

С целью экспериментального обоснования этих соображений нами была получена фракция, извлеченная из плодов софоры японской путем их обработки 95% спиртом этиловым без предварительной экстракции хлороформом. Масса данной фракции составляла 12,3 г, то есть мало отличалась от суммарного количества уже изученных хлороформной и 95% спиртовой фракций. Данный факт позволил предположить, что 95% спирт этиловый извлекает большинство из тех БАВ плодов софоры, которые ранее переходили в состав хлороформной фракции.

Для получения дополнительных доказательств наших предположений была изучена антимикробная активность данной фракции. В результате исследований установлено, что в концентрации 2% она полностью подавляла рост как грамположительной, так и грамотрицательной микрофлоры, то есть обладала активностью, близкой к антибактериальному действию хлороформной фракции. Таким образом, при комплексной переработке плодов софоры вполне возможным представляется на первом этапе в качестве экстрагента применять 95% спирт этиловый, не прибегая к обработке сырья менее полярным хлороформом. Таким образом, в результате проведенного исследования установлена целесообразность и возможность комплексной переработки плодов софоры японской путем их последовательной экстракции с применением разнополярных экстрагентов. Выявлено, что наиболее рациональным для получения разнополярных фракций БАВ плодов софоры – потенциальных лекарственных средств, – является применение экстрагентов в следующем порядке: 95% спирт этиловый, 70% спирт этиловый,

вода очищенная. При этом фракции, получаемые извлечением плодов софоры 95% и 70% спиртом этиловым можно рассматривать как потенциальные фармацевтические субстанции антимикробного действия. Что касается водной фракции, то, несмотря на отсутствие у нее выраженной способности подавлять рост микроорганизмов, представляется целесообразным изучить другие возможные аспекты медицинского применения данного продукта, учитывая виды фармакоактивности, присущие содержащимся в нем БАВ.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ковалева Л. Г. Разработка состава и технологии стоматологического геля с жидким экстрактом плодов софоры японской / Л. Г. Ковалева, А. М. Сампиев, Е. Б. Никифорова // Евразийский союз ученых. – 2014. – №9. – С. 140-143.
2. Ковалева Л. Г. Совершенствование технологии переработки плодов софоры японской в суммарный фитопрепарат / Л. Г. Ковалева, А. М. Сампиев // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2014. – №4 (9). – С. 46-52.
3. Минина С. А. Химия и технология фитопрепаратов / С. А. Минина, И. Е. Каухова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, – 2009. – С. 560.
4. МУК 4.2.1890-04 «Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам».
5. Пономарев В. Д. Экстрагирование лекарственного сырья. – М.: Медицина, – 1976. – С. 204.
6. Сампиев А. М. Кукурузные рыльца: от выявления действующих веществ до создания технологии малоотходной переработки сырья. Сообщение 3. Совершенствование технологии и нормирования качества жидкого экстракта и разработка схемы малоотходной переработки растительного сырья / А. М. Сампиев, Е. Б. Никифорова, М. Р. Хочава // Кубанский научный медицинский вестник. – 2006. – №12. – С.117-123.
7. Современное состояние и перспективы дальнейшего исследования плодов софоры японской / Сампиев А. М. [и др.] // Научные ведомости Белгородского университета. – 2012. – №22 (141), выпуск 20. – С.163-170.

Поступила 29.09.2016

О. Г. САРКИСЯН

## НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ АТРОФИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ВО ВЛАГАЛИЩНОЙ ТКАНИ У ЖЕНЩИН В ПОСТРЕПРОДУКТИВНОМ ПЕРИОДЕ

*Кафедра общей и клинической биохимии №1 ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России; Ростов-на-Дону, Россия. 344022, Ростов-на-Дону, Нахичевский пер., 29.  
Тел. (863)201-44-17. E-mail: kbunpk-rostov@yandex.ru*

С целью повышения эффективности ранней диагностики и медикаментозной терапии атрофического кольпита проведен оценочный анализ работы калликреин-кининовой системы и активности индуцибельной NO-синтазы периферической крови.

Обследовано 35 женщин (средний возраст 51±2,8 лет) с умеренной атрофией влагалища. Группа сравнения – 35 женщин (средний возраст 48±3,6 лет) без признаков атрофии и урогенитальной симптоматики.

Результаты исследования показали, что в сыворотке крови женщин с признаками атрофического кольпита отмечается увеличение активности калликреина на фоне снижения содержания прекалликреина, угнетение ингибиторной активности  $\alpha 2$ -макроглобулина и регистрируется резкий рост активности индуцибельной NO-синтазы у женщин клинической группы, что отражает реакцию организма в ответ на локальное нарушение микроциркуляции.

Анализ результатов свидетельствует о возможности возникновения локального нарушения микроциркуляции до клинического проявления заболевания, что позволит в кратчайшие сроки провести диагностику тканевых дистрофических изменений с использованием дополнительного лабораторного метода при отсутствии четких клинических признаков заболевания.

*Ключевые слова:* калликреин-кининовая система, индуцибельная NO-синтаза, атрофический кольпит.

**O. G. SARKISAN**

## NEW POSSIBILITIES OF ATROPHIC CHANGES PREDICTING IN VAGINAL TISSUE AT WOMEN IN POST REPRODUCTIVE PERIOD

*Department of general and clinical biochemistry N1 SBEI HPE «Rostov State Medical University»,  
Ministry of Health of the Russian Federation, 344022, Rostov-on-Don, 29, Nakhichevsky st, Russia.  
E-mail: kbunpk-rostov@yandex.ru*

With the aim of increasing the effectiveness of early diagnostics and medical therapy of atrophic colpitis the valuation analysis of the kallikrein-kinin system and the activity of inducible NO-synthase in peripheral blood is carried out.

35 women (mean age  $51 \pm 2.8$  years) with moderate atrophy of the vagina was examined. A comparison group – 35 women (mean age  $48 \pm 3.6$  years) without signs of atrophy and urogenital symptoms.

The results of the study showed that in the serum of blood of women with symptoms of atrophic colpitis marked increase in the activity of kallikrein, decrease of prekallikrein level, inhibition of the inhibitory activity of  $\alpha 2$ -macroglobulin and recorded a sharp increase in the activity of inducible NO-synthase in clinical group of women that reflects the body's response on local disruption of the microcirculation.

The results analysis testify about possibility of microcirculation local disturbances before clinical manifestations of the disease, that allow to diagnose of tissue degenerative changes in the shortest time with the use of additional laboratory method in the absence of clear clinical signs of the disease.

*Key words:* kallikrein-kinin system, inducible NO-synthase, atrophic colpitis.

Атрофические изменения слизистой влагалища остаются одной из наименее изученных проблем современной гинекологии, чем объясняется существенное снижение качества жизни профессионально и творчески активных женщин в пострепродуктивном периоде. Уточнение патогенетических механизмов для последующего отбора информативных маркеров формирования атрофического процесса позволит выбрать правильные пути диагностического и терапевтического решения улучшения качества жизни у женщин данной возрастной группы. Имеющиеся на сегодняшний день клинико-диагностические методы регистрируют уже сформировавшийся процесс, поэтому возникает необходимость в поисках новых маркеров, устанавливающих ранние проявления нарушения жизнедеятельности клетки. Патогенез атрофического кольпита чаще всего связывают с эстрогенным дефицитом [1]. Эстрогеновые рецепторы влагалища расположены в эпителии, строме и в миофибриллах гладкой мускулатуры. Поскольку в клетках стромы влагалища содержатся

эстрогеновые рецепторы, то коллаген, входящий в состав соединительной ткани влагалищной стенки, является эстрогенчувствительной структурой и обеспечивает эластичность вагинальной стенки [1]. В результате эстрогенный дефицит сопровождается снижением кровообращения во влагалище до уровня ишемии различной степени, формируются метаболические сдвиги, которые могут быть предикторами атрофических изменений ткани влагалища [1]. Известно, что кинины являются мощными регуляторами кровообращения на всех уровнях деятельности, а также опосредуют восприятие гормонов [2]. Пострецепторный биохимический механизм действия кининов, включающий освобождение цАМФ, связывают с влиянием на активность NO-синтазы, фосфолипазы и циклооксигиназы с образованием в клетке-мишени оксида азота (NO) и простагландинов (PGE1, PGE2, PGI2) из  $\gamma$ -арахидоновой кислоты, а также эндотелиального фактора гиперполяризации, обладающих сосудорасширяющими свойствами с последующим улучшением микровазкуляризации эндотелия

сосудов и увеличением числа эндотелиальных клеток [3].

В последнее время появились сообщения о влиянии лейкоцитарной эластазы на компоненты ККС, в частности на высокомолекулярный кининоген [4]. Под ее действием происходит расщепление не только коллагеновых и эластиновых волокон, но гликопротеидов основного вещества соединительной ткани [5].

Выяснение молекулярных механизмов и возможностей прогнозирования появления атрофических изменений влагалищной ткани позволит определить степень риска и выбрать рациональные пути управления процессами старения для повышения качества жизни женщин, находящихся в пострепродуктивном периоде.

Учитывая тот факт, что калликреин-кининовая система (ККС) крови является центральным звеном в комплексе гуморальных систем, регулирующих гомеостаз и осуществляющих адаптивно-защитные реакции организма, а активность индуцибельной NO-синтазы также является важным модулятором многих биологических и физиологических свойств сосудистой стенки [3, 6], представляется целесообразным изучить вклад этих систем в развитие атрофии. Кинины влияют на состояние рецепторов, воспринимающих действие гормонов [2]. Одним из основных стимуляторов синтеза NO является брадикинин – главный эффекторный пептид калликреин-кининовой системы организма человека [3, 7].

Таким образом, в целом действие ККС и лейкоцитарная NO-синтаза, имеющие тесную биохимическую связь, направлены преимущественно на регуляцию сосудистого русла и сосудистую проницаемость. Нарушение гармоничного единства этих функциональных систем может снижать обменный потенциал капилляров и являться одной из причин развития атрофии.

Цель исследования – анализ нарушения баланса в системе протеиназы-ингибиторы ключевых протеолитических систем крови – ККС, – и активности индуцибельной NO-синтазы, оценка их информативности для выявления признаков формирования атрофического кольпита.

### Материалы и методы

Клиническую группу составили 35 пациенток (средний возраст  $51 \pm 2,8$  лет), страдающих урогенитальными расстройствами и имеющие объективные признаки умеренной атрофии слизистой влагалища.

Группа сравнения (контрольная группа) представлена 35-ю пациентками (средний возраст  $48 \pm 3,6$  лет) без патологической урогенитальной симптоматики и признаков атрофии, проходивших оперативное лечение в гинекологической клинике. Из обследования методом ультразвукового сканирования были выключены пациентки с органической патологией (эндометриоз, киста яичника и др.). Все исследования проводились у пациенток в пострепродуктивном периоде с их информативного согласия.

Перед операцией пациентки проходили общеклинические, лабораторные, специальные гинекологические исследования.

Умеренную атрофию диагностировали на основании наличия поверхностного трансудата, минимальной влажности влагалищной ткани, pH трансудата 5,1-5,5 и наличия кровоточивости при соскабливании [1].

Как показали наблюдения, у женщин клинической группы в сыворотке крови регистрировались следующие показатели протеолитических систем организма: активность калликреина (КФ 3.4.21.8) (К) и содержание прекалликреина (ПК) после отделения от других сериновых протеиназ с помощью ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-сефадексе А-50 по скорости гидролиза N-бензоил-1-аргинин этилового эфира (БАЭЭ) [8], ингибиторную активность  $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора ( $\alpha 1$ -ПИ) и  $\alpha 2$ -макроглобулина ( $\alpha 2$ -МГ) унифицированным энзиматическим методом [9], активность эластазы [4] и эластазоподобную активность по скорости гидролиза N-третбутоксикарбонил-аланин-p-нитрофенилового эфира (ВОС-Ala-ONp) [10]. Продукцию NO мононуклеарными клетками крови определяли по методу Ю. В. Шебзухова и соавторов (1998) [11].

Обработку полученных данных проводили общепринятыми методами медицинской статистики с использованием U-критерия Манна-Уитни с применением пакета прикладных программ Statistica 6.1. Статистически достоверными считали отличия, соответствующие оценке ошибки вероятности  $p < 0,05$  [12].

Результаты и их обсуждение. Результаты исследования показали, что в сыворотке крови женщин с атрофическим кольпитом отмечается увеличение на 153,4% ( $p_{1-2} < 0,001$ ) активности калликреина на фоне снижения содержания его профермента – прекалликреина, – на 14,6% ( $p_{1-2} < 0,05$ ) по сравнению с соответ-

## Показатели ККС у женщин с атрофическим кольпитом

Показатель	Группа сравнения M±m	Атрофия M±m	p1-2
α1 –ПГ [ИЕ/мл]	25,5±0,094	25,4±0,061	>0,05
α2- МГ [ИЕ/мл]	4,18±0,021	3,70±0,027	<0,001
Калликреин [Мед/мл]	15,3±0,192	39,4±0,335	<0,001
Прекалликреин [Мед/мл]	350,23±0,748	299,3±0,933	<0,001
Лейкоцитарная эластаза [нМ/мин/мл]	0,535±0,004	0,554±0,005	>0,05
Эластаза подобная активность [нМ/мин/мл]	159,5±1,846	331,1±5,42	<0,001

**Примечание:** p1-2 – значимость различий между 1 клинической группой и группой сравнения.

ствующими показателями у здоровых женщин (таблица 1).

Установлено, что у женщин с подозрением на формирование атрофического кольпита NO.-синтазная активность фагоцитов крови по сравнению с контрольной группой повышена на 103% (p1-2<0.001). (Таблица 2).

Резкий рост NO.-синтазы фагоцитирующих клеток может свидетельствовать об активной генерации NO.-радикалов. Повышение генерации NO.-радикала можно связывать со снижением микроциркуляции при атрофическом процессе, имеющем приспособительный характер и отражающем формирование признаков повреждения. Высокие концентрации NO.-радикала вызывают нитрозилирование SH-групп тиолов в NADH-убихинон-оксидоредуктазе, что приводит к ингибированию клеточного дыхания, накоплению АФК, особенно нитроксильного радикала.

В свою очередь развитие свободно-радикальных процессов приводит к нарушению сигнальных свойств мембран. Такие сдвиги сопровождаются изменением конформации рецепторов эндотелия к кининам, в результате чего не происходит вазодилатации, и как следствие, нарушается кровоток в ткани влагалища, изменяется проницаемость сосудов, в клетках влагалища накапливаются продукты обмена.

Регистрируется увеличение эластолитической активности сыворотки крови на 139,2% (p1-2<0,001) по сравнению с таковой у здоровых женщин. В тоже время, необходимо учитывать, что эластин – не единственный белковый субстрат эластазы. Она способна также гидролизировать коллагены III, VI и VIII генетических типов, интегрин, протеогликаны, гистоны, основной белок миелина, гемоглобин и множество белков плазмы крови, в том числе факторы гемокоагуляции, фибринолиза, калликреин-кининовой системы и комплемента [13]. По-видимому, увеличение эластолитической активности сыворотки крови вносит вклад в нарушение эластичности, способствуя усилению регидности микрососудов, и как следствие, приводит к трофическим и метаболическим изменениям в ткани влагалища.

Повреждающее действие лейкоцитарной эластазы в отношении белков ткани и плазмы крови происходит несмотря на быстрое связывание освобождающегося фермента ингибиторами плазмы крови: α1–ингибитором протеиназ и, отчасти, α2-макроглобулином. В сыворотке крови женщин с атрофическим кольпитом отмечено снижение ингибиторной активности α2- макроглобулина на 10,8% (P<0,05) по сравнению с таковым в контрольной группе. Так как макроглобулины являются основ-

Таблица 2

## Активность NO синтазы в лейкоцитах женщин, больных атрофическим кольпитом, и группы сравнения

Показатели	Группа сравнения M±m	Атрофия M±m	p1-2
NO-синтаза [нмоль/105 клеток] × 10-3	10,1±0,16	20,5±0,28	p1-2<0.001

**Примечание:** p1-2 – значимость различий между 1 клинической группой и группой сравнения.

ными транспортерами регуляторных цитокинов к клеткам, а  $\alpha 1$ -протеиназный ингибитор, напротив, является эндогенным ингибитором продукции цитокинов [14, 15], динамика этих показателей может отражать особенности тканевого морфогенеза при нарушении капиллярного кровоснабжения. Надо полагать, что снижение ингибиторной активности  $\alpha 2$ -макроглобулина приводит к уменьшению пролиферации клеток влагалищного эпителия, так как известно, что  $\alpha 2$ -макроглобулин, взаимодействуя с факторами роста и дифференцировки клеток, способствует пролиферации [14]. Кроме того, снижение ингибиторной активности  $\alpha 2$ -макроглобулина и содержания прекалликреина указывает на обменные сдвиги, ведущие к формированию локальных нарушений кровообращения в ткани влагалища. О нарушении кровообращения и развитии циркуляторной и тканевой гипоксии свидетельствуют данные наших лабораторных исследований с помощью «Способа диагностики гипоксии» (Патент №2386971 от 27 января 2009 г.) путем определения уровня 2,3-дифосфоглицерата, пировиноградной и молочной кислот в крови пациенток. Повышение уровня этих показателей свидетельствует о наличии общего гипоксического процесса на доклинической стадии заболевания.

Таким образом, резюмируя представленные результаты, можно отметить, что у женщин с признаками атрофического кольпита в пострепродуктивном периоде регистрируются системные многопрофильные сдвиги, которые связаны не только с гипозестрогенией, но и с нарушением микроциркуляции, развитием гипоксии. Изменения протеиназно-ингибиторного баланса в калликреин-кининовой, эластолитической системах и активности индуцибельной NO-синтазы несут информацию о ранних признаках нарушения трофики ткани. Снижение ингибиторной активности способствует усилению ригидности сосудов. Эти нарушения запускают порочный круг, приводящий с одной стороны к локальной ишемизации ткани влагалища, снижению пролиферации влагалищного эпителия, а с другой – к конформационным изменениям эстрогензависимых рецепторов, что в итоге формирует патогенез атрофического кольпита.

Судя по анализу полученных данных, терапевтические мероприятия на ранних стадиях атрофического кольпита должны быть связаны с моделированием охранных обменных реакций, направленных на снижение напряженности ингибиторных механизмов калликреин-кининовой системы, оптимизации функционального состояния лейко-

цитарного звена системы крови для увеличения обменной поверхности капилляров и сохранения белкового баланса ткань-кровь, обеспечивающего трофику тканей.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Сметник В. П. Медицина климактерия. Ярославль. 2006.
2. Сурувикина М. С. Калликреин-кининовая система крови и ее активность при атеросклерозе сосудов мозга и сердца. // Клиническая геронтология. – 2004. – Т.10 №3. – С.27-37.
3. Карпюк В. Б., Черняк Ю. С., Шубич М. О. Лабораторные критерии оценки NO-синтазной активности у больных с сосудистыми заболеваниями головного мозга. Клини. Лаб. диагностика. – 1998; 8: 40.
4. Доценко В. Л., Нешкова Е. А., Яровая Г. А. Выявление лейкоцитарной эластазы человека из комплекса с плазменным  $\alpha 1$ -протеиназным ингибитором по ее энзиматической активности с синтетическим субстратом. // Вопросы медицинской химии. – 1994. – Т.40. №3. – С.25-13.
5. Непомнящих Л. М. Регенерация миокарда: пролиферативный потенциал кардиомиоцитов и индукция кардиомиогенеза при альтернативной и пластической недостаточности сердца / Л. М. Непомнящих, Е. Л. Лушникова, П. М. Ларионова, М. Г. Шурыгин // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2010. – №5. – С. 3-11.
6. Андреева Е. О., Корякина Т. Е., Курильская И. др. Дисфункция эндотелия у больных со стенокардией напряжения II и III функционального класса. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2008. – №10. – С. 15-17.
7. Chua F., Laurent G. J. Neutrophil Elastase Mediator of Extracellular Matrix Destruction and Accumulation. // The Proceedings of the American Thoracic Society. – 2006. – №3. – P.424-427.
8. Пасхина Т. С., Кринская А. В. Упрощенный метод определения калликреиногена и калликреина в сыворотке (плазме) крови человека в норме и при некоторых патологических состояниях. // Вопросы медицинской химии. – 1974. – Т. 20. №6. – С.660-663.
9. Нартикова В. Ф., Пасхина Т. С. Унифицированный метод определения активности  $\alpha 1$ -антитрипсина и  $\alpha 2$ -макроглобулина в сыворотке (плазме) крови человека // Вопросы медицинской химии. – 1979. – Т.25. №4. – С.494-502.
10. Парфенкова Г. А., Оглоблина О. Г., Домба Г. Ю. Клиническое значение определения активности эластазо- и химитрипсиноподобных протеиназ в плазме крови больных неспецифическим аортоартериитом и атеросклерозом // Кардиология. – 1989. – №9. – С.94-96.
11. Шибзухова Ю. В., Вайбурд М. Ю., Артюшкин К. В., Мысякин Е. Б. Синтез окиси азота перитонеальными макрофагами мышц под действием C-реактивного протеина // Бюл. Эксперим. Биологии и медицины. – 1998. – Т. 125. №1. – С. 48-50.
12. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М. – 2002.
13. Турашев А. Д., Максименко А. В. Эндотелиальный гликокаликс в функционировании микроциркуляторного русла // Кардиологический вестник. – 2009. – Т. IV. XVI. №2. – С. 59-65.
14. Зорин Н. А., Зорина В. Н., Зорина Р. М. Роль белков семейства макроглобулинов в регуляции опухолевого роста. // Онтогенез. – 2006. – Т.37 №1. – С.12-19.
15. Pott G.B, E.D. Chan, C.A. Dinarello et al.  $\alpha 1$ -Antitrypsin is an endogenous inhibitor of proinflammatory cytokine production in whole blood. // Journal of Leukocyte Biology. – 2009. Vol. 85. P.886-895.

Поступила 17.09.2016