

**Композиция на основе сукцината «омолаживает» стареющих мышей и смягчает симптомы менопаузы у женщин без заместительной гормональной терапии**

<sup>1</sup>Е.И.Маевский, <sup>2</sup>А.Б.Песков, <sup>1</sup>М.Л.Учитель, <sup>1</sup>А.Г.Погорелов, <sup>1</sup>Н.Ю. Сахарова,

<sup>1</sup>Е.Ф.Вихлянцева, <sup>1</sup>Л.А.Богданова, <sup>1</sup>М.Н.Кондрашова

<sup>1</sup> *Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН (Пуццино)*

[maiel7@inbox.ru](mailto:maiel7@inbox.ru); <sup>2</sup> *Институт медицины, экологии и физической культуры Ульяновского государственного университета (Ульяновск)* [abp\\_sim@mail.ru](mailto:abp_sim@mail.ru)

**Резюме**

**Предмет и цель исследования**

Наступление менопаузы зачастую сопровождается развитием различных патологических симптомов, обычно купируемых с помощью гормон-заместительной терапии, которая может представлять риск для здоровья. В представленном исследовании показана возможность лечения климактерического синдрома с помощью пищевой добавки, представляющая собой композицию из метаболитов энергетического обмена, среди которых основным является сукцинат.

**Постановка исследования**

Исследовалось влияние 4-х недельного ведения сукцинат-содержащей биологически активной добавки (БАД) Amberen на эстральный цикл, массу костной ткани и содержание в ней кальция у старых мышей. В рандомизированных плацебо-контролируемых клинических исследованиях с двойным слепым контролем изучалось влияние Amberen на уровень гормонов и развитие некоторых нейровегетативных и психо-эмоциональных симптомов у женщин, находящихся в стадии ранней менопаузы. Субъективные и объективные параметры самочувствия регистрировали и оценивались с помощью опросников с использованием шкалы Куппермана в модификации Е.В.Уваровой, теста Спислбергера-Ханина, а также по анализу уровня гормонов в крови по сравнению с исходным базовым уровнем.

**Результаты**

«Омолаживающий» эффект Amberen у старых самок мышей проявлялся в восстановлении нарушенного эстрального цикла, увеличении массы бедренных костей и содержания в них

кальция. В клинических плацебо контролируемых исследованиях показано, что после лечения сукцинат-содержащей БАД существенно уменьшалась выраженность большинства субъективно оцениваемых проявлений климактерического синдрома, значительно повышался уровень эстрадиола в сыворотке крови. Проведенная монотерапия обеспечивала ослабление ряда нейровегетативных и психо-эмоциональных нарушений, таких как приливы жара, головная боль и чувство тревожности.

### **Заключение**

В эксперименте и в клинике сукцинат-содержащая БАД Ambergen способствовала ослаблению ряда гормон-зависимых возрастных отклонений как у стареющих самок мышей, так и у женщин с период развития климактерического синдрома. После курса БАД у женщин наблюдалось снижение выраженности климактерических нейровегетативных и психо-эмоциональных расстройств без развития каких-либо побочных реакций.

**Ключевые слова:** климактерический синдром, старение, биологически активная пищевая добавка, сукцинат, эстрадиол

## **Введение**

Непрерывными атрибутами возрастной менопаузы являются изменение гормонального статуса и сопровождающие их нейровегетативные, физиологические и инволютивные расстройства [19]. Нейровегетативные проявления климактерического синдрома могут включать приливы жара, нарушение сна, изменение психического состояния женщин от появления чувства тревожности и раздражительности до развития депрессии и ослабления памяти [11]. Возрастное угасание репродуктивной функции и развитие климактерической менопаузы обусловлены комплексными сдвигами в нейроэндокринной регуляции, ключевую роль среди которых играют нарушения взаимодействия между гипоталамусом и периферическими эндокринными органами, в частности яичниками [1,9,10,24]. Для ранней стадии климактерического периода характерны появление повышенной вазомоторной и психо-эмоциональной лабильности на фоне нарушения ритма менструаций и периодических колебаний синтеза эстрогенов. Драматические колебания в образовании эстрогенов в значительной мере отражают возрастные изменения в системе гипоталамус – гипофиз – яичники (ГГЯ), включающие повышение продукции и уровня фолликулостимулирующего гормона (ФСГ). Полное прекращение менструального цикла связано с утратой регуляторных обратных связей в системе ГГЯ, резким падением синтеза эстрогенов в яичниках и последующим ослаблением многих проявлений климактерического синдрома [1,10,19,24].

При развитии менопаузы более 20% женщин вынуждены обращаться к квалифицированной врачебной помощи в связи с неблагоприятным течением климактерического синдрома. В качестве наиболее эффективного и доступного способа лечения вазомоторных и физиологических симптомов развивающейся менопаузы обычно используется гормон-заместительная терапия (ГЗТ), направленная на искусственную коррекцию гормонального баланса [16,19]. ГЗТ и местное использование гормональных кремов обеспечивают достаточно эффективное купирование широкого круга симптомов, от приливов жара до атрофии слизистой оболочки влагалища. Однако ГЗТ может вызывать ряд побочных нежелательных эффектов, провоцировать развитие заболеваний коронарных сосудов, рака молочной железы так, что в целом риск для здоровья может превышать благоприятные эффекты ГЗТ [13,21,26]. Для минимизации возможного

негативного воздействия ГЗТ, как правило, рекомендуется использовать как можно меньшие дозы гормональных средств и максимально укороченные курсы ГЗТ [20].

О ключевой роли системы ГГЯ в развитии менопаузы свидетельствует также и эффективность лечения климактерического синдрома путем использования альтернативных методов, включающих неспецифическую стимуляцию нейроэндокринной системы. В снижении синтеза эстрогенов в яичниках важную роль играет возрастная утрата чувствительности гипоталамуса к эстрогенам [1,9,10,24]. Чувствительность гипоталамуса к тормозным сигналам эстрогенов может быть восстановлена катехоламинами [1]. Альфа-адренергический агонист клонидин также может восстанавливать эндогенную пульсацию выброса лютеинизирующего гормона (ЛГ) в гипофизе [12]. Однако с возрастом влияние катехоламинов на функции гипоталамуса несколько ослабевает [23]. Кроме того, использование собственно катехоламинов или альфа-адренергических агонистов нежелательно, так как они инициируют различные побочные реакции со стороны сердечно-сосудистой системы.

Ранее нами было установлено, что продукция катехоламинов может быть стимулирована путем введения в организм природного субстрата энергетического обмена сукцината, образование и окисление которого в свою очередь играет значимую роль в реализации эффектов катехоламинов [3,17,18]. Более того, В.М.Дильманом, В.Н.Анисимовым и М.Н.Кондрашовой было обнаружено, что введение сукцината старым крысам может восстанавливать чувствительность гипоталамуса к тормозным сигналам эстрогенов [2]. В настоящей работе сделана попытка практического использования указанных представлений о взаимосвязи системы ГГЯ с развитием климактерической менопаузы путем изучения влияния сукцинат-содержащей биологически активной добавки (БАД) *Amberen* в эксперименте на эстральный цикл и состояние костной ткани у старых мышей, и в клинике на ряд наиболее острых симптомов климактерической менопаузы у женщин.

## **Материалы и методы**

### **Экспериментальные исследования**

Исследование выполнено на 42 мышах, приобретенных в лаборатории биологических испытаний Клиники животных Института биоорганической химии им.

М.М. Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН (Пушино). Мыши содержались в полипропиленовых клетках по 5 животных в клетке при температуре  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , при соблюдении равных по длительности (по 12 часов) светового и темного периодов. Животные получали лабораторный корм ПК-121-2 (ООО «Информкорм») и воду *ad libidum*. Состояние животных ежедневно оценивал персонал и еженедельно контролировал ветеринарный врач. Исследования выполнялись в соответствии с правилами обращения с животными Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН. В эксперименте были использованы мыши самки трех возрастных групп линии SHR: молодые мыши (в возрасте 2-3 месяцев), взрослые (6-7 месяцев), и старые (9-10 месяцев). В каждой возрастной группе животные были разделены на экспериментальную и контрольную группы, в которых мыши получали соответственно субстратную композицию на основе сукцината Amberen (того же состава, как и в клинических исследованиях) или плацебо (0,9% раствор NaCl). В пилотных исследованиях при внутрижелудочном введении Amberen в течение 2 недель в дозе 5 г на кг массы тела (доза, резко превышавшая использованные нами в эксперименте дозы) не обнаружено каких-либо признаков токсичности БАД. В эксперименте мышам дважды в день в течение 4 недель вводили внутрижелудочно водную суспензию Amberen (25 мг сухой композиции в мл) по 0,1 мл, что соответствовало дозе Amberen 85 мг на кг массы тела. С учетом пересчетного коэффициента 9 для людей [5] эта доза соответствовала приему человеком Amberen в дозе 9.44 мг/кг.

Фазы эстрального цикла (ЭЦ) у мышей контролировали ежедневно (в 9 часов утра) по цитологической картине влагалищного мазка. Мазок окрашивали азур-эозином по Романовскому-Гимза, фиксировали в Канадском бальзаме и затем проводили цитологический анализ при увеличении 40 (микроскоп Amplival, Германия). Оценивали количество, длительность и вариабельность ЭЦ, длительность фертильной фазы эструса (Э).

После завершения курса БАД (или плацебо) определяли массу влажной изолированной бедренной кости и, после высушивания в течение 3 суток при  $80^\circ\text{C}$  - сухой вес кости. Затем образец сжигали в муфельной печи в течение 8 часов при  $1000^\circ\text{C}$ . Содержание кальция и натрия измеряли в золе с помощью атомно-адсорбционного спектрометра (Perkin Elmer 503).

## **Материалы**

Состав БАД Amberen был разработан сотрудниками Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН. Amberen содержал 2.1 mmol сукцината (246 мг), 0.43 mmol глицина (32 мг), 0.21 mmol глутамата (30.7 мг), 0.05 mmol фумарата (6 мг), 47.4 мг NH<sub>4</sub>, 13.43 мг Ca, 1.47 мг Mg, 4.9 мг Na, 1.71 мг Zn, 7.2 мг токоферол ацетата и 9.2 мг H<sub>2</sub>O. БАД выпускался в двух желатиновых капсулах: желтого и зеленого цвета. Желтая капсула содержала 200 мг сукцината аммония, зеленая – все остальные компоненты. Сукцинат (99.99%), его соли и фумарат производились ООО «Эконом-Сервис» (Тула) по оригинальной запатентованной технологии, позволяющей синтезировать янтарную и фумаровую кислоты уникальной биологической активности, определяемой наличием природного набора конформеров. Конформерный состав синтетической янтарной кислоты, оцениваемый методом поляризационной лазерной радиоспектроскопии на двулучевом лазерном спектрометре (ИТЭБ РАН), был идентичен конформерному составу природной янтарной кислоты. Молярная доля аниона янтарной кислоты в БАД Amberen составляла 75.8%.

## **Клиническое обследование**

Добровольцы для участия в клинических исследованиях отбирались из числа женщин с подтвержденным диагнозом «климактерический синдром». Из 150 добровольцев 80 женщин были исключены по разным причинам. Критерии исключения включали наличие тяжелой экстрагенитальной соматической патологии, онкологических или психических заболеваний, а также использование в анамнезе ГЗТ или БАД для лечения климактерического синдрома. В рандомизированные плацебо-контролируемые исследования с двойным слепым контролем были включены 70 пациенток в возрасте от 40 лет до 61 года, в том числе: 9 пациенток 40-45 лет, 28 - 46-50 лет, 25 - 51-55 лет и 8 - 56-61 года. Большая часть женщин находилась в начальной стадии климакса. Из 70 отобранных женщин случайным образом было сформировано 2 группы; 50 пациенток для экспериментальной группы (прием Amberen) и 20 пациенток для контрольной группы (прием капсул плацебо). Женщины принимали по две капсулы (всего 400 мг) Amberen или плацебо дважды – утром и вечером во время приема пищи. Разовая доза БАД составляла 5.27-5.7 мг/кг, и соответственно дневная доза достигала 10.54-11.4 мг/кг.

### **Клинические исследования**

Каждая пациентка обследовалась до начала и во время исследования, в течение первой недели приема БАД ежедневно, затем в конце трехнедельного курса и через 2 недели после окончания приема БАД. До и после курса БАД выполнялись следующие виды обследований:

- Оценка клинического статуса по шкале Куппермана [7] в модификации Е.В.Уваровой при консультации терапевтом, гинекологом и психиатром.
- Оценки актуальной тревожности по тесту Спилбергера-Ханина [22].
- Определение уровня гормонов в крови (ФСГ, ЛГ и эстрадиола) и некоторых биохимических показателей крови и мочи, включая содержание в крови холестерина, А-холестерина, триглицеридов, бета-липопротеидов, липопротеидов низкой и очень низкой плотности, общее содержание белка и глюкозы. Уровень эстрадиола, ФСГ и ЛГ регистрировали иммуноферментными методами (Micropale Steroid Estradiol, Gonadotropin IEA-FSH, and Gonadotropin IEA-LH). Биохимические тесты выполнялись с помощью биохимического анализатора (Hitachi 902/ Roche Diagnostics, and CardioChek™ P•A, PTS). Также определяли величину протромбинового индекса.
- Ультразвуковое обследование матки, яичников, и молочных желез проводили с помощью УЗ анализатора (HS-2000, Honda Electronics).
- Электрокардиографическое исследование - ECG-9010 (Nihon Kohden) выполняли только в начале исследования при отборе пациенток.
- Каждая пациентка вела персональный дневник, в котором заполнялась анкета с вопросами о наличии и степени выраженности следующих симптомов: болей в сердце, головокружения, приливов жара, нарушении способности концентрировать внимание, головной боли, раздражительности, депрессии, тревожности, бессонницы, слабости, болей в мышцах и суставах, потливости, уменьшении полового влечения. Дневник заполнялся до начала курса БАД или плацебо, затем как минимум раз в неделю во время и после окончания курса терапии.
- Дневник включал следующие данные и вопросы.
  1. Дата начал курса БАД
  2. Дата окончания приема БАД.

3. Почувствовали ли Вы какие-либо явления дискомфорта, связанные с приемом БАД? Если «Да», то опишите в деталях чувство дискомфорта, время появления, длительность, как во время курса, так и после его окончания.
  - Я не ощущаю дискомфорта.
  - Я чувствую дискомфорт (описание).
4. Страдаете ли Вы какими-нибудь хроническими заболеваниями? Если «Да», то необходимо проконсультироваться с врачом для ответа на вопрос.
5. Принимаете ли Вы какие-либо лекарственные препараты помимо БАД? Если «да», то укажите какие, дозы, время приема (необходимо проконсультироваться с врачом для ответа на вопрос).
6. Первая неделя приема БАД. Если Вы почувствовали изменения в состоянии вашего здоровья, опишите их своими словами..
7. Вторая неделя приема БАД. Если Вы почувствовали изменения в состоянии вашего здоровья, опишите их своими словами..
8. Третья неделя приема БАД. Если Вы почувствовали изменения в состоянии вашего здоровья, опишите их своими словами.
9. Первая неделя после окончания приема БАД. Если Вы почувствовали изменения в состоянии вашего здоровья, опишите их своими словами.
10. Данные функциональных и лабораторных анализов: общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимического анализа крови, ЭКГ, УЗ исследования матки, яичников и молочных желез.
11. Описание и заключение гинеколога, психиатра и терапевта-консультанта.
12. Дата окончания дневника, подписи пациентки, подпись врача консультанта.

Каждая пациентка подписывала информированное согласие и соглашение, описывающее цели и условия исследования. Разрешение на проведение клинического исследования давала комиссия 1-й Городской клинической больницы г. Ульяновска.

### **Статистическая обработка данных.**

Все первичные материалы в виде дневников-анкет, карт пациенток, заполненных консультирующими врачами, протоколы лабораторных и инструментальных исследований заносились в базу данных Microsoft Access. Полученные данные



обрабатывались параметрическими критериями статистики с использованием программ Microsoft Excel и Statistica-6. В таблицах данные приведены как средняя величина  $\pm$  стандартная ошибка средней.

## Результаты

### Экспериментальные исследования на животных.

Введение стареющим самкам мышам сукцинат-содержащей БАД оказывало выраженный благоприятный эффект на внешний вид и поведение животных: они становились более активными, тусклые глаза приобретали блеск, бледные ушки и носик розовели, желтая с темными пятнами шерсть становилась белой, гладкой и блестящей, как у молодых животных; в местах облысения начинала расти новая шерстка.

Влияние введения БАД Amberen на ЭЦ у мышей оценивалось по изменению длительности и вариабельности ЭЦ и длительности фертильной фазы эструса. У здоровых молодых мышей в ЭЦ выявляется 4 фазы: проэструс, фертильная фаза – эструс и нефертильные - метаэструс и диэструс. Основное различие между ЭЦ у молодых и старых животных заключалось в том, что у старых мышей существенно укорачивалась фертильная фаза - эструс (Табл. 1).

**Таблица 1.** Возрастные изменения эстрального цикла (ЭЦ) у самок мышей получавших в течение 4 недель БАД Amberen или плацебо.

Вводимый препарат	Длительность ЭЦ (дни)	Вариабельности ЭЦ (% от длительности ЭЦ)	Длительность фазы Э (дни)	Доля фазы Э в ЭЦ (Э/ЭЦ)о
<b>1. Молодые мыши самки (2-3 месяца)</b>				
Плацебо (n=6)	7.4 $\pm$ 0.56	18.9 $\pm$ 3.3	2.5 $\pm$ 0.28	0.35 $\pm$ 0.06
Amberen (n=6)	9.0 $\pm$ 0.92	25.6 $\pm$ 4.5	2.4 $\pm$ 0.12	0.27 $\pm$ 0.05
<b>2. Взрослые мыши самки (6-7 месяцев)</b>				
Плацебо (n=12)	8.4 $\pm$ 0.99	26.2 $\pm$ 2.4	2.8 $\pm$ 0.31	0.34 $\pm$ 0.03
Amberen (n=11)	7.2 $\pm$ 0.22	6.9 $\pm$ 0.7 p <sub>2п</sub> <0.001	2.7 $\pm$ 0.27	0.38 $\pm$ 0.04
<b>3. Старые мыши самки (9-10 месяцев)</b>				
Плацебо (n=8)	8.3 $\pm$ 0.47	13.2 $\pm$ 1.8 p <sub>2п</sub> <0.01	1.6 $\pm$ 0.21 p <sub>1п</sub> <0,05	0.19 $\pm$ 0.025 p <sub>1п</sub> <0,05

			$p_{2П} < 0,01$	$p_{2П} < 0,01$
Amberen (n=9)	$8.2 \pm 0.70$	$19.5 \pm 2.3$ $p_{3П} < 0,05$	$2.7 \pm 0.22$ $p_{3П} < 0.01$	$0.33 \pm 0.04$ $p_{3П} < 0.01$
Влияние БАД Amberen на старых мышей	0	$\uparrow 1.48$	$\uparrow 1.69$	$\uparrow 1.74$

Здесь и далее данные приведены в виде средних значений  $\pm$  стандартная ошибка средних.  $P_{1П}$ ,  $P_{2П}$ ,  $P_{3П}$  - уровень значимости различий по сравнению с соответствующими значениями в 1-й, 2-й и 3-й группах контрольных животных, получавших плацебо. Вариабельность ЭЦ представлена как стандартное отклонение от средней длительности ЭЦ, выраженное в процентах;  $\uparrow$  - увеличение в n раз.

У молодых и взрослых животных введение БАД не влияло на этот параметр, но сопровождалось изменением вариабельности длительности ЭЦ: у молодых она становилась шире, а у взрослых сужалась.

Наиболее выраженные сдвиги под влиянием Amberen наблюдались у старых мышей: возрастала длительность фертильной фазы на 69% , доля эструса в общей структуре ЭЦ увеличивалась на 74%, расширялась вариабельность ЭЦ на 48% , но общая длительность ЭЦ оставалась неизменной (Таблица 1). Важно отметить, что в результате месячного курса БАД абсолютная и относительная длительность фертильной фазы ЭЦ у старых животных приближались к таковым у молодых мышей.

Далее мы оценивали влияние сукцинат-содержащего препарата на состояние костной ткани у самок мышей. В контрольной группе при достижении мышами возраста 9-10 месяцев несколько снижалась масса тела по сравнению с взрослыми самками возраста 6-7 месяцев: с  $33.5 \pm 1.7$  г до  $28.7 \pm 2.4$  г, и существенно уменьшались масса бедренных костей, содержание в них воды и органических компонентов (Рис.1). Одновременно в костях возрастали концентрации и общее количество натрия и кальция (Рис 2).

Введение БАД взрослым мышам (возраст 6-7 месяцев) не оказывало сколько-нибудь заметного воздействия на измеренные характеристики костной ткани. Напротив, у старых мышей при введении суспензии БАД Amberen несколько уменьшалась убыль веса тела ( $33.0 \pm 1.0$  г у взрослых и  $31.4 \pm 1.5$  г у старых мышей) и наблюдалось существенное приращение влажного веса бедренных костей, содержания воды и органических компонентов в костной ткани (Рис. 1), При этом, хотя концентрации натрия и кальция несколько снижались, общее содержание кальция в костях значимо возрастало (Рис. 2).

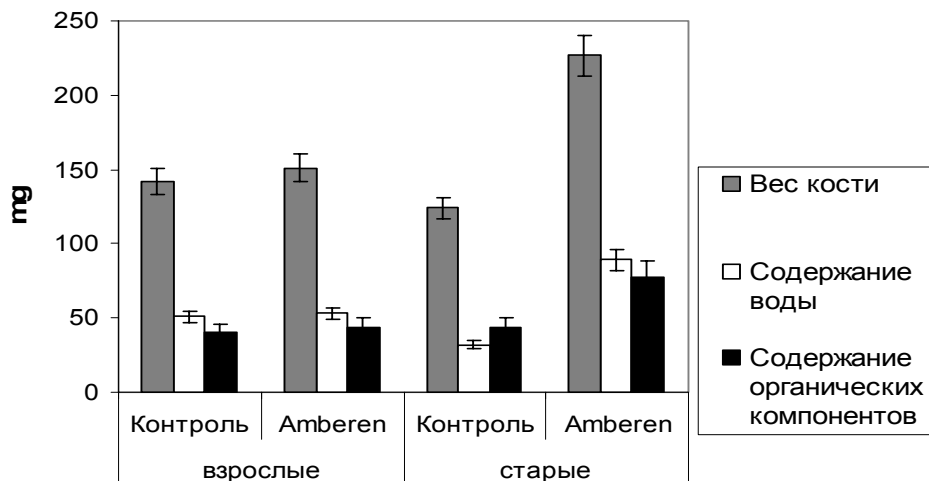


Рис. 1. Сравнение веса бедренных костей, содержания в них воды и органических компонентов у взрослых (7 месяцев) и старых (10 месяцев) мышей после завершения 4-недельного курса БАД Amberen и в контроле (введение 0.9% раствора NaCl).

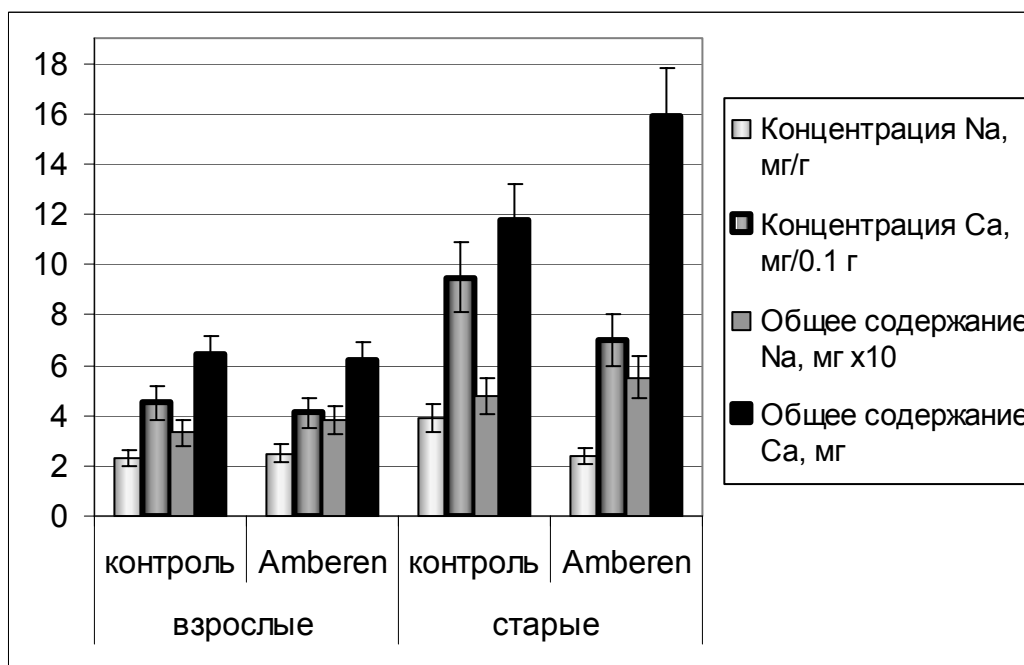


Рис. 2. Концентрации и общее содержание натрия и кальция в бедренных костях взрослых (7 месяцев) и старых (10 месяцев) мышей после завершения 4-недельного курса БАД Amberen и в контроле (введение 0.9% раствора NaCl) .

### Клинические исследования

Исходно в обеих группах, в контрольной и в экспериментальной, у обследованных женщин с диагнозом «климактерический синдром» обнаружено более чем двукратное снижение содержания эстрадиола (Э2) в крови по сравнению с минимальным уровнем Э2, характерным для здоровых женщин с сохраненным менструальным циклом в фазе начального созревания фолликула [6]. Однако при том уровни ФСГ и ЛГ были близки к таковым у женщин в предклимактерическом периоде. После монотерапии с использованием БАД Ambergen наблюдалось четырехкратное увеличение содержания Э2 в крови женщин экспериментальной группы (Рис. 3), тогда как прием плацебо не влиял на уровень Э2. Ни Ambergen, ни плацебо не оказывали заметного влияния на уровень ФСГ и ЛГ.

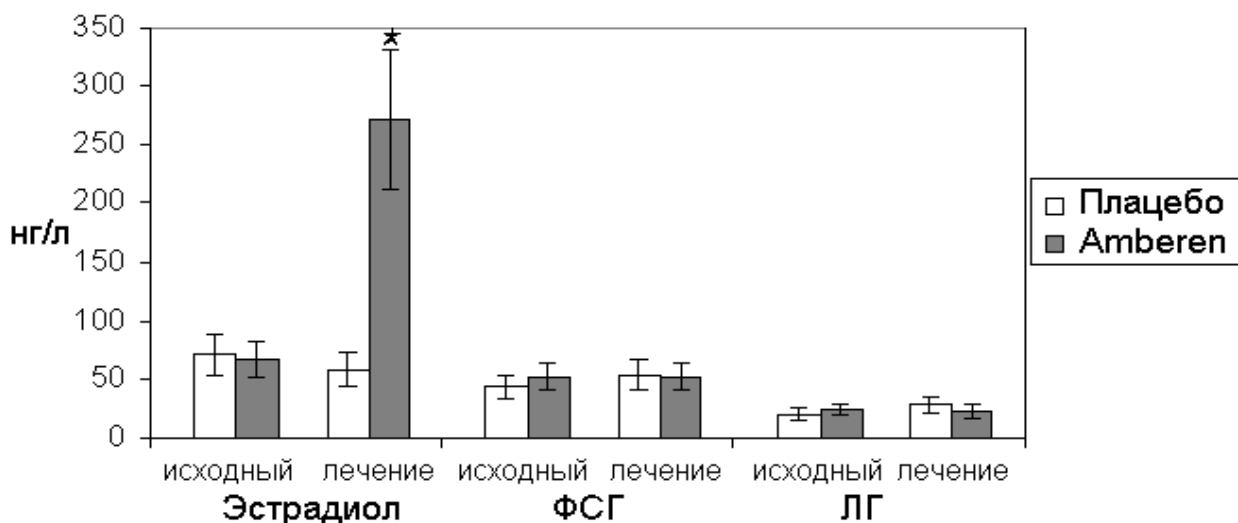


Рис. 3. Содержание эстрадиола, фолликулостимулирующего (ФСГ) и лютеинизирующего (ЛГ) гормонов в крови у женщин, страдающих патологическими проявлениями климактерического синдрома, до и после 3-недельной монотерапии с использованием БАД Ambergen или плацебо. \* $P < 0.001$  уровень значимости различий при сравнении с исходным уровнем и с группой плацебо.

Из 20 нейровегетативных проявлений климактерического синдрома, оцениваемых врачами по шкале Куппермана, после курса БАД отмечено заметное уменьшение

интенсивности и выраженности следующих симптомов: головной боли, вестибулопатий, повышенной возбудимости, сонливости, бессонницы и частоты приливов жара (Табл. 2). Курс плацебо незначительно улучшал некоторые характеристики. Статистически значимые различия (при  $p < 0.05$ ) при сравнении величин отклонений после курса БАД с величинами отклонений после курса плацебо обнаружены лишь по трем симптомам: БАД эффективнее уменьшал головные боли, сонливость и частоту астматических приступов.

**Таблица 2.** Нейровегетативные проявления климактерического синдрома у женщин до и после лечения с использованием БАД Amberen или плацебо при оценке по шкале Куппермана в модификации Е.В.Уваровой

Регистрируемые характеристики	БАД Amberen		Плацебо	
	До лечения (n = 50)	После лечения (n = 50)	До лечения (n = 20)	После лечения (n = 20)
Подъемы артериального давления	0.98 ± 0.12	0.70 ± 0.11	1.40 ± 0.26	1.20 ± 0.25
Падение артериального давления	0.40 ± 0.12	0.24 ± 0.10	0.25 ± 0.17	0.25 ± 0.17
Головная боль	1.54 ± 0.10	0.92 ± 0.10**	1.35 ± 0.16	1.30 ± 0.18
Вестибулопатии	0.72 ± 0.12	0.38 ± 0.08*	0.55 ± 0.15	0.55 ± 0.15
Приступы тахикардии	1.24 ± 0.15	0.98 ± 0.14	1.25 ± 0.26	0.90 ± 0.23
Переносимость повышенной температуры	0.84 ± 0.14	0.66 ± 0.13	0.50 ± 0.18	0.40 ± 0.17
Чувство холода, дрожь	0.96 ± 0.14	0.68 ± 0.12	1.00 ± 0.24	0.90 ± 0.21
Чувство онемения конечностей	1.16 ± 0.14	1.00 ± 0.13	1.35 ± 0.27	1.35 ± 0.50
Дермографизм	1.04 ± 0.13	1.02 ± 0.14	1.25 ± 0.21	1.20 ± 0.21
Сухость кожи и слизистых	0.56 ± 0.13	0.56 ± 0.13	0.70 ± 0.19	0.45 ± 0.16
Гипергидроз	1.26 ± 0.14	1.00 ± 0.13	1.00 ± 0.23	0.80 ± 0.22
Склонность к отекам	0.98 ± 0.13	0.84 ± 0.12	0.95 ± 0.38	1.00 ± 0.16
Аллергические реакции	0.38 ± 0.11	0.28 ± 0.09	0.15 ± 0.08	0.25 ± 0.09
Экзофтальм, повышенный блеск глаз	0.12 ± 0.05	0.12 ± 0.05	0	0
Повышенная возбудимость	1.12 ± 0.13	0.46 ± 0.10**	1.05 ± 0.17	0.60 ± 0.16*
Сонливость	1.34 ± 0.15	0.68 ± 0.13**	1.15 ± 0.24	1.10 ± 0.23
Бессонница	1.32 ± 0.14	0.60 ± 0.13*	1.35 ± 0.24	0.95 ± 0.24

Число приливов жара (в день)	1.12 ± 0.10	0.68 ± 0.08**	0.95 ± 0.12	0.70 ± 0.12
Астматические приступы	0.30 ± 0.10	0.06 ± 0.04*	0.05 ± 0.04	0.05 ± 0.04
Симпатоадреналовые кризы	0.08 ± 0.06	0	0	0

Сравнение с состоянием до начала курса лечения БАД: \*p < 0.05, \*\* p < 0.01.

Уровень актуальной тревожности, оцениваемый по тесту Спилбергера-Ханина, под влиянием БАД монотерапии значительно уменьшался: с  $54.8 \pm 1.8$  до  $47.3 \pm 1.7$  (p < 0.002). Эффект плацебо был мало выражен:  $53.1 \pm 2.4$  до начала и  $50 \pm 2.0$  после курса плацебо.

Сравнение психологического состояния пациенток до и после лечения выявило позитивную динамику основных психо-эмоциональных синдромов под влиянием курса БАД в отличие от плацебо (Табл. 3). Однако статистически значимыми различия между экспериментальной и контрольной группами оказались лишь по выраженности невротического синдрома.

(Здесь уместно заметить, что статистически значимыми в первую очередь оказываются различия, оцениваемые в пределах одной и той же группы методом прямой разности в двух зависимых выборках; в отличие от сравнения двух независимых выборок (экспериментальной и контрольной), когда для выявления статистически значимых различий требуется набирать более многочисленные группы, особенно при регистрации малых отличий сравниваемых показателей на фоне широких дисперсий значений, характерных для большинства медико-биологических объектов).

Таблица 3. Выраженность психических синдромов при климаксе у женщин до и после лечения с использованием БАД Amberen или плацебо при оценке по шкале Куппермана в модификации Е.В.Уваровой .

Синдромы	БАД Amberen (n = 50)		Плацебо (n = 20)	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Астенический	0.92 ± 0.10	0.50 ± 0.08**	0.95 ± 0.09	0.70 ± 0.10
Депрессивный	0.42 ± 0.10	0.14 ± 0.05*	0.30 ± 0.12	0.15 ± 0.08
Тревожно-фобический	0.66 ± 0.11	0.32 ± 0.07*	0.55 ± 0.19	0.30 ± 0.14

Невротический	1.04 ± 0.08	0.48 ± 0.07** <sup>#</sup>	0.95 ± 0.11	0.90 ± 0.12
Гиперсексуальный	0	0	0	0
Гипосексуальный	1.18 ± 0.12	0.58 ± 0.12**	1.10 ± 0.20	0.90 ± 0.20

Сравнение с выраженностью соответствующего синдрома до начала приема БАД

Amberen: \*p < 0.05, \*\* p < 0.01.

Сравнение между эффектами БАД Amberen и Плацебо: <sup>#</sup> p < 0.02.

Обобщенные данные, полученные при обработке дневников - анкет пациенток свидетельствуют о том, что большинство женщин из экспериментальной группы отметили субъективное уменьшение выраженности 11 регистрируемых симптомов после курса БАД Amberen: боли в сердце, головокружения, частоты приливов жара, нарушения концентрации внимания, головной боли, раздражительности, депрессии, тревожности, бессонницы, боли в мышцах и суставах. При этом по 7 симптомам различия оказались значимы между группами женщин, принимавших Amberen или плацебо (Рис 4).

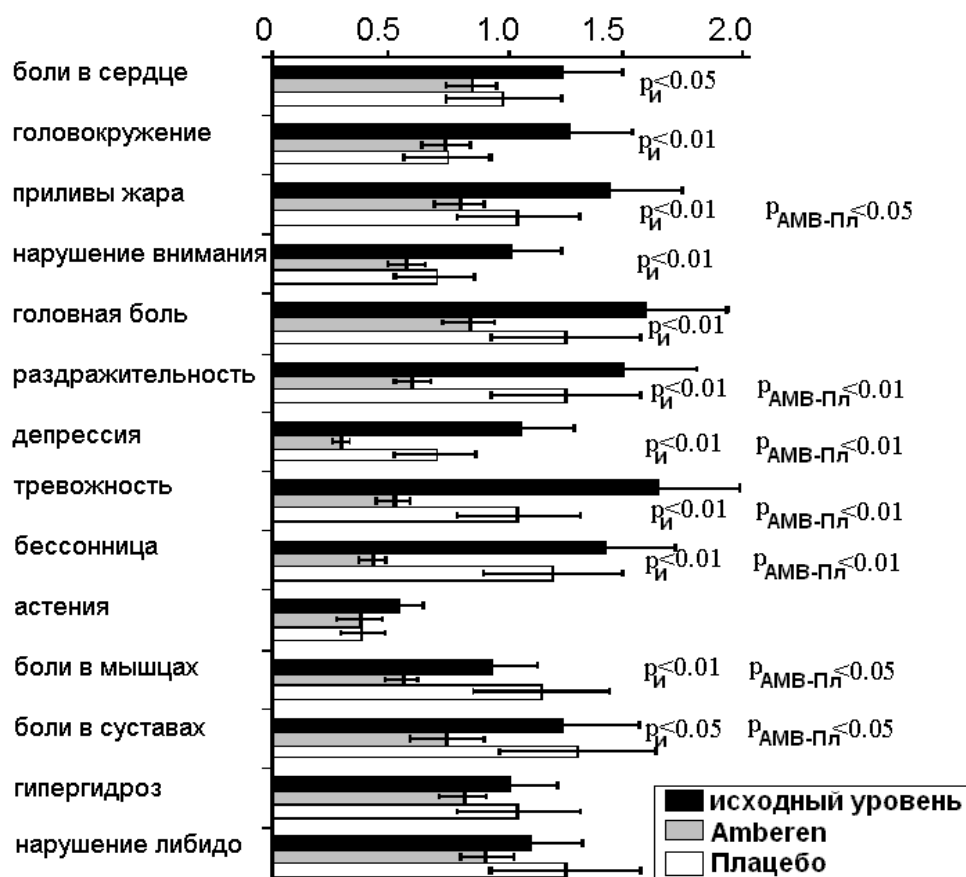


Рисунок 4. Субъективная оценка изменения состояния женщин после лечения с использованием БАД Ambergen или плацебо. ( $p_{и}$  – уровень значимости различий по t-тесту Стьюдента при сравнении с исходным состоянием;  $p_{АМВ-Пл}$  - при сравнении показателей экспериментальной (АМВ) и контрольной групп (Пл) после лечения/

Измеренные биохимические параметры крови и мочи оставались стабильными в обеих группах, за исключением небольшого снижения содержания глюкозы в крови женщин, получавших БАД Ambergen (Табл. 4).

Таблица 4. Биохимические параметры крови у обследованных женщин в климактерическом периоде до и после лечения с использованием БАД Ambergen или плацебо.

Измеряемые параметры, ед.	БАД Ambergen		Плацебо	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
Глюкоза, мМ	4.73±0.14	4.19±0.16 $p<0.02$	4.85±0.26	4.68±0.24
Общий холестерин, мМ	4.62±0.31	4.83±0.44	4.92±0.54	5.55±0.64
$\alpha$ -холестерин*, мМ	1.27±0.04	1.34±0.05	1.20±0.07	1.44±0.10
Индекс атерогенности**	2.65±0.19	2.71±0.30	3.12±0.48	2.98±0.53
Триглицериды, мМ	1.27±0.11	1.36±0.16	1.50±0.26	7.14±10.59
$\beta$ -липопротеины, мМ	3.82±0.24	4.44±0.33	4.34±0.82	4.77±0.81
ЛПНП, мМ	2.69±0.22	3.38±0.30	2.95±0.44	3.60±0.49
ЛПОНП, мМ	0.57±0.05	0.65±0.07	0.69±0.12	0.78±0.18
Общий белок, г/л	71.1±1.59	75.1±1.23	68.9±2.23	71.9±2.78
Протромбиновый индекс, %	90.3±1.27	90.8±1.11	90.9±1.91	91.1±2.08

\* $\alpha$ -холестерин, входящий в состав липопротеинов высокой плотности; \*\*Индекс атерогенности = (общ. холестерин –  $\alpha$ -холестерин)/ $\alpha$ -холестерин; ЛПНП – липопротеины низкой плотности, ЛПОНП - липопротеины очень низкой плотности.

Ультразвуковое исследование не выявило какой-либо динамики в размерах матки и яичников у женщин обследованных групп (данные не показаны). У женщин экспериментальной группы обнаружено несколько более выраженное уменьшение толщины эндометрия: на  $0.61 \pm 0.28$  мм по сравнению с  $0.24 \pm 0.18$  мм в контрольной группе (при исходной средней толщине эндометрия  $4.58 \pm 0.95$  мм). Однако в группе женщин, принимавших БАД, эндометрий выглядел более однородным.



## Обсуждение

Представленные нами экспериментальные результаты свидетельствуют о том, что 4-недельное введение сукцинат-содержащей композиции БАД Amberen стареющим самкам мышей оказывает благоприятное воздействие на внешний вид и поведение животных, структуру ЭЦ и костной ткани. Влияние БАД на те же характеристики у молодых и взрослых животных мало выражено. Проведенный курс БАД обеспечивал восстановление длительности фертильной фазы эструса у старых мышей до уровня, наблюдаемого у животным более молодого возраста, препятствовал возрастной потере массы костной ткани, способствовал увеличению содержания воды и органических компонентов и приращению суммарного содержания кальция в ткани бедренной кости. Поскольку оба явления - резорбция костной ткани и утрата органически связанного кальция могут отражать дефицит эстрогенов, можно было предположить, что введение сукцинат-содержащей добавки обеспечивает приращение уровня эстрогенов у старых мышей.

В двойном слепом плацебо-контролируемом клиническом исследовании нами показано, что 3-недельный прием БАД женщинами с диагнозом «климактерический синдром» приводит к резкому увеличению концентрации эстрадиола в крови без изменения уровня ФСГ и ЛГ. Одновременно в результате монотерапии БАД улучшается субъективное состояние пациенток, уменьшается тяжесть многих нейровегетативных симптомов таких, как головная боль, вестибулопатии, повышенная раздражительность, сонливость, бессонница, частота приливов жара. Более того, по врачебной оценке проведенное с помощью БАД Amberen лечение уменьшало выраженность в климактерическом периоде астенического, депрессивного, тревожно-фобического, невротического и гипосексуального синдромов.

Мы полагаем, что описанные эффекты сукцинат-содержащего препарата обусловлены недавно открытым субстрат-сигнальным действием сукцината, его влиянием на метаболизм и на регуляторные взаимоотношения в системе ГГЯ. Необходимо подчеркнуть, что в наших исследованиях как в эксперименте, так и в клинике были использованы очень низкие дозы сукцината и еще меньшие других интермедиатов митохондриального метаболизма. Эти дозы значительно ниже тех количеств и концентраций субстратов, которые используются ферментными системами митохондрий. Представленные данные свидетельствуют о том, что физиологические эффекты

вызываются весьма малыми дозами сукцината, сравнимыми с таковыми для сигнальных молекул медиаторов и гормонов. Соответственно мы определяем это воздействие как сигнальное. Ранее нами был показан адреномиметический эффект сукцината аммония (в дозе менее 2мг на кг массы тела) у здоровых добровольцев и в эксперименте на животных, когда стимулирующее действие сукцината полностью предотвращалось введением бета-адреноблокатора пропранолола [4]. Эти сигнальные эффекты предполагают наличие сукцинатных рецепторов, которые недавно были идентифицированы в независимых исследованиях [14]. Таким образом, сукцинат, вводимый в сигнальных количествах, является сильным физиологическим регулятором. В частности, он влияет на систему ренина - ангиотензин [14,15], тесно связанную с синтезом адреналина/нормадреналина. Сукцинат может стимулировать активность подавленной гипоталамо-гипофизарной системы и тем самым способствовать восстановлению функции яичников [2].

Согласно теории В.М.Дильмана, при старении происходит снижение чувствительности центров гипоталамуса к сигналам отрицательной обратной связи от периферических органов, в частности от яичников. Последнее соответственно приводит к остановке – нарушению циклической стимуляции яичников со стороны гипоталамуса [1]. И хотя в этот период репродуктивная функция утрачена, потенциал яичников еще не исчерпан.

Несмотря на это для облегчения патологических симптомов климактерического синдрома рекомендуется использовать ГЗТ, которая может сопровождаться побочными нежелательными реакциями и потенциальным риском развития опухолей. В наших исследованиях эффекты, подобные ГЗТ, достигались введением негормональной композиции, содержащей природные субстраты, представленные в основном сукцинатом, естественным митохондриальным метаболитом, обладающим гормоноподобным действием. Наш подход заключается в коррекции метаболизма и регуляторных механизмов нейроэндокринной системы путем использования «сигнальных» интермедиатов энергетического обмена вместо экзогенных гормонов – это первый шаг в направлении метаболической митохондриальной медицины. Такой подход дает право надеяться на перспективу развития более безопасных способов лечения широкого круга заболеваний, в том числе патологических состояний связанных со старением [8].

Представленные результаты по коррекции состояния старых самок мышей и лечению нейровегетативных расстройств у женщин, страдающих от патологических проявлений климактерического синдрома, с помощью сукцинат-содержащей композиции дают основание полагать, что подобный подход может оказаться плодотворным также в терапии ряда других симптомов, связанных с развитием климакса у женщин.

### **Благодарности**

Представленные исследования были поддержаны М.Л.Учителем, Институтом теоретической и экспериментальной биофизики РАН (Пушино), ООО «НПО ПЦ Биофизика» (Москва). Публикация данной работы инициирована и поддержана компанией “Lunada Biomedical, Ltd” (США). Мы выражаем благодарность нашим коллегам Ф.А.Кондрашову, к.м.н. М.А.Визе, к.б.н. И.И. Гноевых, к.м.н. А.П.Черданцеву, врачам Б.В.Пескову, Т.Н.Шитиковой, Г.А.Лазаревой, Л.Е.Берловой, и И.А.Григорьеву за плодотворное сотрудничество при выполнении и представлении настоящего исследования.

### **Литература**

1. Дильман В.М., Анисимов В.Н., Кондрашова М.Н. Влияние янтарной (amber) кислоты на чувствительность гипоталамо-гонадотропной системы у старых крыс//Фармакология и токсикология.1976; **3**: 540-549.
2. Кондрашова М.Н. Гормон-подобное действие янтарной кислоты.// Вопросы мед., биол. и фарм. химии. 2002; **1**:7-12.
3. Маевский Е.И., Розенфельд А.С., Гришина Е.В., Кондрашова М.Н., Коррекция метаболического ацидоза путем поддержания функций митохондрий. ОНТИ, Пушино, ОНТИ, 2001, 150 с.
4. Рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств. Под ред. В.П.Фисенко, Е.В.Арзамасцевой, Е.А.Бабаяна и др. М.: Министерство здравоохранения РФ, 2000, 398 с.
5. Розен В.Б. Основы эндокринологии. М: МГУ, 1994.384 с. Alder E. The Blatt-Kupperman menopausal index: a critique. *Maturates* 1998;**29**:19–24.

7. Anisimov VM. Premature aging prevention: limitations and perspectives of pharmacological interventions. *Current Drug Targets* 2006; **7**:1485-1503.
8. Dilman VM. Endocrinological oncology (in Russian), Leningrad. *Medicina* 399.
9. Dilman VM. Changes in hypothalamic sensitivity in aging and cancer. In: Stoll BA., editor. *Mammary Cancer and Neuroendocrine Therapy*. London, 1974:197-212.
10. Dilman V, Dean W. The Neuroendocrine Theory of Aging and Degenerative Disease. NY: Center Bio Gerontology, 1992:138.
11. Essential guide to menopause. American Medical Association. New York, NY, 1998:253.
12. Estes KS, Simkins JW. Resumption of pulsatile of luteinizing hormone release after alfa-adrenergic stimulation in aging estrous rat. *Endocrinology* 1982; **111**:1778-1784.
13. Greendale G, Reboussin B, Hogan P, et al. Symptom relief and side effects of postmenopausal hormones: results from the Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions Trial. *Obst Gynecol* 1998; **92**:982-988.
14. He W, Mlao 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. Hebert SC. Physiology: Orphan detectors of metabolism. *Nature* 2004; **429**:143-145.
16. Hersh A, Stefanick M, Stafford R. National use of postmenopausal hormone therapy: annual trends and response to recent evidence. *JAMA* 2004; **291**:47-53.
17. Kondrashova MN, Volkova SP, Grigorenko EV, Babsky AM, Podoletz A., Kuznetzova GD. Succinic acid as a physiological signal molecule. In: Winlow W, Vinogradova OS, Sakharov DA, editors. *Signal Molecule and Behaviour*. Manchester & NY: Manchester University Press, 1991: 295-300.
18. Maevsky EI, Guzar IB, Rosenfeld AS, Kondrashova MN. Doesn't succinic acid mediate adrenaline stimulation in mitochondria? *EBEC Reports*. Lyon: LBTM-CNRS, 1982; **2**:537.
19. National Institutes of Health State-of-the-Science Conference statement: management of menopause-related symptoms. *Ann Int Med* 2005; **142**:1003-1013.
20. Ockene JK, Barad DH, Cochrane BB, Larson JC, Gass M., Wasserheit-Smoller S, et al. Symptom Experience After Discontinuing Use of Estrogen Plus Progestin. *JAMA* 2005; **294**:183-193.

21. Patel BS, Munshi AP. Menopause and hormone replacement therapy: what is the future? *J Med Educ and Res* 2006 ;**8**:57-59.
22. Spielberger CD. Preliminary manual for the State-Trait Personality Inventory (STPI). University of South Florida, 1979.
23. Temel S, Lin W, Lakhiani S, Jennes L. Expression of estrogen receptor-alfa and cFos in norepinephrine and epinephrine neurons of young and middle-aged rat during the steroid-induced luteinizing hormone surge. // *Endocrinology* 2002; **143**:3974-3983.
24. Yin W, Core AC. Neuroendocrine control of reproductive aging: role of GnRH neurons.// *Reproduction* 2006; **131**:403-414.
25. Weis G, Skurnick JH, Goldsmith LT, et al. Menopause and hypothalamic-pituitary sensitive to estrogen.// *J Amer Med Ass.* 2004, **292**:2991-2996.
26. Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the Women's Health Initiative randomized controlled clinical trial.// *JAMA.* 2002, **288**:321-333.