

## КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВОЗРАСТНОГО И СИСТЕМНОГО АНТИОКСИДАНТНОГО ЭФФЕКТОВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ «СЕЛЕРДЖЕН»

УДК 612.394

Труханов А.И., Коркина Л.Г., Чертушкин В.С., Щукина Е.В., Манахова М.Е., Де Люка Кьяра  
«Клиника Активного Долголетия «Института Красоты на Арбате», Москва, Россия

## CLINICAL AND LABORATORY STUDIES ANTI AGE AND SYSTEMIC ANTIOXIDANT EFFECT OF BIOLOGICALLY ACTIVE FOOD ADDITIVES «SELERDZHEN»

Truhanov AI., Korkina LG., Chertushkin VS., Shchukina EV., Manahova ME., De Luca Kyara  
*Clinic of active longevity «Institute of Beauty on the Arbat», Moscow, Russia*

### Введение

В современном мире происходит постоянный интенсивный поиск средств и способов, обладающих противозрастным действием на кожу человека, подвергаемой хронологическому (зависимому от возраста) и преждевременному, обусловленному генетическими факторами и условиями окружающей среды, старению. В норме кожа человека хорошо снабжается низкомолекулярными антиоксидантами, витамином Е, коэнзимом Ку10 и селеном, которые получают с пищей и доставляются в кожу током крови. В коже существует также хорошо развитая сеть антиоксидантных ферментов, которые защищают ее от вредного воздействия свободных радикалов, образующихся в окружающей среде и способствующих преждевременному старению кожи [1]. Например, микроэлемент селен входит в активный центр антиоксидантных ферментов глутатионпероксидазы и тиоредоксинредуктазы [2]. Кроме важной функции как активный центр ферментов, селен является важнейшей частью неферментативной клеточной защиты от активных форм кислорода и азота, будучи составным элементом селенометионина, который нейтрализует биологически опасные свободные радикалы [2], которые ингибируют внутриклеточный стресс-сигнал, подаваемый интерлейкином-8 [3]. Многочисленные исследования показали, что витамин Е является ключевым неферментным антиоксидантом в верхнем роговом слое кожи, который, предотвращая окисление полиненасыщенных жирных кислот, восстанавливает и поддерживает барьерные свойства кожи, защищая, таким образом, кожу и организм в целом от проникновения вредных веществ и частиц [1, 4]. Известно также, что коэнзим Ку10 является исключительно эффективной ловушкой супероксидных радикалов, продуцируемых как циркулирующими лейкоцитами крови, так и тканевыми макрофагами [5], а также ингибирует процесс перекисного окисления липидов [4, 6]. В условиях хронического воспаления, которое наблюдается во время старения кожи, при псориазе и атопическом дерматите, уровни коэнзима Ку10 и селена в

коже становятся ниже нормы [4, 6, 7], отражая их ускоренное расходование на нейтрализацию избытка свободных радикалов. Поскольку и селен, и коэнзим Ку10, входящие в состав пищевых добавок или введенные внутривенно, легко достигают корневого слоя кожи [4, 8, 9, 10], они поддерживают окислительно-восстановительный баланс и в крови, и в коже, улучшая ее структуру и функции [4, 8, 11, 12]. Они же теоретически могут замедлить свободно-радикальные процессы старения кожи и существенно повысить антиоксидантную защиту организма в целом.

Целью настоящего исследования являлось изучить клинические и биохимические эффекты СЕЛЕРДЖЕНА, содержащего известные антиоксиданты, витамин Е, коэнзим Ку10, селен, ликопен и коллагеновые пептиды морской рыбы. По мнению производителей, коллагеновые пептиды рыбы могут существенно улучшить метаболизм коллагена у человека, сдвинув его равновесие от распада (связанного со старением) в синтезу (связанному с регенерацией тканей).

### Материалы и методы

Тестируемый продукт (желатиновые капсулы) содержал коллагеновые пептиды морской рыбы (570 мг), экстракт кожицы винограда (10 мг), коэнзим Ку10 (10 мг), лютеин (10 мг) и селен (50 мкг), растворенные в соевом лецитине (700 мг).

Сорок один взрослых волонтеров обоих полов (разброс возраста 33–72 года; средний возраст  $50,60 \pm 10,37$  лет; 5 мужчин и 36 женщин) были отобраны для исследования, следуя критериям включения и исключения. Им было рекомендовано принимать 2 капсулы СЕЛЕРДЖЕНА в день во время завтрака и ужина в течение 60 дней. До начала испытания и сразу после него у участников исследования проводился забор крови натощак (20 мл) в пробирку с гепарином. Кровь отстаивалась в течение 30 мин, осевшие эритроциты собирались и отмывались. Плазма собиралась после короткого центрифугирования и хранилась при  $-80^{\circ}\text{C}$  до проведения биохимических анализов. Анализы окислительно-восстановительного статуса проводились в течение 72 часов после забора крови. Уровни нитритов и нитра-

тов в плазме определяли методом Грисса [13], восстановленный глутатион в эритроцитах определяли методом высокоэффективной хроматографии [14]. Активности супероксиддисмутазы [15], каталазы [16], глутатион-S-трансферазы [17] и глутатионпероксидазы [18] измеряли спектрофотометрически. Количественный анализ коэнзима Ку10 проводили методом высокоэффективной хроматографии в фотодиодом и электрохимическим детектором [19]. Количественный анализ малонового диальдегида осуществляли спектрофотометрически [20]. Количество АТФ в эритроцитах проводили методом люциферин-люциферазной хемилюминесценции, используя стандартную методику и КИТ, производимый СИГМОЙ Ко.

Оценку функциональных параметров кожи проводили на КУТОМЕТРЕ МРА 580 (Каллегари, Италия) по методикам, предлагаемым производителем. Биологический возраст кожи вычислялся по комплексу параметров, используя программу СОФТ ПЛЮС ТОП того же производителя. Ультразвуковые свойства кожи определяли специализированной УЗИ системой ДУБ КУТИС, Германия. Субъективная оценка эффектов препарата проводилась по специально разработанной анкете.

Статистическая обработка результатов провели в помощью программы СТАТИСТИКА 6.0 (Стат Софт Инк.).

#### Результаты и обсуждение

Субъективная оценка доктора и волонтера

Не было отмечено ни одного случая нежелатель-

ного осложнения. Общее заключение отмечало хорошую переносимость препарата, улучшение общего состояния 51% (21 волонтер) и состояния кожи 61% (25 волонтеров) (Таблица 1). Большинство пациентов (75%, 33 волонтера) принимали препарат регулярно, что отразилось на содержании коэнзима Ку10 в плазме. Анализируя параметры физиологии кожи, было отмечено снижение среднего биологического возраста кожи лица участников ( $-1,5 \pm 0,2$  года). У половины участников (21 человек) средний биологический возраст кожи снизился более существенно ( $-2,6 \pm 0,5$  года). Среди всех параметров физиологии кожи, самое заметное улучшение наблюдалось в увеличении эластичности и усилении продукции кожного сала, которое заметно снижается с возрастом и в неблагоприятных условиях окружающей среды (Таблица 2). Частичное объяснение повышенной эластичности может состоять в усилении синтеза коллагена с  $0,98 \pm 0,10$  до  $1,38 \pm 0,08$  мкг/мл;  $p < 0,05$ ) (Рисунок 8). Курс СЕЛЕРДЖЕНА не приводил к патологическим изменениям параметров окислительно-восстановительного баланса, все они оставались в пределах нормальных величин, хотя отмечалось повышение уровня АТФ ( $2,18 \pm 0,30$  в начале и  $2,81 \pm 0,2$  мМ в конце;  $p < 0,05$ ) (Рисунок 7), малонового альдегида ( $1,14 \pm 0,15$  против  $1,98 \pm 0,23$ ;  $P < 0,05$ ) и уровня нитритов и нитратов. В то же время, активности основных антиоксидантных систем не изменились, а активность СОД слегка уменьшилась (Таблицы 3–4).

Таблица 1. Субъективная оценка препарата «CELERGEN SOFTGEL»

Параметр	Число (%) участников		
	Улучшение	Нет эффекта	Осложнения
Общее состояние	21 (51%)	20 (49%)	0 (0%)
Сила в мышцах, подвижность суставов	15 (36%)	26 (64%)	0 (0%)
Желудочно-кишечный тракт	0 (0%)	41 (100%)	0 (0%)
Состояние кожи	25 (61%)	16 (39%)	0 (0%)
Самоощущение	0 (0%)	41 (100%)	0 (0%)

Таблица 2. Ультразвуковое исследование кожи

Параметр	Эпидермис		Дерма	
	До	После	До	После
Толщина, $\mu\text{m}$	$76,89 \pm 0,97$	$76,89 \pm 0,97$	$3884 \pm 30$	$3900 \pm 31$
Акустическая плотность	$35,57 \pm 2,43$	$35,20 \pm 2,19$	$5,22 \pm 0,22$	$5,94 \pm 0,97$

Таблица 3. Физиологические параметры кожи

Parameter	Epidermis		Dermis	
	Before	After	Before	After
Thickness, $\mu\text{m}$	$76,89 \pm 0,97$	$76,89 \pm 0,97$	$3884 \pm 30$	$3900 \pm 31$
Acoustic density	$35,57 \pm 2,43$	$35,20 \pm 2,19$	$5,22 \pm 0,22$	$5,94 \pm 0,97$

Таблица 4. Эффекты СЕЛЕРДЖЕНА на параметры физиологии кожи (n = 35)

Parameter	Before	After
Elasticity	33,66±1,31	40,26±0,87*
Moisture	49,03±3,52	46,54±3,02
Sebum	29,37±4,76	56,86±4,04**
Skin Biological Age	49,51±1,68	48,09±1,74

### Выводы

Биологически активная добавка в пищу с СЕЛЕРДЖЕНА является безопасным и эффективным средством для улучшения вида и свойств стареющей кожи лица, частично, за счет усиления синтеза коллагена. Улучшение общего самочувствия, которое отмечало большинство участников, коррелирует с повыше-

нием запасов энергии, которое оценивалось по уровню АТФ. Повышение в пределах физиологической нормы уровня нитритов/нитратов и малонового диальдегида можно также считать показателями генерализованного противозрастного эффекта БАД, так как эти факторы ответственны за активацию эндогенных механизмов защиты от старения.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/ REFERENCES:

- Thiele JJ, Schroeter C, Hsieh SN, Podda M, Packer L. The antioxidant network of the stratum corneum. In: Thiele J, Elsner P, eds. Oxidants and antioxidants in cutaneous biology. Karger; 2000, p. 26–42.
- Thiele JJ, Weber SU, Packer L. Sebaceous gland secretion is a major physiological route of vitamin E delivery to skin. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 1006–1010.
- Klotz LO, Kroncke KD, Buchczyk DP, Sies H. Role of copper, zinc, selenium and tellurium in the cellular defense against oxidative and nitrosative stress. *J Nutr* 2003; 133: 1448S–1451S.
- Jozsef L, Filep JG. Selenium-containing compounds attenuate peroxynitrite-mediated NF-kappaB and AP-1 activation and interleukin-8 gene and protein expression in human leukocytes. *Free Radic Biol Med* 2003; 35: 1018–1027.
- Passi S, De Pita O, Grandinetti M, Simotti C, Littarru GP. The combined use of oral and topical lipophilic antioxidants increases their levels both in sebum and stratum corneum. *Biofactors* 2003; 18: 289–297.
- Korkina L, Deeva I, Ibragimova G, Shakula A, De Luca C. Coenzyme Q containing composition (IMMUGEN R) against occupational and environmental stress in workers of gas and oil industry. *Biofactors* 2003; 18: 245–254.
- Briganti S, Picardo M. Antioxidant activity, lipid peroxidation and skin diseases. What's new. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2003; 17: 663–669.
- Serwin AB, Wasowicz W, Gromadzinska J, Chodyncka B. Selenium status in psoriasis and its relations to the duration and severity of the disease. *Nutrition* 2003; 19: 301–304.
- Berger MM, Baines M, Raffoul W, Benathan M, Chioloro RL, Reeves C, et al. Trace element supplementation after major burns modulates antioxidant status and clinical course by way of increased tissue trace element concentrations. *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 1293–1300.
- Richelle M, Sabatier M, Steiling H, Williamson G. Skin bioavailability of dietary vitamin E, carotenoids, polyphenols, vitamin C, zinc and selenium. *Br J Nutr* 2006; 96: 227–238.
- Ashida Y, Yamanishi H, Terada T, Oota N, Sekine K, Watabe K. CoQ10 supplementation elevates the epidermal CoQ10 level in adult hairless mice. *Biofactors* 2005; 25: 175–178.
- Heinrich U, Tronnier H, Stahl W, Bejot M, Maurette JM. Antioxidant supplements improve parameters related to skin structure in humans. *Skin Pharmacol Physiol* 2006; 19: 224–231.
- Maggini S, Wintergerst ES, Beveridge S, Hornig DH. Selected vitamins and trace elements support immune function by strengthening epithelial barriers and cellular and humoral immune responses. *Br J Nutr* 2007; 98: S29–35.
- Korkina L, Mikhail'chik E, Suprun M, Pastore S, Dal Toso R. Molecular mechanisms underlying wound healing and anti-inflammatory properties of naturally occurring bio-technologically produced phenylpropanoid glycosides. *Cell Mol Biol* 2007; 53: 78–83.
- Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer HU, editor. *Methods of Enzymatic Analysis*. Vol. 2. New York and London, Academic Press; 1984, p. 673–684.
- Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autooxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem* 1972; 247: 3170–174.
- Paglia DE, Valentine WN. Studies of quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158–169.
- Lowry OH, Rosenbrough NF, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265–270.
- Giovannoni G, Land JM, Keir G, Thompson EJ, Heales SJ. Adaptation of the nitrate reductase and Griess reaction methods for the measurement of serum nitrate plus nitrite levels. *Ann Clin Biochem* 1997; 34: 193–198.
- Yagi K. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem Med Metab B* 1976; 15: 212–216.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., 1974. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249, 7130–7139.
- Reed, D.J., Babson, J.R., Beatty, P.W., Brodie, A.E., Ellis, W.W., Potter, D.W., 1980. High performance liquid chromatography analysis of nanomole levels of glutathione disulphide and related thiols and disulphides. *Anal. Biochem.* 106, 55–62.
- Sun, Y., Oberley, L.W., Li, Y. 1988. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem.* 34, 497–500.
- De Luca C., Deeva I, Mariani S., Maiani G., Stancato A., Korkina L. Monitoring antioxidant defenses and free radical production in space-flight, aviation and railway engine operators, for the prevention and treatment of oxidative stress, immunological impairment and pre-mature cell aging. *Toxicology and Industrial Health*, 25 (4–5): 259–67, 2009.
- Yagi K. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem Med Metab B* 1976; 15: 212–216.
- Lang, J.K. et al. Simultaneous determination of tocopherols, ubiquinones in blood, plasma, tissue homogenates, and subcellular fractions. *Anal. Biochem.*, 157: 106–116, 1996.
- De Luca C., et al. Blood antioxidant status and urinary levels of catecholamine metabolites in  $\beta$ -thalassemia. *Free Radic. Res.*, 30: 453–462, 1999.
- Passi S, Picardo M, Morrone A, De Luca C, Ippolito F. Skin surface lipids in HIV sero-positive and HIV sero-negative patients affected with seborrheic dermatitis. *J Dermatol Sci* 2: 84–91, 1991.
- Passi S, De Pita O, Puddu P, Littarru GP. Lipophilic antioxidants in sebum and aging. *Free Rad Res* 2002; 36: 471–477.
- Kostyuk V. et al. Photo-oxidation products of skin surface squalene mediate metabolic and inflammatory responses to solar UV in human keratinocytes. *PLoS One.*, 7(8): e444472, 2012. doi: 10.1371/journal.pone.0044472.

**РЕЗЮМЕ**

Было проведено открытое нерандомизированное клиническое испытание безопасности и эффективности как противозрастного препарата биологически активной добавки к пище «СЕЛЕРДЖЕН» в группе клинически здоровых волонтеров обоих полов (разброс по возрасту в группе из 41 человека был 33–72 года). В качестве вторичного показателя эффективности, измерялись биохимические параметры окислительно-восстановительного статуса и продукция коллагена. Протокол клинического испытания был одобрен Этическим Комитетом Института и все участники исследования подписали информированное согласие. Участники были рекрутированы на основании критериев включения в испытание и исключения из испытания. Им было предложено принимать 2 капсулы препарата «СЕЛЕРДЖЕН» в день в течение двух месяцев. На время периода испытаний все участники не должны были принимать никаких других биологически активных добавок или витаминов. Прием БАД объективно оценивался по уровню коэнзима Ку10 в крови, так как «СЕЛЕРДЖЕН» содержит этот коэнзим как активный ингредиент. Безопасность препарата оценивалась субъективно, учитывая мнение лечащего врача и участника испытания. Клинический (эстетический противозрастной эффект) оценивался по цифровым фотографиям, сделанным в начале и в конце испытания, а также по анкетам, заполненным врачом и пациентом. Инструментальные методы оценки противозрастного эффекта на кожу лица включали функциональные параметры физиологии кожи, такие как эластичность, сальность и увлажненность. Был проведен специализированный ультразвуковой анализ кожных слоев, по которому определялись толщина и упорядоченность коллагеновых волокон в эпидермисе и дерме. На основании полученных результатов оценивался биологический возраст кожи лица до и после исследования. Лабораторные биохимические анализы включали: определение уровня гидроксипролина в крови как мера синтеза коллагена; уровень нитритов и нитратов в плазме; активности основных антиоксидантных ферментов, таких как супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза и глутатион-S-трансфераза; уровень восстановленного глутатиона в эритроцитах; содержание малонового диальдегида в плазме; уровень АТФ в эритроцитах. Все данные были проанализированы статистически, используя подходящий метод анализа. Результаты статистической обработки показали, что «СЕЛЕРДЖЕН» обладает определенным противозрастным эффектом на кожу лица, снижая ее биологический возраст, оказывает энергизирующее действие, увеличивая запасы АТФ, меняет окислительно-восстановительный потенциал, сдвигая его в сторону, соответствующую более молодому возрасту.

**Ключевые слова:** биологически активная добавка «Селерджен», синтез коллагена, окислительно-восстановительный потенциал кожи, генерализованный противозрастной эффект.

**ABSTRACT**

It was followed by an open non-randomized clinical trial of the safety and efficacy as an anti-aging drug biologically active food supplement «Selerdzhen» in a group of clinically healthy volunteers of both sexes (age variation in a group of 41 people was 33–72 years). As a secondary performance indicator, measured biochemical parameters of the redox status and collagen production. The protocol of the clinical trial was approved by the Ethics Committee of the Institute and all study participants gave written informed consent. Participants were recruited on the basis of the criteria included in the test and exclude from the trial. They were asked to take 2 capsules of the drug «Selerdzhen» a day for two months. During the test period, all participants did not have to take any other dietary supplements or vitamins. Admission BAA objectively assess the level of coenzyme Ku10 levels as «Selerdzhen» contains the active ingredient as a coenzyme. Safety of the drug was evaluated subjectively, taking into account the opinion of the attending physician and member of the test. Clinical (aesthetic anti-aging effect) was evaluated by digital photographs taken at the beginning and end of the test, as well as questionnaires completed by the physician and the patient. Instrumental methods for assessing anti-aging effect on the skin include functional parameters of physiology of the skin, such as elasticity, greasiness and moisturized. It was held a specialized ultrasound analysis of skin layers, which are determined by the thickness and order of collagen fibers in the epidermis and dermis. Based on the results estimated biological age of skin before and after the study. Laboratory biochemical analyzes included: determining the level of hydroxyproline levels as a measure of collagen synthesis; nitrite and nitrate in plasma; activity of the main antioxidant enzymes such as superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione-S-transferase; the level of reduced glutathione in red blood cells; the content of malondialdehyde in plasma; urovet ATP in erythrocytes. All data were statistically analyzed using a suitable method of analysis. Results of statistical treatment showed that «Selerdzhen» has a certain anti-aging effect on the skin, reducing its biological age, has energizing effect, increasing the ATP stores, changing the redox potential by shifting it to the side corresponding to a younger age.

**Keywords:** biologically active food supplement «Selerdzhen», collagen synthesis, redox potential skin, generalized anti-age effect.

**Контакты:**

Коркина Л.Г. E-mail: korkina\_l@mail.ru