

ГАВРИЛЕНКО ЕЛЕНА ВИКТОРОВНА

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КЛЕТОК  
ОТДЕЛЯЕМОГО ШЕЙКИ МАТКИ И ВЛАГАЛИЩА  
У БОЛЬНЫХ С ЭКТОПИЕЙ НА ФОНЕ РАЗЛИЧНЫХ  
МЕТОДОВ ЛЕЧЕНИЯ**

03.00.25 - гистология, цитология, клеточная биология

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» и в Учреждении Российской академии наук НИИАГП СО РАМН

**Научные руководитель:** доктор медицинских наук, профессор  
Красноженов Евгений Павлович

**Официальные оппоненты:** доктор биологических наук, профессор  
Ильинских Николай Николаевич

кандидат медицинских наук  
Чечина Ольга Евгеньевна

**Ведущая организация:** Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Кемеровская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Защита состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2009 г. в \_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.03 при ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет Росздрава» (643050, г. Томск, ул. Московский тракт, 2).

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ГОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Росздрава.

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2009

Ученый секретарь  
диссертационного совета



А.В. Герасимов

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Известно, что кожа и слизистые оболочки формируют физиологический барьер, который препятствует проникновению патологических агентов внутрь организма. При этом общая площадь поверхности слизистых оболочек организма намного превосходит поверхность кожи. Наиболее важное значение в формировании барьера между клетками организма и внешней средой имеют слизистые оболочки желудочно-кишечного, респираторного и урогенитального трактов. Защитные механизмы слизистых оболочек включают в себя много факторов и являются продуктами совместной деятельности макроорганизма и нормальной микрофлоры (Воробьев А.А., Лыков Е.А., 1999). Сюда входят как неспецифические защитные факторы (рН, редокс-потенциал, вязкость, низкомолекулярные метаболиты микрофлоры, лизоцим), так и специфические (секреторный иммуноглобулин А, фагоциты). В целом, формируется колонизационная резистентность – совокупность защитных факторов организма и индигенной микрофлоры, предотвращающих колонизацию слизистых оболочек посторонними, в том числе патогенными микроорганизмами (Телешева Л.Ф. и соавт., 1998; Долгушина В.Ф. и соавт., 1991).

Шейка матки и влагалище относятся к органам, находящимися на границе внутренней среды женщины и неблагоприятных факторов внешней среды. Защиту слизистых оболочек репродуктивного тракта женщин обеспечивают лимфоидные структуры и макрофаги стромальных тканей шейки матки, их продукты – IgA, лизоцим, а также нормальная микрофлора влагалища. Имеется предположение, что именно клеточное звено местного иммунитета слизистых оболочек участвует в реализации морфогенетической функции, обеспечивая передачу регенерационной информации камбиальным элементам покровного эпителиального пласта (Brandizaeg P., et al., 1999).

Представляется очевидным, что возникновение и развитие инфекционно-воспалительных заболеваний шейки матки и влагалища зависит от состояния местного иммунитета. Клеточные и гуморальные показатели колонизационной резистентности слизистых оболочек шейки и матки влагалища после проведенной противовоспалительной терапии могут служить критериями эффективности лечения.

Учитывая высокую частоту заболевания эктопией шейки матки и широкое использование для её лечения методов электрокоагуляции и криодеструкции (Костава М.Н. и соавт., 1999; Легков В.А. и соавт., 2004; Коломейцева А.Г. и соавт., 2003), разрабатываемая тема представляется актуальной и перспективной как в теоретическом так и в практическом аспектах.

**Цель исследования:** изучить морфологическую характеристику и функциональную активность эукариотических и прокариотических клеток отделяемого шейки матки и влагалища у больных с эктопией шейки матки в условиях лечения методами электрокоагуляции и криодеструкции.

**Задачи исследования:**

1. Оценить содержание эпителиальных клеток в отделяемом влагалища и шейке матки и изучить их морфофункциональную характеристику у больных с эктопией шейки матки до и после лечения.
2. Изучить морфофункциональное состояние лейкоцитарных клеток отделяемого влагалища и шейки матки у больных с эктопией шейки матки до и после лечения.
3. Определить количественное содержание грибка *Candida* в отделяемом влагалища у женщин с эктопией шейки матки до и после лечения.
4. Изучить морфофункциональное состояние прокариотических клеток биопленки влагалища и шейки матки при эктопии до и после лечения.
5. Провести сравнительную оценку влияния электрокоагуляции и криодеструкции на состояние колонизационной резистентности слизистой оболочки репродуктивного тракта у больных эктопией.

**Научная новизна и практическая значимость.** Впервые исследован один из главных компонентов противoinфекционной защиты – колонизационная резистентность приэпителиального слоя репродуктивного тракта у больных эктопией шейки матки после лечения методами электрокоагуляции и криодеструкции. Показано, что электрокоагуляция и криодеструкция, проведенные больным эктопией способствуют восстановлению морфофункциональных параметров эукариотических клеток, играющих важную роль в местной противoinфекционной защите. Комплексный подход к изучению проблемы позволил выявить уменьшение деструктивности эпителиоцитов слизистой влагалища и шейки матки, активацию функциональных свойств лейкоцитов, увеличение содержания лизоцима и sIgA в отделяемом влагалища. Установлено, что биопленка влагалища больных эктопией после лечения характеризуется нормализацией состава прокариотических клеток, снижением степени микробной обсемененности, замещением грибов *Candida* и кокковой группы, несущей признаки патогенности и вирулентности, представителями индигенной микрофлоры.

Полученные данные позволяют утверждать, что используемые методы лечения способствуют биокоррекции и иммуностимуляции колонизационной резистентности репродуктивного тракта, что является важным в профилактике и терапии у больных эктопией шейки матки инфекционных осложнений.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Для больных эктопией шейки матки характерны нарушения морфофункционального состояния эукариотических и прокариотических клеток отделяемого шейки матки и влагалища. Изменения морфофункциональных свойств эукариотических клеток выражаются в повышении в исследуемом материале количества эпителиоцитов с высокой степенью деструкции и низком содержании в них гликогена, увеличении числа сегментоядерных нейтрофилов и угнетении их фагоцитарной активности. Указанные явления сопровождаются низкими значениями содержания макрофагов и лимфоцитов и их продуктов: лизоцима и секреторного иммуноглобулина А, а также увеличении высеваемости грибка *Candida*.
2. Изменения в составе прокариотических клеток выражаются в снижении высеваемости из содержимого влагалища лактобактерий и увеличении встречаемости кокковой флоры с признаками вирулентности. Данные явления сопровождаются повышением рН и уменьшением содержания молочной кислоты во влагалищной жидкости.
3. Электрокоагуляция и криодеструкция, проведенные больным с целью лечения эктопии шейки матки способствуют восстановлению морфофункционального статуса клеток с длительностью эффекта до 40 суток после завершения процедур, что способствует восстановлению показателей местной противомикробной защиты.

**Апробация работы.** Материалы диссертации докладывались и обсуждались на VIII конгрессе молодых ученых и специалистов «Науки о человеке» (Томск, 2007), научно-практической конференции «Актуальные вопросы лучевой, функциональной и лабораторной диагностики» (Северск, 2007), Всероссийской научно-практической конференции «Девочка, девушка, женщина» (Томск, 2008).

**Публикация результатов исследования.** По теме диссертации опубликовано 6 работ, из них – 2 в журнале, рекомендованном перечнем ВАК.

**Объем и структура работы.** Диссертация изложена на 116 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4-х глав, выводов и списка использованной литературы, включающего 170 источников, из которых 137 отечественных и 33 иностранных. Работа иллюстрирована 18 рисунками и 20 таблицами.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводились на базе женской консультации Муниципального лечебно-профилактического учреждения Родильного дома № 4 и на кафедре микробиологии и вирусологии Сибирского государственного медицинского университета. Обследовано 45 женщин в возрасте 18 – 45 лет.

В группу больных включены 30 пациенток с морфологически верифицированным диагнозом: эктопия шейки матки, находившиеся на диспансерном учете в женской консультации Родильного дома № 4. У всех обследованных лиц были исключены инфекционные заболевания, обострение хронических воспалительных процессов, аллергические, наследственные и психические заболевания, а также злоупотребление алкоголем и наркотическая зависимость. В качестве контроля использовали группу из 15 практически здоровых пациенток с аналогичными характеристиками по возрасту.

Распределение обследованных лиц по группам наблюдения представлены в таблице 1.

Таблица 1

Распределение обследованных лиц по группам наблюдения

| Группы наблюдения   | Количество человек |
|---|--------------------|
| Здоровые женщины ( группа сравнения )   | 15                 |
| Больные женщины с эктопией шейки матки до проведения лечения                    | 30                 |
| Больные женщины с эктопией шейки матки после электрокоагуляции на 21 сутки      | 18                 |
| Больные женщины с эктопией шейки матки после криодеструкции на 21 сутки         | 12                 |
| Больные женщины с эктопией шейки матки после электрокоагуляции на 30 – 40 сутки | 18                 |
| Больные женщины с эктопией шейки матки после криодеструкции на 30 – 40 сутки    | 12                 |

Материалом для исследования явилось отделяемое слизистых оболочек влагалища и шейки матки.

Определение кислотности отделяемого влагалища и шейки матки проводили с помощью рН-метра 673М (Россия).

Из отделяемого влагалища и шейки матки брали мазки стерильными ватными шариками, фиксировали и окрашивали по методу Романовского-Гимзе в течении 3–5 мин. Микроскопически вели учет клеточного состава.

Степень деструкции эпителиальных клеток оценивали с учетом морфологических критериев: структуры ядра и цитоплазмы.

Определение количества гликогена в эпителиальных клетках оценивали при окраске мазков реактивом Шиффа, полуколичественный метод, основанный на степени интенсивности специфической окраски.

Оценку фагоцитарной активности нейтрофильных лейкоцитов определяли количественно при совместной инкубации клеток влагалищной жидкости с микробной тест-культурой. После инкубации в термостате окрашивали по Романовскому-Гимзе и определяли фагоцитарный показатель, фагоцитарное число и показатель завершенности фагоцитоза.

Функциональную активность фагоцитов оценивали с помощью стандартного НСТ-теста в спонтанном варианте.

Пероксидазную активность нейтрофилов определяли в мазках взятых с помощью стерильных ватных шариков со стенок влагалища и шейки матки, окрашивали реактивом Грэхема-Кнолля, полуколичественный метод, основанный на степени интенсивности специфической окраски.

Активность лизоцима в отделяемом влагалища и шейки матки оценивали с использованием бактериальной суспензии культуры микрококка. Степень лизиса микрококка определяли фотокolorиметрически.

Содержание секреторного иммуноглобулина А во влагалищной жидкости определяли иммуноферментным методом.

Качественное и количественное исследование микрофлоры проводилось согласно методическим рекомендациям МЗ СССР (Приказ № 535, 1985). Для определения микрофлоры влагалища и шейки матки забор отделяемого производили сухим стерильным тампоном с помощью наборов стандартных питательных сред: кровяной, желточно-солевой агары, среды Эндо и Сабуро. Идентификацию микроорганизмов проводили по морфологическим, тинкториальным и биохимическим свойствам согласно методическим рекомендациям. При изучении биологических свойств флоры определяли гемолитическую активность, плазмокоагулазную, лецитиназную. Оценку плазмокоагулазы проводили с плазмой кролика по общепринятой методике, лецитиназу изучали на желточно-солевом агаре, гемолитическую активность исследовали путем посева односуточной культуры на агар с 5% дефибринированной кровью.

Оценку полученных результатов проводили методами статистического описания и проверки статистических гипотез. При анализе имеющихся выборок данных использовали гипотезу нормальности распределения (критерий Колмогорова-Смирнова). Для нормального распределения выборок вычисляли средневывборочные характеристики: среднее арифметическое ( $\bar{X}$ ), среднее

квадратическое отклонение ( $\delta$ ), ошибка среднего ( $m$ ). С целью попарного сравнения показателей в исследованных группах применяли критерий Манна-Уитни для независимых групп. Различие двух сравниваемых величин считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Эпителию слизистой оболочки шейки матки и влагалища принадлежит важная роль в реализации ряда защитных механизмов. Интегральность эпителиальных клеток и поддержание плотных межклеточных соединений существенны для защиты от бактериальных и вирусных патогенов. Эпителиальные клетки слизистых оболочек половых путей продуцируют спектр антимикробных молекул: лизоцим – фермент, разрушающий пептидогликан клеточных стенок бактерий, и комплемент, способствующий фагоцитозу и разрушению микроорганизмов (Сухих Г.Т., 2006). Огромную роль играет высокая ферментативная активность, наличие в эпителии большого количества гликогена, высокая интенсивность обменных процессов и их способность к быстрой перестройке. В структуре слизистой оболочки заложены компоненты иммунной системы и ярко выражены регенеративные процессы (Зиновьев А.С., 1994). При этом в норме клетки плоского эпителия находятся в разных стадиях деструкции.

Полученные нами при исследовании результаты, показали, что в группе больных с эктопией шейки матки число эпителиальных клеток с 0, I классами деструкции отличается более низким значением ( $p < 0,05$ ), чем у здоровых женщин (женщины с эктопией 0 класс – 86%, I класс – 3% и здоровые женщины – 90%, 5% - соответственно). При этом наблюдается усиление деструкции клеток плоского эпителия в отделяемом влагалища и шейки матки, которое проявляется в увеличении содержания клеток со II, III и IV классов деструкции ( $p < 0,05$ ) (рис. 1). Известно, что эпителиальная ткань обладает повышенной пролиферативной реакцией на повреждающие факторы. При хронизации процесса классические и наиболее яркие признаки воспаления, в частности развернутая картина экссудативного компонента, в определенной степени нивелируется, на первый план выступают изменения клеточного обновления и усиленное слизееобразование (Кононов А.В., 1993). Длительные воспалительные процессы на слизистых, имеющие хроническое течение, приводят к усилению синтеза и секреции эпителиоцитами влагалища и шейки матки различного рода ферментов. Эти ферменты помимо прямого цитостатического действия играют роль хемоаттрактантов. Они вызывают цитолиз не только микроорганизмов, но и клеток собственных тканей, в частности, эпителиальных. В условиях



хронического воспаления усиливаются процессы перекисного окисления липидов в эпителии слизистой оболочки, а также наблюдается функциональная недостаточность антиокислительных систем организма, что способствует усилению деструктивных процессов на уровне эпителиального пласта (Кудрявцева С.Э., 2001).

К клеточным факторам защитной системы слизистой оболочки шейки матки и влагалища относятся также гранулоциты. В подслизистом слое влагалища, шейки матки и матки имеются скопления плазматических клеток, лимфоцитов, тканевых макрофагов, нейтрофилов. Последние функционально полноценны, обладают высокой ФА, мощным лизосомным аппаратом, механизмом кислородзависимой цитотоксичности. Нейтрофилы выходят на поверхность слизистых, встречаются с представителями нормофлоры репродуктивного тракта женщин, при этом активируются и секретируют бактерицидные вещества, которые избирательно действуют на патогенные, условно-патогенные и непатогенные микроорганизмы (Долгушин И.И., 2005), обеспечивая распознавание и элиминацию микробных агентов за счет своей способности к адгезии, хемотаксису и фагоцитозу. В результате исследования в группе здоровых женщин до лечения нами было обнаружено достоверное ( $p < 0,05$ ) увеличение количества лейкоцитов в отделяемом влагалища и шейки матки на фоне снижения их жизнеспособности и адгезивной способности по сравнению с контрольной группой женщин (рис. 2).

Увеличение количества лейкоцитов, мигрировавших в слизистую влагалища и шейку матки, является, вероятно, адаптивной реакцией системы неспецифической резистентности на нарушение целостности эпителиальных барьеров в условиях хронического воспаления (Бодяжина В.И., 1989). При нарушении покровного эпителия быстро развивается неспецифическая реакция, внедряются чужеродные элементы, например бактерии, вызывая каскад иммунных механизмов, в частности активацию альтернативного пути комплемента. Освобождение различных фрагментов – хемоаттрактантов, которыми являются продукты, выделяемые микроорганизмами и активированными клетками в очаге воспаления, ИЛ-8, продукты расщепления компонентов комплемента, С-реактивный белок, нейропептиды, фрагменты иммуноглобулинов, являющиеся хемотаксичными для нейтрофилов и макрофагов, привлекает их в место воспаления. Усиление миграции лейкоцитов на поверхности слизистой оболочки влагалища и шейки матки на фоне снижения их жизнеспособности следует расценивать как компенсаторную реакцию организма, которая количественно восполняет нарушение функциональной активности клеточного звена защитной системы (Пальцев М.А., 1995).

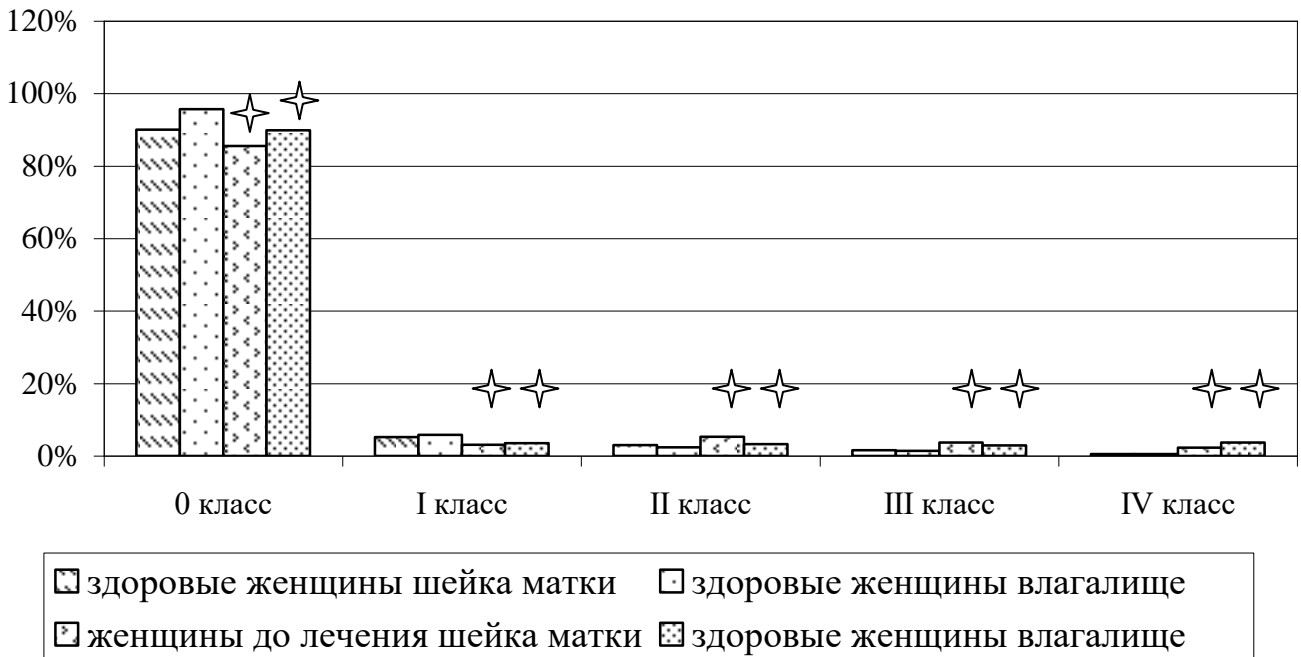


Рис. 1. Степень деструкции эпителиальных клеток у здоровых женщин и женщин с эктопией шейки матки до лечения

Примечание: ✧ - достоверные отличия по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

Лейкоциты являются генераторами активных метаболитов кислорода. Ключевую роль в реализации эффекта этого играет НАДФН-оксидаза, катализирующая восстановление кислорода до супероксидного радикала, обладающего высокой токсичностью в отношении микробных антигенов и служащего индуктором образования перекиси водорода, гидроксильного радикала кислорода. Физиологическим активатором НАДФН-оксидазы являются фагоцитированные бактерии, опсонизированные частицы, иммунные комплексы, компоненты комплемента, а ингибиторами – любые стресс – индуцированные агенты (Маянский А.Н., 1989).

Результаты спонтанного НСТ – теста у больных женщин с эктопией шейки матки свидетельствует о существенном угнетении системы кислородзависимой микробицидности нейтрофилов, мигрировавших на поверхность слизистой репродуктивного тракта (рис.3).

Одним из гуморальных факторов местной противомикробной защиты слизистых является sIgA, который синтезируется плазмочитами слизистых оболочек и железистых органов.

Иммуноглобулин имеет в своем составе секреторный компонент, синтезируемый эпителиальными клетками. Секреторный IgA обладает важным свойством, заключающимся в блокаде взаимодействия микробов, токсинов и аллергенов с эпителием слизистых оболочек, что препятствует их проникновению во внутреннюю среду организма (Janeway С.А., 1997).

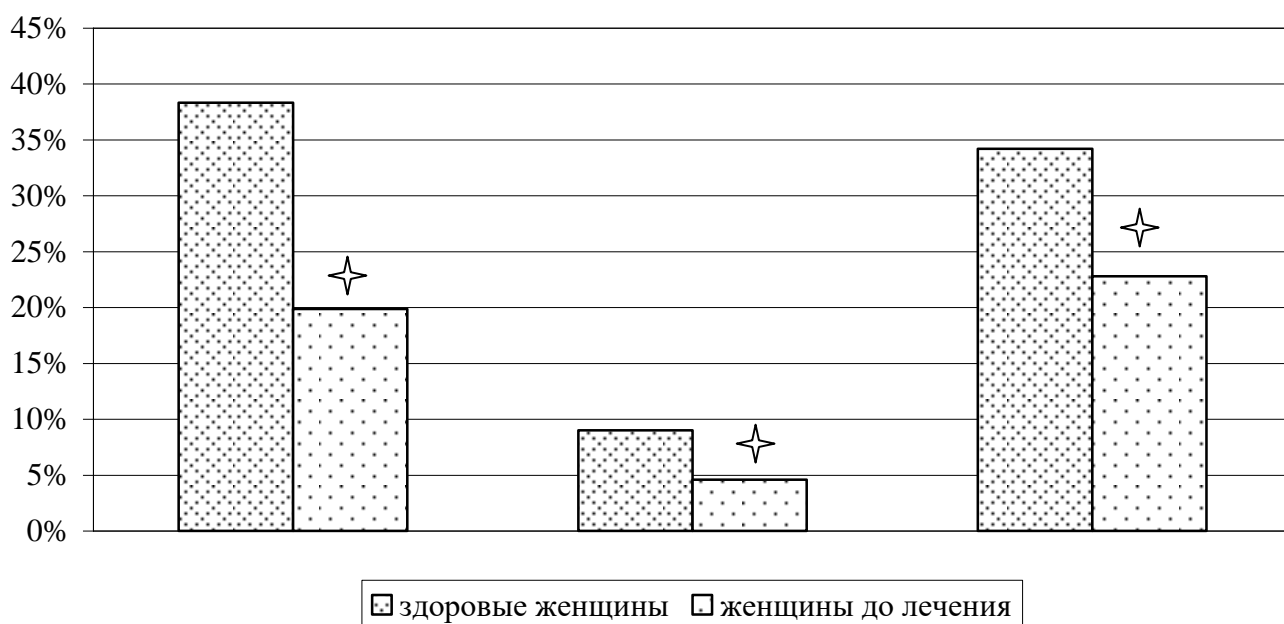


Рис. 2. Показатели поглотительной и переваривающей способности сегментоядерных нейтрофилов в отделяемом влагалища у здоровых женщин и женщин с эктопией шейки матки.

Примечание: ✧ - достоверные отличия по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

Антиадгезивный механизм лежит в основе антибактериальных, антивирусных и антиаллергенных свойств иммуноглобулина, имеются четкие экспериментальные доказательства ведущей роли роли sIgA в защите слизистых от инфекции. По нашим данным мы получили достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение этого показателя у больных женщин эктопией шейки матки (0,044 г/л). Длительный воспалительный процесс эпителиального покрова слизистой оболочки приводит к вторичному местному дефициту sIgA. Этот дефицит возникает за счет нарушения дифференцировки клеток эпителия нарушается сборка sIgA и синтез его секреторного компонента, длительное антигенное раздражение служит пусковым моментом для подавления пролиферации клона IgA-продуцирующих клеток.

В нашем исследовании показано, что у больных женщин с эктопией снижается количество лизоцима в отделяемом шейки матки (3,21 мкг/мл). Местная продукция этого фермента обусловлена как клетками эпителия, так и нейтрофильными лейкоцитами. Лизоцим является ферментом разрушающим пептидогликан клеточных стенок бактерий и помимо непосредственного бактерицидного действия он усиливает ФА нейтрофилов цервикального секрета. Можно предположить, что одной из причин уменьшения содержания лизоцима является снижение способности лейкоцитов и эпителиальных клеток синтезировать данный фактор резистентности в результате истощения их функциональных возможностей (Маянский А.Н., 1993).

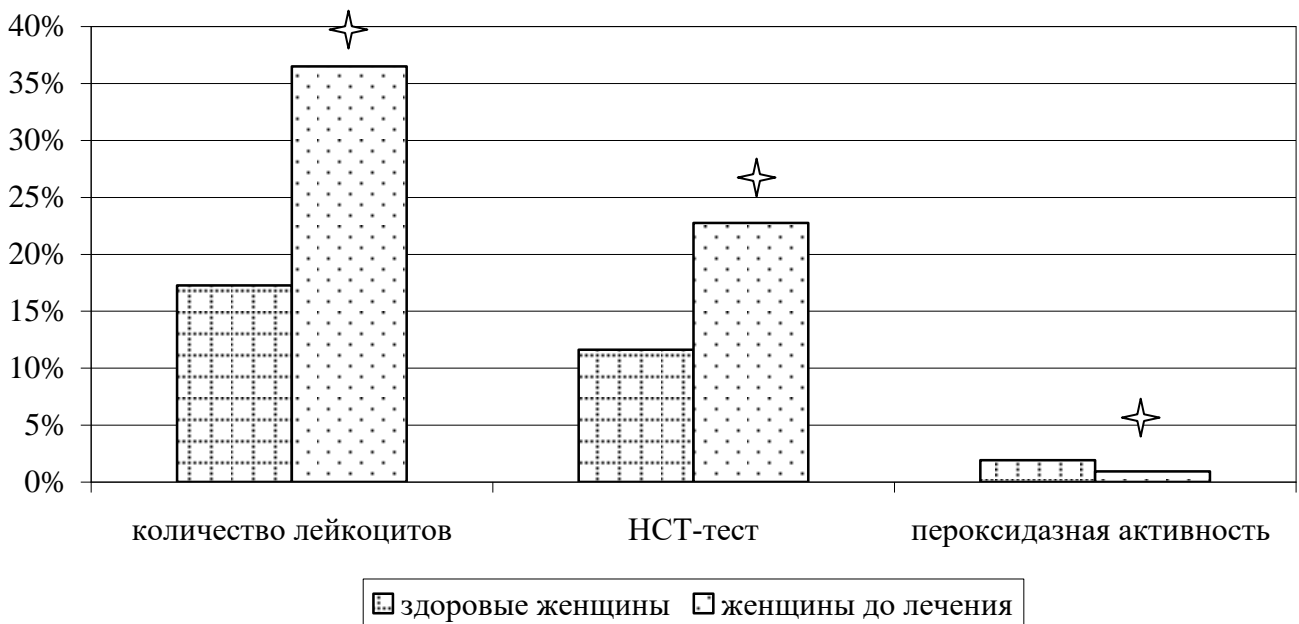


Рис. 3. Функциональное состояние сегментоядерных нейтрофилов в отделяемом влагалища у здоровых женщин и женщин с эктопией шейки матки.  
Примечание: ☆ - достоверные отличия по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

В генезе эктопии шейки матки наряду с нарушением гормонального баланса, воспалением, травмой, существенное значение имеет нарушение местного иммунитета. Важную роль в антиинфекционной резистентности репродуктивного тракта играет нормальная микрофлора. Её защитный эффект обусловлен антагонистическим действием на патогенную флору, стимуляцией лимфоидного аппарата репродуктивного тракта, созданием оптимальной среды, продукцией витаминов и других биологически активных веществ, влияющих на общую и местную реактивность организма. Устойчивость нормальной микрофлоры обеспечивается скоординированным взаимодействием гормональной, нервной и иммунной систем. Нарушение функции одной из систем, как правило, приводит к дисбалансу всего комплекса, что проявляется замещением представителей нормальной микрофлоры условно-патогенными и/или патогенными микроорганизмами (Орлова В.С., 2007).

Известно, что в отделяемом влагалища и шейки матки к основной микрофлоре относят грамположительные лакто- и бифидобактерии, которые составляют 87% микробиоценоза. Сопутствующая микрофлора представлена в основном аэробными, факультативно-анаэробными и строгими анаэробными микроорганизмами. Они являются синергистами основной влагалищной микрофлоры, их удельный вес в общем биоценозе влагалища не превышает 13%. Результаты, полученные нами при обследовании группы здоровых женщин, показали, что в процентном соотношении количество лактобактерий в содержимом влагалища составляет 78% от всех высеваемых в этом биотопе микро-

организмов. Коринобактерии занимают 32%, на долю стрептококков приходится до 20%, грибов - 11,8% и только 8% занимают стафилококки, что находит отражение в литературе. При исследовании микрофлоры репродуктивного тракта у больных женщин с эктопией шейки матки еще до начала лечения нами был выявлен дисбаланс в составе биоценоза (рис.4). В процентном соотношении количество лактобактерий было снижено до 44%, но выше высеваемость условно-патогенной флоры - стафилококки выделялось до 15%, грибов – до 16,5%, часто высевались коринобактерии и стрептококки. Высеваемые стафилококки имели признаки патогенности. Изменение количественного и качественного соотношения высеваемых микроорганизмов у больных женщин с эктопией шейки матки частично связано со снижением функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов, изменением рН влагалищной жидкости и в следствие этого снижением количества молочной кислоты в отделяемом влагалища и шейки матки. Патологические изменения эпителия, дефицит sIgA во влагалищном отделяемом создают благоприятные условия для колонизации грибами.

В ходе исследования у больных женщин с эктопией шейки матки после лечения на 21 сутки обнаружено достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение числа эпителиальных клеток с 0 и IV классом деструкции (после криодеструкции 0 класс – 78% и IV класс – 1%, после электрокоагуляции 0 – 80%, IV – 1% . При этом увеличилась степень деструкции I, II, III классов. Выявленные изменения свидетельствуют о восстановлении процессов регенерации слизистых оболочек репродуктивного тракта женщин с усилением деструктивных процессов (рис.5). Это можно объяснить тем, что лечение приводит к структурным изменениям слизистой оболочки, сущность которого сводиться к обновлению фаз клеточного деления и замещению неполноценных клеток нормальными эпителиоцитами. Кроме того, любой из представленных методов лечения повреждает стимуляцией регенеративных свойств тканей (Шехтер А.Б., 1991).

После лечения эктопии шейки матки на 21 сутки любым из представленных методов достоверно увеличивалось ( $p < 0,05$ ) общее количество лейкоцитов в отделяемом влагалища и шейки матки. Повышение количества лейкоцитов связано с воспалительной реакцией на хирургическое вмешательство, в результате которого наступила гибель клеток, в которых были длительно парализованы все процессы жизнедеятельности. Заживление раны (в частности, скорость очищения, воспалительная и пролиферативная фазы) зависят от иммунитета. В ранних фазах воспаления важнейшую роль в клеточном ансамбле играют тучные клетки, нейтрофилы и макрофаги которые взаимодействуют между собой. Эти клеточные взаимодействия оказывают регулирующее (индуктивное или ингибирующее) влияние на хемотаксис, размножение и функ-

цию клеток инфильтрата. Гистохимически и ультраструктурно во время взаимодействия клеток, в том числе контактного, отмечаются признаки активации как секреторной (экзоцитоз, клазматоз и др.), так и фагоцитарной функции клеток. При остром воспалении усиливается ФА клеток, увеличивается их поглотительная и переваривающая способности (Фредлин И.С., 1986).

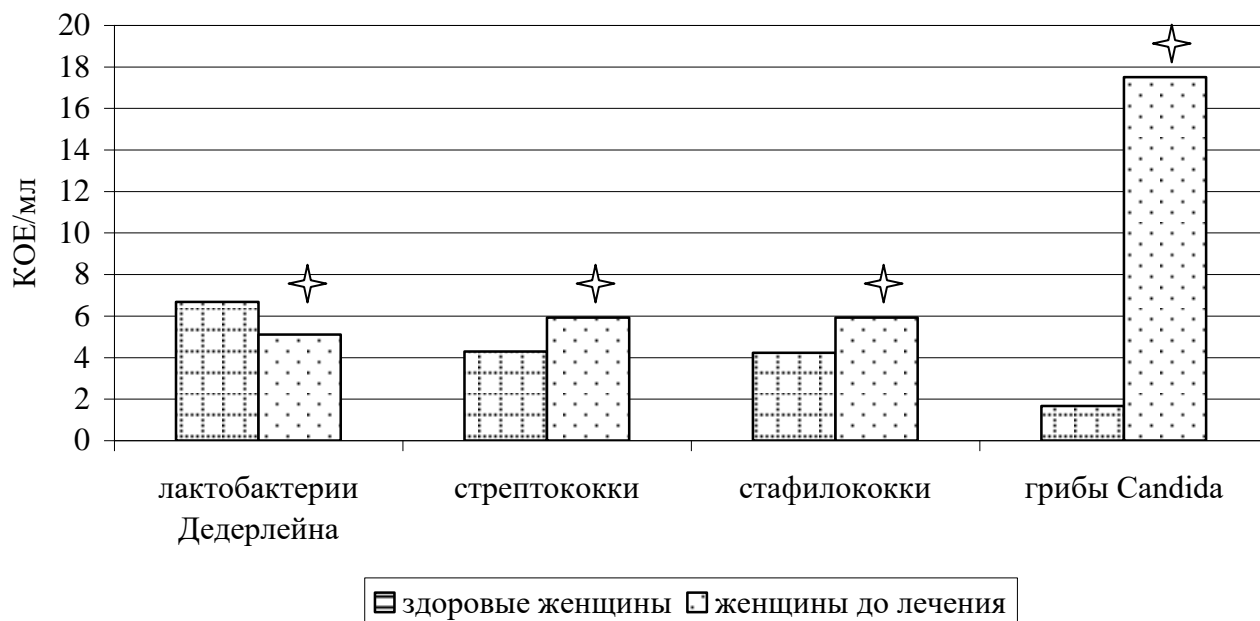


Рис. 4. Количественный состав микроорганизмов отделяемого репродуктивного тракта у здоровых женщин и у женщин с эктопией шейки матки.

Примечание: ☆ - достоверные отличия по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

Нами было установлено, что у больных женщин с эктопией шейки матки до проведения лечения выявляются изменения в поглотительной и переваривающей способности лейкоцитов. После проведения лечения представленными методами на 21 сутки выявлено значительное повышение этих показателей (рис. 6), а на 30–40 сутки после оперативного вмешательства показатели поглотительные и переваривающие способности лейкоцитов приближаются к показателям в группе здоровых женщин ( $p < 0,05$ ).

В ходе исследования у больных женщин с эктопией шейки матки после лечения на 21 сутки установлено повышение процента активных нейтрофилов в НСТ – тесте. Что указывает на высокую степень их ФА. По данным литературы состояние микробицидных систем нейтрофильных гранулоцитов зависит от интенсивности реакции организма на хирургическое вмешательство и отражает функциональные резервные возможности нейтрофилов (Маянский А.Н., 1989). Полученные нами результаты позволяют предположить, что ФА повышается в связи с возникающим иммуностимулирующим эффектом после повреждения ткани.

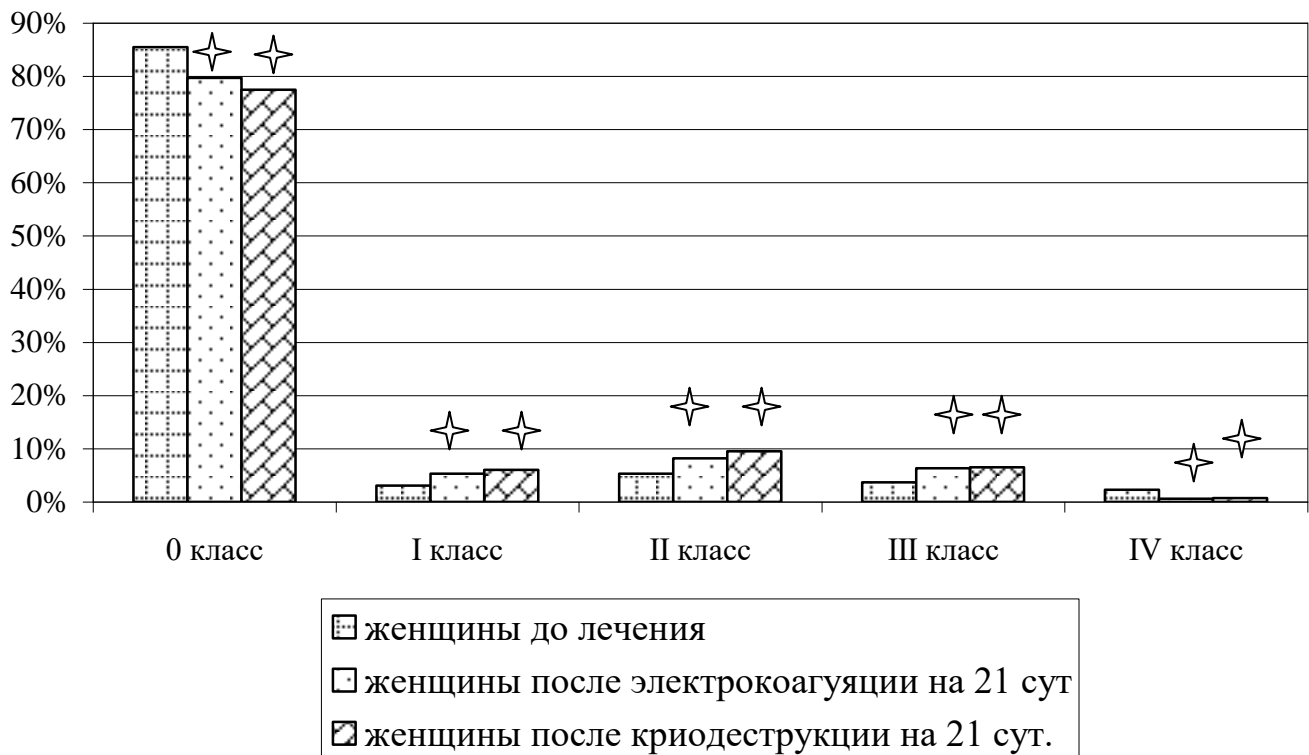


Рис. 5. Степень деструкции эпителиальных клеток у женщин с эктопией шейки матки до лечения и после лечения на 21 сутки.

Примечание: ✧ - достоверные отличия параметров по сравнению с группой до лечения ( $p < 0,05$ ).

Исследование качественного состава микрофлоры из отделяемого влагалища и шейки матки после лечения на 21 сутки показало, что доминирующее положение в биоценозе занимают лактобактерии, они составляют 46% после электрокоагуляции, и 64% после криодеструкции от всех высеваемых микроорганизмов. Значительно возрастает высеваемость грибов. После лечения на 30–40 сутки количество лактобактерий Деделейна продолжает увеличиваться и достигает показателей контрольной группы женщин. Высеваемость условно-патогенной флоры снижается. По все вероятности это связано с тем, что колонизируя эпителиоциты, лактобактерии препятствуют контаминации слизистых экзогенными микроорганизмами и ограничивают рост присутствующих во влагалище бактерий других видов. Образование молочной кислоты за счет расщепления гликогена лактобактериями позволяет поддерживать кислый рН, продукцию перекиси водорода, что подавляет рост других микроорганизмов.

В наших исследованиях мы обнаружили низкие значения содержания sIg A у женщин с эктопией шейки матки на 21 сутки после лечения. Можно предположить, что при изменении эпителиального покрова слизистой оболочки шейки матки и дифференцировки клеток покровного эпителия нарушается сборка sIg A и синтез его секреторного компонента и только к 30 – 40 суткам

этот показатель достигает уровня характерного для здоровых женщин (0,056г/л)( $p < 0,05$ ).

В наших исследованиях мы обнаружили низкие значения уровня лизоцима у женщин с эктопией шейки матки на 21 сутки после крио- и электрокоагуляции. Патогенный или условно-патогенный микроорганизм, взаимодействуя с основными иммунокомпетентными клетками (нейтрофилами и мононуклеарами), проходит антигенную идентификацию путем фагоцитоза. При этом из лизосом погибших иммунных клеток высвобождается значительное количество бактерицидных продуктов, таких как лизоцим, миелопероксидаза и лактоферрин. Являясь бактериолитическими ферментами, они разрушают полисахаридные стенки бактерий, вызывая их гибель. Возможно на 21 сутки после хирургического лечения процесс активации мембраны фагоцитов не наступает и полного высвобождения бактерицидных продуктов, одним из которых и является лизоцим не происходит. На 30–40 сутки лизоцим приближается к показателям здоровых женщин.

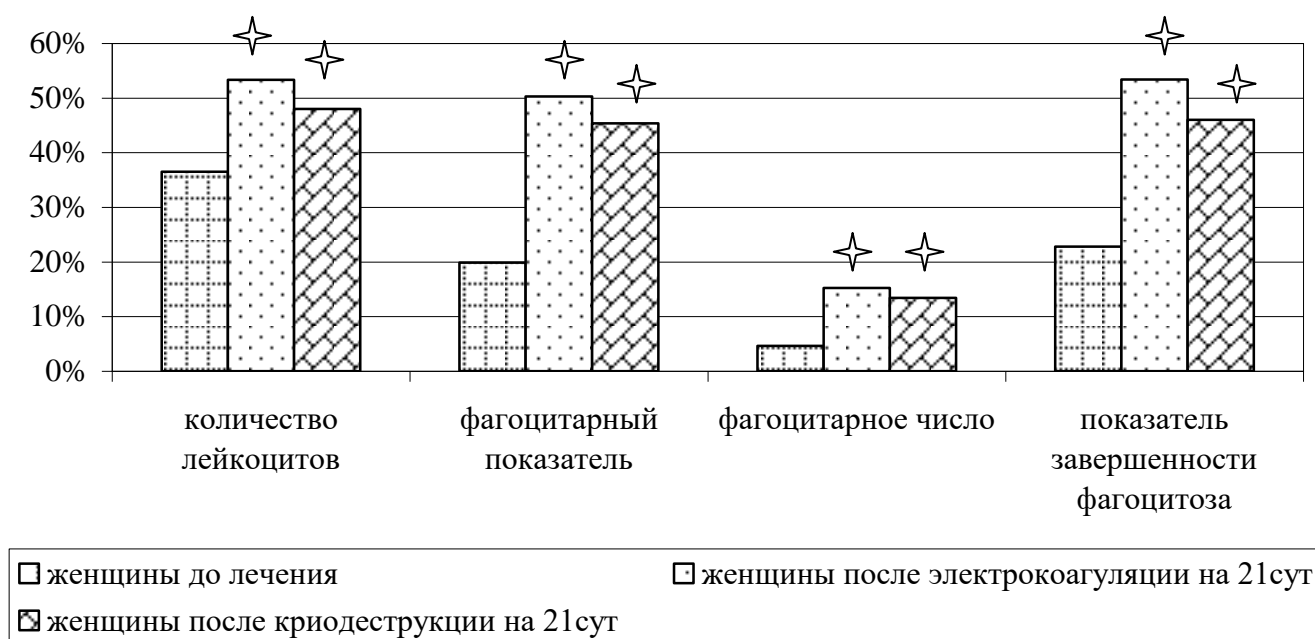


Рис. 6. Показатели поглотительной и переваривающей способности сегментоядерных нейтрофилов в отделяемом влагалища у женщин с эктопией шейки матки до и после лечения на 21 сутки.

Примечание: ☆ - достоверные отличия параметров по сравнению с группой до лечения ( $p < 0,05$ ).

В настоящее время практическое здравоохранение располагает различными методами лечения доброкачественных заболеваний шейки матки. Наиболее эффективными и распространенными являются способы, в основе которых лежит использование в качестве лечебного воздействия методов электро-, диатермокоагуляции и криодеструкции. Вместе с тем клиническая



практика свидетельствует об определенных отрицательных свойствах каждого из этих методов (Прилепская В.Н., 2006).

Нами проведен анализ влияния различных методов лечения на показатели местной противoinфекционной защиты. Выявлены достоверные различия в группах больных при изучении состояния эпителиальных клеток из отделяемого шейки матки, а также при исследовании общего количества лейкоцитов и их функциональной активности.

Известно, что в результате криогенного воздействия происходят сложные физические, химические и биологические процессы в клетках. Этот метод основан на кристаллизации внутриклеточной и межклеточной воды; под действием низких температур разрушаются клеточные структуры, нарушается микроциркуляция, что приводит к ишемии ткани и возникает крионекроз (Грищенко В.И., 1996). Одно из положительных свойств криовоздействия связано с возникающим иммуностимулирующим эффектом. При воздействии происходит девитализации патологически измененной ткани, которая остается в контакте с целостным организмом, следствием этого является специфический иммунный ответ (Костава М.Н., 1999). Механизм специфической иммунной стимуляции происходит за счет нарушения денатурации патологических белков и нуклеиновых кислот. Неизмененные нативные патологические белки выступают в качестве антигена, стимулируя в составе нежизнеспособной, уже чужеродной организму разрушенной холодом ткани. Как следствие этого, происходит выделение в кровеносное русло специфических антител, активизируется фагоцитоз, направленный против подвергнутых криодеструкцией патологических элементов (Качалина Т.С., 2006). Таким же действие на факторы местного иммунитета обладает и электрокоагуляция, но в основе этого лечения лежит использование высокочастотного тока, которое вызывает термическое расплавление тканей, при этом в электрическую цепь включается организм человека и генерация тепла происходит непосредственно в ткани шейки матки, вызывая необратимую коагуляцию белка.

Таким образом, у больных женщин с эктопией шейки матки после лечения повышается деструкция эпителиоцитов, изменяется функциональное состояние лейкоцитов отделяемого влагалища и шейки матки: повышается их содержание, снижается их жизнеспособность, кислородзависимая и кислороднезависимая бактерицидность. Изменяется качественный состав микрофлоры: снижается количество резидентных микроорганизмов и повышается содержание условно-патогенных микроорганизмов. На фоне применения криодеструкции и электрокоагуляции нормализуются характеристики эукариотических и прокариотических клеток – компонентов колонизационной резистентности слизистых оболочек шейки матки и влагалища у больных с эктопией. Более щадящим действием на слизистую шейки матки отмечено действие жидкого азота.

## ВЫВОДЫ

1. Для женщин с эктопией шейки матки характерны нарушения целостности эпителиальных клеток слизистой оболочки шейки матки и влагалища, изменения морфофункционального состояния лейкоцитарных клеток и дисбаланс в составе резидентной микрофлоры.
2. Изменения морфофункциональных свойств эукариотических клеток выражаются в повышении в исследуемом материале количества эпителиоцитов с высокой степенью деструкции и низким содержанием в них гликогена, увеличении числа сегментоядерных нейтрофилов и угнетение их фагоцитарной активности.
3. Угнетение фагоцитарной активности лейкоцитов наблюдается со стороны их поглотительной и переваривающей способности и обусловлено снижением как кислородзависимой так и кислороднезависимой бактерицидности.
4. Снижение функциональной способности лейкоцитарных клеток сопровождается низким значением содержания макрофагов и лимфоцитов и их секреторных компонентов: лизоцима и секреторного иммуноглобулина А, а также увеличением высеваемости гриба *Candida*.
5. Изменения в клеточном составе прокариотических клеток выражаются в снижении высеваемости из содержимого влагалища лактобактерий и увеличении встречаемости кокковой флоры и признаками вирулентности. Данные явление сопровождаются повышением рН и уменьшением содержания молочной кислоты во влагалищной жидкости.
6. Электрокоагуляция и криодеструкция, проведенные больным с эктопией шейки матки способствует восстановлению морфофункционального статуса клеток и нормализации микробного статуса с длительностью эффекта до 40 суток исследования. Отмечено равнозначное позитивное влияние электрокоагуляции и криодеструкции на изучаемые клеточные показатели местной противoinфекционной резистентности. Однако, более щадящее и выраженное нормализующее действие на слизистую оболочку шейки матки зарегистрировано при использовании жидкого азота.

### Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Изменения микрофлоры влагалища у женщин при хирургическом лечении миомы матки / М.А. Домашенко, О.П. Бочкарева, Е.П. Красноженов, **Е.В. Гавриленко** // Сборник статей V Всероссийской университетской научно-практической конференции молодых ученых и студентов по медицине. – Тула, 2006. – С. 85–86.

2. Бактериологические и биохимические изменения в составе влагалищной жидкости у больных с миомой матки на фоне хирургического лечения / О.П. Бочкарева, М.А. Домашенко, **Е.В. Гавриленко**, Е.В. Романова // Науки о человеке : материалы VIII Международного конгресса молодых ученых и специалистов. – Томск, 2007. – С. 144–145.

3. Морфофункциональное состояние приэпителиального слоя слизистых оболочек репродуктивного тракта у женщин с эктопией шейки матки / **Е.В. Гавриленко**, Е.В. Романова, О.П. Бочкарева, М.А. Домашенко // Науки о человеке : материалы VIII Международного конгресса молодых ученых и специалистов. – Томск, 2007. – С. 145–146.

4. Гавриленко, Е.В. Изменения бактериологических и биохимических показателей влагалищной жидкости у женщин при лечении эктопии шейки матки методом электрокоагуляции./ **Е.В. Гавриленко**, О.П. Бочкарева, Н.Г. Белова // Науки о человеке : материалы IX Международного конгресса молодых ученых и специалистов. – Томск, 2008. – С. 66.

5. Изменение бактериологических и биохимических показателей влагалищной жидкости при лечении эктопии шейки матки методом криодеструкции / **Е.В. Гавриленко**, Е.П. Красноженов, Л.А. Агаркова, Н.Г. Белова // Сибирский медицинский журнал. – 2008. – № 4. – С. 47–48.

6. Изменение местной противoinфекционной защиты репродуктивного тракта у женщин с эктопией шейки матки / **Е.В. Гавриленко**, Е.П. Красноженов, Л.А. Агаркова, Н.Г. Белова // Сибирский медицинский журнал. – 2008. – № 4. – С. 48–50.

### Условные сокращения

ЭВ – эпителий влагалища

ЭШМ – эпителий шейки матки

СЦК – средний цитохимический коэффициент

НСТ – нитросиний тетразол

sIg A – секреторный иммуноглобулин

КР – колонизационная резистентность

ЦК – цервикальный канал

ФА – фагоцитарная активность

Тираж 100 экз.  
Отпечатано в КЦ «Позитив»  
634050 г. Томск, пр. Ленина 34а