резко повышенным показателем тревожности во всех случаях метаболическая терапия оказывала положительный эффект.

Таким образом, ясно, что параметрический статистический анализ групп совершенно не пригоден для обработки клинических исследований в случае отсутствия нормального распределения. В таких ситуациях необходимо использовать более адекватные критерии непараметрической обработки клинических данных. Опыт показал, что следует обращать внимание не только на вид начального распределения, значения средней и медианы, но и на то, как зависит реакция пациенток на тестируемое воздействие от положения рассматриваемой подгруппы пациенток в гистограмме распределения. В конечном счете, такой статистический подход дает возможность полнее охарактеризовать направленность и

зависимость ответных реакций, как минимум, от начального исходного состояния обследуемых.

ВЫВОДЫ

1. Повторная статистической обработки первичного цифрового материала раннее описанных плацебо-контролируемых клинических исследований по оценке воздействия сукцинат-содержащей композиции при климактерическом синдроме выявила с помощью непараметрических критериев статистики помимо обнаруженного ранее повышения уровня эстрадиола значимый прирост концентраций ФСГ и ЛГ в крови женщин. При этом метаболическая терапия не нарушала физиологических корреляционных соотношений между гормонами: повышенному уровню эстрадиола в группах обследуемых как до, так и после курса приема негормональной метаболической композиции соответствовали меньшие концентрации ФСГ и ЛГ в крови.

2. Прием негормональной сукцинат-содержащей метаболической композиции в период менопаузы способствовал сочетанному изменению гормонального и функционального состояний женщин. Степень воздействия метаболической композиции зависела от исходного гормонального и психо-эмоционального состояния обследуемых женщин. При низком начальном уровне эстрадиола в большей степени возрастала его концентрация в крови после метаболической коррекции и более выражено ослабление ряда неблагоприятных психо-эмоциональных симптомов климактерического синдрома.

3. Опыт предпринятой повторной статистической обработки свидетельствуют о необходимости более широкого применения непараметрических критериев статистики и учета индивидуальных особенностей обследуемых при анализе результатов клинических исследований и о малой информативности параметрических критериев при отсутствии нормального распределения данных в получаемых выборках.

ЛИТЕРАТУРА

1. E.I. Maevsky, A.B. Peskov, M.L. Uchitel, A.G. Pogorelov, N.Yu. Saharova, E.F. Vihlyantseva, L.A.Bogdanova, M.N. Kondrashova A succinate-based composition "rejuvenates" aging mice and alleviates menopausal symptoms in women without sex hormone replacement therapy//medline.ru. Biomedical journal. September 2007. vol. 8, art. 46. pp. 497-517.
2. A.N.Mamaev Basics of Medical Statistics.[in Russian] M. "Practical medicine". 2011. 128 p.
3. T.T. Chen, E.I. Maevsky, M.L. Uchitel. Maintenance of Homeostasis in the Aging Hypothalamus: The Central and Peripheral Roles of Succinate.//Front. Endocrinol (Lausanne). 2015; 6:7. Published online: 2015 Feb 2. doi: 10.3389/fendo.2015.00007 . PMID: PMC4313775
4. Davis R.N. Alternatives to hormone therapy: a clinical guide to menopausal transition. Adv Nurse Pract. 2004 Oct; 12(10). pp. 7-38, 40, 42.
5. Dilman V.M. Age-associated elevation of hypothalamic, threshold to feedback control, and its role in development, ageing, and disease.//Lancet (1971) 1:1211–910.1016/S0140-6736(71)91721-1 [PubMed][Cross Ref]
6. Dilman V.M, Anisimov V.N. Hypothalamic mechanisms of ageing and of specific age pathology – I. Sensitivity threshold of hypothalamo-pituitary complex to homeostatic stimuli in the reproductive system.//Exp Gerontol (1979) 14(4):161–7410.1016/0531-5565(79)90015-9 [PubMed] [Cross Ref]
7. Dilman V.M., Anisimov V.N., Kondrashova M.N. The effect of amber (succinic) acid on the sensitivity of hypothalamo-gonadotropic system in old rats. //Pharmacology and Toxicol. [in Russian] 1976; 3. p.40-549.
8. S.A. Glantz Primer of Biostatistics. Fourth edition. McGRAW-HILL. Health Professions Division. NY, St. Louis, San Francisco, Auckland, Bogota, Caracas, Lisbon, Vadrid, Vexico City, Milan Monreal, New Delhy, Sa Juan, Singapore, Sydney, Nokyo, Noronto. 1994. 450 p.
9. He W, Miao F.J, Lin D.C, Schwandner R.T, Wang Z, Gao J, et al. Citric acid cycle intermediates as ligands for orphan G-protein-coupled receptors.//Nature (2004) 429:188–93.10.1038/nature02488[PubMed] [Cross Ref]

10. Lambrinoudaki I. Progestogens in postmenopausal hormone therapy and the risk of breast cancer //Maturitas. 2014 Apr;77(4):311-7. doi: 10.1016/j.maturitas.2014.01.001. Epub 2014 Jan 9.
11. N. Lang and M. Secic How to report statistics in medicine. Annotated Guidelines for authors, editors and reviewers. (2-nd edition) American College of Physicians. Philadelphia. 2006. 480 p.
12. Lyytinen H., Pukkala E., Ylikorkala O. Breast cancer risk in postmenopausal women using estradiol-progestogen therapy.// Obstet Gynecol. 2009 Jan;113(1):65-73. doi: 10.1097/AOG.0b013e31818e8cd6.
13. Marjoribanks J., Farquhar C., Roberts H., Lethaby. A. Long term hormone therapy for perimenopausal and postmenopausal women.// Cochrane Database Syst Rev. 2012 Jul 11;7:CD004143. doi: 10.1002/14651858.CD004143.pub4.
14. Mayo Clinic Guide to preventing & treating Osteoporosis. First Edition. Med.Ed-in-Chief Bart Clarke. Mayo Clinic. Rochester, Minnesota. . 2008. 254 p.
15. Messinis, Ioannis E. Ovarian feedback, mechanism of action and possible clinical implications //Hum. Reprod. Update (September/October 2006) 12 (5): 557-571 first published online May 3, 2006 doi:10.1093/humupd/dml020
16. Manual on experimental (preclinical trials of new pharmacological agents. The Ministry of Health of the Russian Federation. Ltd. "IAA Remedy" [in Russian]. 2000. 378 p.
17. Rees M. Alternative treatments for the menopause .// Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.2009 Feb;23(1):151-61. 2008 Nov 17. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2008.10.006.
18. Stefan Nilsson, Sari Mäkelä, Eckardt Treuter, Michel Tujague, Jane Thomsen, Göran Andersson, Eva Enmark, Katarina Pettersson, Margaret Warner, and Jan-Åke Gustafsson Mechanisms of Estrogen Action.//Physiol Rev January 10, 2001 vol. 81 no. 4 1535-156
19. Santoro N. Perimenopause: From Research to Practice.// J Women Health (Larchmt). 2015 Dec 10. [Epub ahead of print]
20. Tannahill GM, Curtis AM, Adamik J, Palsson-McDermott EM, McGettrick AF, Goel G, et al.Succinate is an inflammatory signal that induces IL-1 β through HIF-1 α .//Nature (2013) 496(7444):238–42.10.1038/nature11986 [PMC free article] [PubMed] [Cross Ref]
21. Wylie-Rosett J. Menopause, micronutrients, and hormone therapy.//Am J Clin Nutr. 2005 May;81(5): S. 1223-1231.