

БИОГЕРОНТОЛОГИЯ

УДК: 618.15 – 002 – 008.9

МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ПЕРЕСТРОЙКА В ТКАНИ ВЛАГАЛИЩА ЖЕНЩИН, БОЛЬНЫХ АТРОФИЧЕСКИМ КОЛЬПИТОМ, В ПЕРИМЕНОПАУЗАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

Микашинович З.И., Саркисян О.Г.

Ростовский государственный медицинский университет министерства здравоохранения
России», Ростов-на-Дону, Россия, e-mail: kbunpk-rostov@yandex.ru

Цель исследования: анализ ряда параметров углеводно - энергетического обмена во взаимосвязи с оценкой соотношения свободной и связанной воды и работой Mg^{2+} и Ca^{2+} зависимых АТФ-аз в ткани влагалища женщин, больных атрофическим кольпитом, в перименопаузальном периоде. В результате проведенного анализа, было установлено, что в ткани влагалища при атрофическом кольпите снижается активность ферментов углеводно-энергетического обмена. На этом фоне меняется соотношение уровня свободной и связанной воды в ткани в сторону увеличения свободной воды. Такие изменения сопровождаются увеличением активности Ca^{2+} , Mg^{2+} -зависимых АТФ-аз. По данным исследования было показано, что при атрофическом кольпите формируется патогенетическая цепь, связанная с изменением направления приоритета различных метаболических путей, изменением соотношения водных фракций, нарушением работы клеточных транспортных систем, приводящих к различным системным изменениям на клеточном уровне, которые могут быть связаны не только с нарушением метаболизма эстрогенов.

Ключевые слова: атрофия, метаболизм, перестройка ткани влагалища, перименопаузальный период.

METABOLIC REBUILDING IN VAGINA TISSUE AT WOMEN WITH ATROPHIC COLPITIS IN PREMENOPAUSAL PERIOD

Mikashinowich Z.I., Sarkysjan O.G.

Rostov state medical university Ministry of Health Protection of Russia, Rostov-on-Don,
Russia, e-mail: kbunpk-rostov@yandex.ru

Objective: to analyze a number of parameters of carbohydrate - energy exchange in connection with the assessment ratio between free and bound water and the work of Mg²⁺ + and Ca²⁺-dependent ATPases in the vaginal tissue of women with atrophic colpitis, premenopausal.

As a result of the analysis, it was established that the vaginal tissue at atrophic colpitis had decreased activity of enzymes of carbohydrate-energetic metabolism. Correlation between free and bind water changed into increasing of free water in this context. Such changes are accompanied by increase activity of Ca²⁺, Mg²⁺-dependent ATP-ase. Results of investigation suggest that pathogenic chain forms in atrophic colpitis. This chain binds with change of priority direction of different metabolic pathways, change of correlation between water fraction, affection of cell transport systems work that lead to different system changes on cell level which may be connect not only with affection of estrogens metabolism.

Key words: atrophy, metabolism, alteration of the vaginal tissues, peremenopauzalny period.

Введение. Атрофические изменения слизистой влагалища остаются одной из наиболее актуальных проблем современной гинекологии, что объясняется существенным снижением качества жизни профессионально и творчески активных женщин в перименопаузальном периоде. Уточнение патогенетических механизмов формирования атрофического процесса позволит выбрать наиболее правильные пути решения улучшения качества жизни у женщин данной возрастной группы.

Патогенез атрофического кольпита чаще всего связывают с эстрогенным дефицитом [14]. Эстрогенные 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 [14]. В результате эстрогенный дефицит в перименопаузе сопровождается снижением кровообращения во влагалище до уровня ишемии различной степени [14], вследствие чего формируются процессы, которые могут быть предикторами атрофических изменений ткани влагалища.

Особый интерес представляют данные о том, что начальные проявления атрофии ткани влагалища в перименопаузальном периоде могут возникать и у женщин, больных миомой матки. Установлено, что патогенез лейомиомы связан с гиперэстрогенией, усилением обменных процессов во внутреннем слое миометрия, с формированием, так называемых зон роста, располагающихся обычно вокруг тонкостенных сосудов, к которым непосредственно примыкают гипертрофированные гладкомышечные клетки [2]. В связи с этим актуальным представляется анализ изменения метаболической перестройки обменных процессов в ткани влагалища женщин, больных атрофическим кольпитом и вклад этих изменений в процесс формирования атрофии на различном гормональном фоне.

Среди обменных процессов, протекающих во влагалищной ткани, углеводно-энергетический обмен находится под сложным нейрогуморальным контролем, а превращение гликогена в молочную кислоту зависит от состояния микрофлоры влагалища [14]. Ткань влагалища имеет ферментную систему, регулирующую распад глюкозы и дальнейшую утилизацию продуктов расщепления энергетических потребностей гладкомышечной ткани и многослойного плоского эпителия, а также использования их для синтеза веществ неуглеводного характера. На работу транспортных систем влияет количество аденозинтрифосфата (АТФ), которое синтезируется клеткой. Помимо этого работу транспортных систем, представленных белковыми молекулами, определяет гидратная оболочка. Биологические функции белков и других макромолекул могут фактически заключаться в образовании и разрушении водной структуры. В конечном итоге степень гидратации макромолекул в значительной степени определяет их структуру и функциональную активность [15]. Учитывая тот факт, что вода является объединяющим компонентом всех биологических жидкостей и мягких тканей, а не только средой, в которой протекают биологические процессы, нам представлялось интересным проанализировать роль изменения фракций воды в механизме формирования атрофии ткани влагалища. Известно, что вода в живых системах находится в двух фазовых состояниях – свободная и связанная с биомолекулами тканей. Нарушение функционального единства этих составляющих может явиться одной из причин дезинтеграции метаболизма влагалищной ткани и развития атрофического процесса вне зависимости от состояния гормонального фона.

Цель исследования: анализ ряда параметров углеводно - энергетического обмена во взаимосвязи с оценкой соотношения свободной и связанной воды и работой Mg^{2+} и Ca^{2+} зависимых АТФ-аз в ткани влагалища женщин, больных атрофическим кольпитом, в пременопаузальном периоде.

Материал и методы исследования. 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 пациентками (средний возраст $48 \pm 3,6$ лет) без патологической урогенитальной симптоматики и признаков атрофии, проходивших оперативное лечение в гинекологической клинике. Из

обследования методом УЗИ - сканирования были исключены пациентки с органической патологией (миома матки, эндометриоз, киста яичника и др.). Все исследования проводились у пациенток в пременопаузальном периоде.

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

Основными методами диагностики вагинальной атрофии явились морфологическое исследование (определение карипикнотического индекса (КПИ) и морфология), определение рН вагинального содержимого (рН индикаторы Нео-Пенотран форте фирмы Bayer HealthCare) и гистологических срезов, окрашенных рутинным способом и импрегнация серебром.

Для выявления тяжести атрофических процессов во влагалище мы использовали кольпоцитологические методы исследования: определение значения зрелости вагинального эпителия [14], подсчета индекса вагинального здоровья [14], изучение вагинального микроценоза.

В гомогенате ткани влагалища определяли следующие показатели: активность ферментов – гликогенфосфорилазы (КФ 2.4.1.1.) [10], фосфогексоизомеразы (ФГИ) (КФ 5.3.1.9.) [3, 8], гексокиназы (КФ 2.7.1.1.) [7], глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (КФ 1.1.1.49) [4], сукцинатдегидрогеназы (СДГ) (КФ 1.9.3.1.) [8], цитохромоксидазы (ЦХО) (КФ 1.9.3.1.) [5], Ca^{2+} -зависимой и Mg^{2+} -зависимой АТФ-аз (КФ 3.6.1.4) [8, 11]. А также концентрацию пировиноградной (ПВК) [1] и молочной [9] кислот. В лоскутах ткани определяли процентное содержание различных форм воды [13].

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 исследования и их обсуждение. Результаты исследования показали, что количество общей воды в ткани влагалища женщин клинической группы статистически значимо не отличается от показателя уровня связанной воды в ткани влагалища у женщин контрольной группы. Однако обращает на себя внимание, что уровень связанной воды в ткани влагалища у женщин клинической группы достоверно снижается на 61,35% ($p < 0.001$) относительно контрольной группы. В тоже время уровень свободной воды в ткани влагалища женщин клинической группы напротив, достоверно увеличивается на 34,68% ($p < 0.05$).

Нашими исследованиями было установлено, что у женщин клинической группы в ткани влагалища количество белка снижено на 39,82% ($p < 0.05$) по сравнению с контрольной группой.

Вода и белки образуют единую систему, которую нельзя разделить на компоненты без нарушения внутреннего содержания. Строгая ориентация молекул связанной воды на поверхности белковых молекул приводит к возникновению водной оболочки, которая играет существенную роль в стабилизации структуры биомолекул.

Биологические функции белков и других макромолекул могут фактически заключаться в образовании и разрушении водной структуры. В конечном итоге степень гидратации макромолекул в значительной степени определяет их структуру и функциональную активность.

Снижение уровня связанной воды в ткани влагалища женщин клинической группы может свидетельствовать о нарушении целостности водной оболочки вокруг белковых молекул. Известно, что стабильность структуры гидратной оболочки белковых молекул признается необходимым условием для сохранения свойств и функций белка, так как молекулы воды образуют с функциональными группами белков водородные связи, принимающие участие в формировании нативной конформации белка. Помимо этого, для проявления специфичности белков, наряду с характером и последовательностью составляющих их аминокислот, очень важным фактором является количество и структура связанной с ними воды. Известно, что белок «оживает» при достижении определенного количества увлажнения [15], поэтому следует предположить, что снижение связанной воды снижает активность ферментов и изменяет структуру и функции биологических мембран, что может приводить к нарушению передачи гормонального сигнала к тканям-мишеням. Очевидно, что изменение гидратной оболочки макромолекул приводит к изменению конформационной подвижности транспортных белков, что может нарушать их способность переносить разнообразные вещества.

Повышение уровня свободной воды у женщин клинической группы с одной стороны, объясняется снижением количества белка. С другой стороны, может являться одним из предикторов нарушения метаболических процессов, приводящих к атрофическим изменениям влагалищной ткани.

Изменение количественного соотношения фракций воды в ткани влагалища женщин клинической группы, очевидно, влияет на липидно-белковый комплекс клетки,

существенным образом меняя функции мембран, так как упорядоченное расположение молекул воды в узких каналах на поверхности клеточной мембраны играет важную роль в процессах трансмембранного переноса. Возможно, что увеличение свободной воды в молекулярных каналах может затруднять транспорт веществ. На этом фоне было установлено, что у женщин, больных атрофическим кольпитом, в ткани влагища активность Ca^{2+} -зависимой АТФ-азы увеличивается на 43,5%, а Mg^{2+} -зависимой АТФ-азы увеличивается на 28,2%. Очевидно, потеря тканью жидкости сопровождается потерей электролитов. Необходимой составной частью транспортной системы, осуществляющей перенос одновалентных ионов Na^+ и K^+ через клеточные мембраны, является Na^+ , K^+ -активируемая, Ca^{2+} и Mg^{2+} -зависимая Na^+ , K^+ - аденозин-трифосфатаза (АТФ-фосфогидролаза, E C 3.6. 1.4).

Можно полагать, что полученные данные свидетельствуют о компенсаторной активации ионотранспортных систем, направленных на поддержание электролитного состава ткани. Известно, что одной из причин развития атрофического процесса влагищной ткани является нарушение микроциркуляции, то есть создаются условия, формирующие гипоксию ткани. В анаэробных условиях в присутствии ионов Ca^{2+} наблюдают повреждение внутренней митохондриальной мембраны [6]. Ионы Ca^{2+} активируют эндогенную фосфолипазу A_2 внутренней мембраны митохондрий, а высокие концентрации ионов Mg^{2+} угнетают активность эндогенной фосфолипазы A_2 . Активность Ca^{2+} -зависимой АТФ-азы во влагищной ткани при атрофическом кольпите превышает на 15,8% активность Mg^{2+} -зависимой АТФ-азы, что свидетельствует об накоплении высоких концентраций Ca^{2+} , приводящего к нарушению работы, в первую очередь, митохондриальной мембраны и других клеточных структур. Высокие концентрации Ca^{2+} способствует открыванию больших «пор повышенной проницаемости». Это приводит к изменению мембранного потенциала, увеличению разности рН между матриксом митохондрий и окружением. Такие внутриклеточные изменения приводят к снижению синтеза АТФ, что подтверждается нашими исследованиями. Например, снижение активности СДГ, снижение активности ЦХО, как конечного сопряженного участка дыхательной цепи. Нарушение синтеза АТФ может являться одной из причин снижения синтеза гликогена, приводящего к изменению микробиологического пейзажа влагищной ткани. Таким образом, нарушение работы транспортных систем является одним из механизмов,

запускающих порочный круг, приводящий к развитию атрофических изменений в нижних отделах урогенитального тракта.

Известно, что основным метаболическим путем влагалищной ткани является синтез и распад гликогена. Поэтому нам представлялось интересным проанализировать роль субстратно-энергетического обмена в формировании молекулярных механизмов возникновения атрофического процесса в ткани влагалища.

Установлено, что у женщин, больных атрофическим кольпитом, в ткани влагалища достоверно снижена активность гликогенфосфорилазы на 52,25%, что свидетельствует о снижении вовлечения субстрата в обменные процессы. Однако, на этом фоне отсутствуют достоверные изменения активности Е - гексокиназы, что отражает сохранение темпа образования глюкозо-6-фосфата.

Следует отметить, что активность Е-ФГИ, обеспечивающего дальнейшее превращение глюкозы по пути гликолиза достоверно увеличивается на 160%.

Обращает на себя внимание активация начальных этапов пентозофосфатного пути, о чем свидетельствует достоверное увеличение Е-глюкозо-6-фосфат дг на 27,43%.

Следует принять во внимание, что в атрофичной ткани нарушается соотношение конечных продуктов гликолиза. Так достоверно увеличивается на 53,1% содержание пировиноградной кислоты (ПВК), тогда как концентрация лактата снижается на 43,9%. Однако, при увеличении концентрации ПВК активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) резко снижена на 49,85%. На этом фоне регистрируется снижение активности конечного фермента дыхательной цепи – цитохромоксидазы (ЦХО) на 37,1%. Эти результаты могут отражать угнетение тканевого дыхания и снижение энергопродукции. На основании изложенных данных следует сделать заключение о том, что при формировании атрофического процесса происходит изменение активности ферментов, регулирующих соотношение основных энергетических циклов гликолиза и пентозофосфатного пути (ПФ-пути) в сторону использования глюкозы-6-фосфата в ПФ-пути. Активация ПФ-пути может быть интерпретирована как явление суперкомпенсации, что особенно четко проявляется в условиях ингибирования СДГ участка дыхательной цепи. Известно, что чем выраженнее патологический процесс, тем больше вероятность ингибирования СДГ и ПФ-пути берет на себя функции поставщика восстановленных эквивалентов никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФН₂).

Обсуждая выявленные данные, следует учитывать, что активность гликоген - фосфорилазы регулируется не только концентрацией субстрата, то есть уровнем

гликогена, и другими факторами, например, гормональными и функциональными потребностями (адреналином или мышечными сокращениями). Это позволяет думать о том, что в атрофичной ткани могут происходить системные перераспределения, которые определяются сдвигами (изменение метаболических путей) уровней нейрогуморальной регуляции так и функциональным состоянием самого организма. Резкое повышение активности фермента гликолиза - ФГИ ответственного за превращение глюкозы-6-фосфат во фруктозу-6-фосфат свидетельствует о том, что в клетке образуется достаточное количество фруктозы дифосфата, необходимого для активации гликолиза, как основного источника АТФ в атрофичной ткани. А этом фоне параллельно усиливается функционирование Е-глюкозы-6-фосфат дегидрогеназы. Как уже отмечали выше, активация этого фермента свидетельствует об усилении скорости ПФ-пути, как альтернативного окисления глюкозы-6-фосфат до 6-фосфоглюконолактона. Такой характер изменений в атрофичной ткани может отражать ход адаптивных реакций, направленных на генерацию высоких концентраций НАДФН₂, который используется в восстановительных процессах, в частности для восстановления окисленного глутатиона, поддержания функционально активных клеток, сохранения морфологической специфики ткани в условиях формирующейся атрофии. С другой стороны накопление НАДФН₂ характерно для развития тканевого восстановительного потенциала клетки. В тоже время регуляция доступности НАДФН₂ – эффективный путь контроля липогенеза. Следует отметить, что в такой ситуации не меняется активность Е - гексокиназы. Известно, что образование глюкозы-6-фосфат в гексокиназной реакции связано с освобождением значительного количества свободной энергии системы (энергия АТФ) и считается практически необратимым процессом.

Очевидно, сохранение активности Е - гексокиназы в ранний период формирования атрофичной ткани на уровне здоровой ткани можно объяснить тем, что в клетке сохраняется как достаточное количество глюкозы, так и запасы АТФ для процесса фосфорилирования глюкозы в глюкозу-6-фосфат. Наряду с этим, достоверное увеличение продукта гликолиза – ПВК и синхронное снижение конечного продукта анаэробного гликолиза – лактата, позволяет предположить, что в атрофичной ткани происходит с одной стороны – снижение процесса гликолитической оксидопродукции, а с другой – торможение активности пируватдегидрогеназного мультиферментного комплекса, ответственного за окислительное декарбоксилирование ПВК.

Снижение скорости окислительного декарбоксилирования ПВК в ацетил-ScoA, необходимого для непрерывной работы цикла трикарбоновых кислот (ЦТК), приводит к нарушению работы этого цикла, что доказывает резкое снижение активности СДГ на 49,8%. Накопление ПВК имеет важное патогенетическое значение, так как может приводить к смещению кислотно-основного состояния клетки и изменению рН клетки, что, очевидно, может сказываться на активности различных ферментных систем. Кроме того высокие концентрации ПВК приводят к перераспределению жидкости в клетке и внеклеточном пространстве, а также между клеточными органеллами. Такое перераспределение жидкости может привести к нарушению осмотической работы клетки и внутриклеточного гомеостаза, также может препятствовать работе различных сигнальных систем.

Установленное нами значительное падение активности фермента ЦТК – СДГ, катализирующего превращение сукцината в фумарат, также позволяет предполагать значительное снижение эффективности ЦТК. Такое резкое замедление СДГ участка приводит к снижению концентрации восстановленных коферментов, которые являются донорами протонов для дыхательной цепи.

Достоверное снижение активности фермента конечного сопряженного участка дыхательной цепи – ЦХО, свидетельствует о падении скорости окислительного фосфорилирования и, как следствие, снижение концентрации АТФ, используемой на полифункциональные потребности влагалищной ткани. Очевидно, такие метаболические изменения, сопровождающиеся увеличением активности глюкозы-6-фосфат дегидрогеназы, снижением активности СДГ и ЦХО, накоплением ПВК являются следствием как тканевой гипоксии, которая является одной из причин, приводящих к атрофии влагалищной ткани, так и влиянием гормонов (глюкокортикоидов, инсулина). Видимо, в условиях гипоксии под влиянием изменения нейрогуморального сигнала начинает меняться приоритет метаболических путей углеводного обмена за счет перераспределения общих промежуточных метаболитов. Скорее всего, большая часть глюкозы-6-фосфата используется по ПФ-пути – альтернативному пути окисления глюкозы в сложившейся метаболической ситуации.

На основании анализа фактического материала возможно, предположить, что в результате активации ФГИ образующийся промежуточный продукт гликолиза-3-ФГА включается в неокислительную ветвь ПФ-пути, усиливая компенсаторные значения ПФ-цикла в условиях атрофии. Итак, одной из особенностей атрофического процесса

влагалищной ткани может являться изменение скорости различных метаболических путей углеводного обмена, снижение эффективности дыхательной цепи на СДГ участке, накопление недоокисленных субстратов - никотинадениндинуклеотида (НАДН) и НАДФН₂ - приводящих к накоплению интеграции процессов углеводно-энергетического обмена.

Полученные данные углубляют имеющиеся представления о патогенезе атрофического кольпита и показывают, что основной причиной атрофии ткани влагалища не всегда является только гипоестрогения. Как показали наши исследования, при атрофическом кольпите формируется патогенетическая цепь, связанная как с нарушением работы ферментов углеводно - энергетического обмена, водно-минерального баланса, изменением соотношения клеточных метаболитов, что, очевидно, приводит к нарушению гормонально-рецепторной передачи различных сигнальных систем.

Заключение. Резюмируя представленные результаты можно отметить, что причиной атрофии слизистой влагалища могут являться различные системные многопрофильные изменения на клеточном уровне, связанные не только с нарушением метаболизма эстрогенов, но и с нарушением работы ферментов углеводно-энергетического обмена, дисбалансом в соотношении различных фракций воды в ткани влагалища, который приводит к изменению активности в работе клеточных транспортных систем. Такие многопрофильные внутриклеточные изменения метаболизма приводят к нарушению работы различных сигнальных систем. В пременопаузальном периоде наблюдается системная перестройка обменных процессов, запускающая различные механизмы, приводящие к атрофии ткани влагалища, как на фоне гипоестрогении, так и при повышении уровня синтеза эстрогенов на фоне лейомиомы матки. Эти нарушения влияют на различное состояние эстроген-зависимых рецепторов тканей влагалища, что запускает порочный круг, приводящий, с одной стороны, к локальной ишемизации ткани влагалища, а с другой – к снижению пролиферации влагалищного эпителия, нарушению эластичности влагалищной стенки, и как следствие развитие атрофического процесса во влагалищной ткани. Таким образом, изучение молекулярных механизмов развития атрофии позволит разработать новые индивидуальные схемы лечения атрофического процесса влагалищной ткани, которые будут сочетать в себе различные группы лекарственных препаратов.

Список литературы.

1. Бабаскин М.П. Способ определения пировиноградной кислоты в крови / Психиатр.клинич.б-ца №1 им. П.П. Кащенко. А.С. 877436. СССР. Заявл. 13.02.80. №2877502/28-13. Оpubл. 30.10.81. МКИ G01 № 33/52.
2. Вихляева Е.М. Руководство по диагностике и лечению лейомиомы матки. - М., 2004. - 400 с.
3. Езерский Р.Ф. Активность сывороточной фосфогексокиназы - новый клинический тест / Р.Ф. Езерский // Лабораторное дело. - 1960. - № 4. - С. 15.
4. Захарьин Ю.Л. Метод определения активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы / Ю.Л. Захарьин // Лаб. дело. - 1967. - № 6. - С. 327 - 330.
5. Кривченкова Р.С. Определение активности цитохромоксидазы в суспензии митохондрий / Соевременные методы в биохимии. - М.: Медицина, 1977. - С. 47 - 49.
6. Крыжановский Г.Н. Дизрегуляционная патология: руководство для врачей и биологов. - М.: Медицина, 2002. - 632 с.
7. Луганова И.С. Дыхание, гликолиз и синтез гликогена в костном мозгу человека / И.С. Луганова, Л.М. Розанова, И.Ф. Сейц // Биохимия. - 1964. - Т. 22. - С. 22 - 28.
8. Микашинович З.И. Общие и частные закономерности изменений метаболизма в эндокринных органах и крови при разной тяжести травматического шока и острой кровопотери: Автореф. дис. докт. биол. наук. - Ростов-на-Дону, 1989.
9. Меньшиков В.В. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / В.В. Меньшиков, Л.Н. Делекторская, Р.П. Золотницкая. - М.: Медицина. - 1987. - 368 с.
10. Попова И.А. Влияние биогенных аминов на деградацию гликогена в изолированных гепатоцитах крыс / И.А. Попова, В.Н. Преснова, Г.П. Лавринова // Вопр. мед.хим. - 1992. - Т. 38, № 2, - С. 30 - 33.
11. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / учебн. пособие [под ред. М.И. Прохоровой]. - Л.: Изд. Ленингр. Ун-та, 1982. - 272 с.
12. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных / Применение пакета прикладных программ STATISTICA. - М., 2002. - 312 с.
13. Саханова Р.А. Новый дилатометрический метод количественного определения свободной и связанной воды. Изучение влияния гипо- и гипертермии и адаптации к

ним на состояние воды в тканях животных: Автореф. дис. канд. мед. наук. – Смоленск, 1974.

14. Сметник В.П. Медицина климактерии. – Ярославль, 2006. – 848 с.
15. Фаращук Н.Ф. Структура воды в кровь: клинические аспекты. – Смоленск: Изд., СГМА, 2007. – 252 с.

References.

1. Babaskin M.P. *Sposob opredelenija pirovinogradnoj kisloty v krovi. Psihiatr.klinich.b-ca №1 im. P.P. Kashhenko* (Sposob opredelenija pirovinogradnoj kisloty v krovi). Opubl. 30.10.81. MKI G01 № 33/52.
2. Vihljaeva E.M. *Rukovodstvo po diagnostike i lecheniju lejomiomy matki* [Guidelines for the diagnosis and treatment of uterine leiomyoma]. M., 2004. 400 p.
3. Ezerskij R.F. *Laboratornoe delo*. 1960, no. 4, p. 15.
4. Zahar'in Ju.L. *Lab. delo*. 1967, no. 6, pp. 327 - 330.
5. Krivchenkova R.S. *Opredelenie aktivnosti citohromoksidazy v suspenzii mitohondrij* [Determination of the activity of cytochrome oxidase in mitochondria suspension]. M.: Medicina, 1977. 47 – 49 pp.
6. Kryzhanovskij G.N. *Dizreguljacionnaja patologija: rukovodstvo dlja vrachej i biologov* [Dizregulyatsionnaya pathology: a guide for physicians and biologists]. M.: Medicina, 2002. 632 p.
7. Lukanova I.S., Lukanova I.S., Rozanova L.M., Sejc I.F. *Biohimija* 1964, Vol. 22, pp. 22 - 28.
8. Mikashinovich Z.I. *Obshhie i chastnye zakonomernosti izmenenij metabolizma v jendokrinnih organah i krovi pri raznoj tjazhesti travmaticheskogo shoka i ostroj krovopoteri: Avtoref. dis. dokt. biol. nauk*. Rostov-na-Donu, 1989.

9. Men'shikov V.V., Delektorskaja L.N., Zolotnickaja R.P. *Laboratornye metody issledovanija v klinike: Spravochnik* [Laboratory methods in the clinic: Handbook]. M.: Medicina, 1987. 368 p.
10. Popova I.A., Presnova V.N., Lavrinova G.P. *Vopr. med.him.* 1992, Vol. 38, no 2, pp 30 - 33.
11. Prohorova M.I. *Metody biohimicheskikh issledovanij (lipidnyj i jenergeticheskij obmen)* [Methods for biochemical studies (lipid and energy metabolism)]. L.: Izd. Leningr., Un-ta, 1982. 272 p.
12. Rebrova O.Ju. *Statisticheskij analiz medicinskih dannyh* [Statistical analysis of medical data]. M., 2002. 312 p.
13. Sahanova R.A. *Novyj dilatometricheskij metod kolichestvennogo opredelenija svobodnoj i svjazannoj vody. Izuchenie vlijaniya gipo- i gipertermii i adaptacii k nim na sostojanie vody v tkanjah zhivotnyh: Avtoref. dis. kand. med. nauk.* Smolensk, 1974.
14. Smetnik V.P. *Medicina klimakterii* [Medical menopause]. Jaroslavl', 2006. 848 p.
15. Farashhuk N.F. *Struktura vody v krov': klinicheskie aspekty* [The structure of water in the blood: clinical aspects]. Smolensk: Izd., SGMA, 2007. 252 p.