Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования
«Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

ЛЕМЯКИНА ЕЛЕНА ВИКТОРОВНА

РОЛЬ ОЦЕНКИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ В ОПТИМИЗАЦИИ ЛЕЧЕНИЯ ХРОНИЧЕСКИХ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ЦЕРВИЦИТОВ

14.01.01 – акушерство и гинекология

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор Н.А. Жаркин

Научный консультант:
доктор медицинских наук,
Б.Ю. Гумилевский

Волгоград - 2014

О Г Л А В Л Е Н И Е

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ..... 4
ВВЕДЕНИЕ..... 5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ..... 10
1.1. Актуальность и современное состояние проблемы хронических неспецифических цервицитов..... 10
1.2. Значение иммунной системы в генезе хронических цервицитов... 14
1.3. Генетический полиморфизм цитокинов..... 22
1.4. Современные методы лечения неспецифических цервицитов..... 24
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ..... 27
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ... 40
3.1. Иммуногенетическая характеристика пациенток..... 40
3.2. Клиническая характеристика пациенток до лечения..... 61
3.3. Результаты специальных методов исследования до лечения..... 68
3.4. Результаты лечения в группе сравнения..... 77
3.5. Результаты лечения больных в основной группе..... 85
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ..... 112
4.1. Генетические особенности пациенток с хроническим неспецифическим цервицитом..... 112
4.2. Эффективность современных методов лечения хронических неспецифических цервицитов..... 114
4.3. Оценка влияния иммуногенетических особенностей пациенток на цитокиновый профиль в процессе лечения..... 117
4.4. Принципы врачебной тактики у больных с ХНЦ на основе иммуногенетических критериев с применением вагинальной лазеротерапии и бальнеологического средства «Эльтон»..... 120
4.5. Оценка клинической эффективности разработанного метода лечения..... 123
ВЫВОДЫ..... 129

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ…….….. 131
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ…….…… 133
ПРИЛОЖЕНИЕ…….……..……..……... 156

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ХНЦ - хронический неспецифический цервицит

Ил - интерлейкины

ИФА - иммуноферментный анализ

IFNγ - интерферон-гамма

TNFα - фактор некроза опухоли альфа

TLR -толл-подобные рецепторы

SNP - единичный нуклеотидный полиморфизм

CpG-участки - протяженные участки ДНК, связывающие цитозин и гуанин с ДНК

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

ЦИН - цервикальная интраэпителиальная неоплазия

РШМ - рак шейки матки

ЭДТА - этилендиаминтетрауксусная кислота

цАМФ - циклический аденозинмонофосфат

IgE – иммуноглобулин Е

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы

Хронические неспецифические цервициты (ХНЦ) относятся к таким заболеваниям, которые сами по себе прямой угрозы здоровью женщины не представляют. Однако в нижних отделах полового тракта сохраняются и постоянно накапливаются в высоких концентрациях условно патогенные микроорганизмы, вызывая вагиниты и вагинозы, что в последствие может стать причиной развития гнойно-септических заболеваний органов малого таза, послеоперационных воспалительных осложнений, хориоамнионита, преждевременных родов, послеродового метроэндометрита, а также невынашивания и бесплодия, различных форм дисплазий [3,56,61,80,85,98,107,118,137,150,153,181,192]. Несмотря на существующий прогресс и применение различных новых методов и технологий в практической гинекологии, частота ХНЦ остается на высоком уровне и составляет 30 - 40%, а у нерожавших женщин до 30 лет – от 50% до 90% случаев [36,40,79,111,116,129,145]. Симптоматика ХНЦ, как правило, бывает маловыраженной и очень часто это заболевание протекает бессимптомно, длительно с частыми рецидивами [23,26,39,46,79,113,150,158].

Важное значение в возникновении, прогрессировании и рецидивировании воспалительных заболеваний шейки матки отводят состоянию иммунной системы [16,39,46,95,101,112,149].

Накоплены данные о влиянии полиморфизма генов цитокинов на состояние иммунной системы. В ряде исследований предполагается роль полиморфизма отдельных генов цитокинов в развитии и характере течения воспалительного процесса и влиянии, наряду с патогенностью микроорганизма, на баланс в развитии про - и противовоспалительного ответа [10,17,18,41,42,59,63,64,89,114,172,175,176,197].

Вопрос о влиянии генетических факторов, в частности полиморфизма генов цитокинов, на частоту возникновения и течение ХНЦ, а также их связь с

состоянием иммунной системы пациенток остается открытым, что определяет актуальность научного исследования.

Современное лечение воспалительного процесса в области шейки матки состоит из трех основных компонентов: антибиотикотерапия с обязательной местной санацией влагалища и восстановлением нормального микробиоценоза, а также иммунокоррекция [22,36,44,67,83,88,107,113,124,139,153,160,181,184].

Некоторыми авторами предложено использование преформированных факторов таких как, электрофорез с солями меди, бальнеотерапия, магнитотерапия, озонотерапия, иглорефлексотерапия, лазеротерапия [38,50,53,54,58,90,97,99,134,152,157,167]. Однако большинство из перечисленных методов сложны, дорогостоящи и не проявляют ожидаемой эффективности. Возможно, это связано с недостаточным влиянием на все патогенетические механизмы ХНЦ, что отражается на отсутствии тенденции к снижению частоты ХНЦ в настоящее время.

Цель исследования:

Повышение эффективности лечения хронических неспецифических цервицитов на основе оценки генетических полиморфизмов.

Задачи исследования:

1. Изучить генетические особенности пациенток с хроническим неспецифическим цервицитом.
2. Уточнить эффективность современных методов лечения хронических неспецифических цервицитов.
3. Оценить влияние иммуногенетических особенностей пациенток на цитокиновый профиль в процессе лечения.
4. Разработать комплексный метод лечения хронических неспецифических цервицитов с использованием вагинального лазерного фотофореза бальнеологического средства «Эльтон».
5. Оценить клиническую эффективность разработанного метода лечения.

Научная новизна:

Впервые подтверждена взаимосвязь характера клинического течения воспалительного процесса в шейке матки, длительности заболевания с иммуногенетическим профилем пациентки.

Впервые определены изменения системного иммунитета в виде количественного содержания сывороточного уровня про- и противовоспалительных цитокинов (Ил-1β, Ил-6, Ил-17а, Ил-4, Ил-10, IFNγ, TNFα) на фоне различных вариантов лечения у пациенток с ХНЦ.

Впервые в лечении пациенток с ХНЦ применено сочетание вагинальной лазеротерапии и бальнеологического средства «Эльтон», в виде «короткой» и «удлиненной» схемы лечения в зависимости от выявленных иммуногенетических особенностей пациентки. Доказано повышение эффективности терапии с применением лазерного фотофореза бальнеологического средства «Эльтон», их положительное влияние на биоценоз влагалища, регенеративную активность шейки матки и цитокиновый профиль.

Практическая значимость работы:

Определение мутации TLR6 (ген – TLR 6, полиморфизм – Ser249Pro) позволило выявить предрасположенность к нарушению иммунного реагирования, прогнозировать течение заболевания и его исход, а также подобрать индивидуальную схему лечения каждой пациентке в зависимости от ее генотипа. Определение цитокинового профиля пациенток позволяет оценить эффективность терапии и полноту излеченности ХНЦ.

Разработан «Способ лечения подострых и хронических неспецифических цервицитов нерожавшим женщинам, включающий курс лазерного фотофореза с применением бальнеологического средства "Эльтон" - гель» (патент РФ № 2495689 от 20 октября 2013 г.).

Разработанная схема лечения с комбинацией преформированных факторов на основе оценки иммуногенетических критериев позволила нормализовать

иммунологический статус пациенток и достичь полноценной эпителизации шейки матки, что повысило эффективность терапии ХНЦ в 2 раза.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Клинико-лабораторные проявления воспалительного процесса при ХНЦ у нерожавших женщин, жительниц Волгоградской области, связаны с глубиной подавления механизмов врожденного и адаптивного иммунитета и детерминируются иммуногенетическими особенностями, выражающимися в индивидуальном наборе аллельных вариантов гена TLR6.
2. Изменения параметров цитокинового профиля и особенности полиморфных вариантов SNP мутаций TLR6 позволяют осуществить оценку риска развития хронизации воспалительного процесса в шейке матки и прогнозировать течение заболевания.
3. Предложенный метод комплексного лечения ХНЦ с сочетанным использованием вагинальной лазеротерапии и бальнеологического средства «Эльтон», основанный на оценке иммуногенетических особенностей пациентки, способствует купированию клинических симптомов, приводит к элиминации инфекционного агента и восстановлению микробиоценоза влагалища, цитокинового равновесия и полноценной эпителизации шейки матки.

Апробация работы и публикации:

Основные материалы диссертации были доложены и обсуждены на 71-й Открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2013); Объединенном иммунологическом форуме (Нижний Новгород, 2013); I Научно-практической конференции с международным участием «Национальный и международный опыт охраны репродуктивного здоровья девочек» (Москва, 2013); IV Международной

научной конференции молодых ученых «Новейшие технологии медицинской реабилитации в санаторно-курортных условиях» (Украина, Одесса, 2013); 72-й Открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2014); 16-й Поволжской научно-практической конференции акушеров-гинекологов, неонатологов и педиатров «Проблемы сохранения здоровья матери и ребенка» (Волгоград, 2014).

По теме диссертации опубликовано 16 научных работ, в том числе 4 статьи в изданиях, включенных в действующий перечень ВАК для работ по медицинским наукам, а также получен патент РФ № 2495689 «Способ лечения подострых и хронических неспецифических цервицитов нерожавшим женщинам, включающий курс лазерного фотофореза с применением бальнеологического средства "Эльтон"- гель».

Внедрение результатов исследования в практику:

Полученные результаты исследования внедрены и применяются в работе женских консультаций ГУЗ «Клинический родильный дом №2», ГУЗ «Родильный дом №4», г. Волгограда. Материалы диссертации включены в лекции и семинарские занятия кафедр акушерства и гинекологии и клинической лабораторной диагностики ГОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Структура и объем диссертации:

Диссертация изложена на 159 страницах машинописного текста, содержит 40 таблиц и 24 фотографии, иллюстрирована 15 рисунками. Состоит из введения, обзора литературы, главы материалы и методы исследования, главы результаты собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций. Список использованной литературы содержит 199 источников: 161 - на русском и 38 - на иностранных языках.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1.Актуальность и современное состояние проблемы хронических цервицитов

Воспалительные заболевания гениталий у женщин представляют собой распространенную патологию, частота которой не имеет тенденции к снижению и составляет 60-70% среди больных с гинекологической патологией [23,24,35,40,79,118,150]. Практически при любой вагинальной инфекции в воспалительный процесс вовлекается шейка матки [2,8,21,32,80,129,131,180,181]. Хронические неспецифические цервициты (ХНЦ) относятся к таким заболеваниям, которые сами по себе прямой угрозы здоровью женщины не представляют. Однако в нижних отделах полового тракта сохраняются и постоянно накапливаются в высоких концентрациях условно-патогенные микроорганизмы, вызывая вагиниты и вагинозы, что в последствие может стать причиной развития гнойно-септических заболеваний органов малого таза, послеоперационных воспалительных осложнений, хориоамнионита, преждевременных родов, послеродового метроэндометрита, а также невынашивания и бесплодия, различных форм дисплазий [3,56,61,80,85,98,107,118,137,150,153,181,192].

Частота ХНЦ составляет 30-40%, а у нерожавших женщин до 30 лет – от 50% до 90% случаев [36,40,79,111,116,129,145]. Цервициты выявляют у 70% женщин, обращающихся в поликлинические отделения [1,88,131,181].

В настоящее время используется следующая классификация генитальных инфекций по этиологическому фактору:

1. Неспецифические заболевания, вызванные эндогенной флорой, населяющей половые пути женщины, к которой относятся условно-патогенные микроорганизмы, такие как стафило-, стрептококки, кишечная палочка, бактероиды, микоплазмы, уреаплазмы, гарднереллы, дрожжевые грибы.
2. Специфические заболевания, вызванные экзогенной флорой, относящейся к заболеваниям, передающимся половым путем, кроме туберкулеза. К ним

относятся гонорея, трихомоноз, хламидиоз, вирусные заболевания, туберкулез [34,61,80,166,179,183].

Неспецифический цервицит - это воспалительный процесс, вызванный чаще всего условно-патогенной флорой и затрагивающий слизистую оболочку цервикального канала шейки матки. Патогенные и условно-патогенные микроорганизмы в вагинальном и цервикальном секретах высевались у 70% женщин с хроническими цервицитами [23,27,130]. Однако в 30-40% случаев не удается выделить возбудителей воспалительного процесса [82,130]. В последние годы появились некоторые особенности в этиологии ХНЦ: чаще выявляются грамотрицательные аэробы - кишечная палочка, протей, клебсиелла, энтерококки и клостридии, анаэробы - пептококки, бактероиды, реже ведущим фактором являются гемолитический стрептококк, золотистый стафилококк [27,150,158]. Смешанная инфекция высевается у 15-20% женщин [22,27,156,158,179]. При ХНЦ происходит увеличение общей микробной обсемененности влагалищного биотопа с преобладанием облигатных грамотрицательных бактерий и сниженным количеством или отсутствием лактобактерий [9,100,158].

В динамике воспаления шейки матки возникают взаимосвязанные нарушения местного иммунитета, кровоснабжения подлежащей стромы и обновления клеточного эпителиального пласта, способствующие рецидивирующему течению процесса, то есть хронизации [82,127]. Предшествующая неэффективная как консервативная, так и деструктивная терапия шейки матки наблюдается у каждой третьей женщины [101].

Как известно, в основе патогенеза любого воспаления, лежат несколько основных стадий:

- альтерация ткани с последующим выделением медиаторов;
- сосудистая реакция с последующей экссудацией, нарушением микроциркуляции, миграцией лейкоцитов, выработкой иммунных клеток, простагландинов, ферментов, различных ионов, кининов, изменения РН тканей;
- пролиферация - репаративная стадия [82,109,110].

Нарушения в структуре соединительной ткани неизбежно ведут к появлению дистрофических изменений в клетках многослойного плоского эпителия с последующей вакуолизацией ядер и цитоплазмы и изменению ферментативных процессов, уменьшению и даже полному временному исчезновению гликогена в тканях. При хроническом процессе больше поражается строма: происходит инфильтрация ее клетками, сосуды полнокровны и расширены [72,82,109].

При распространении процесса на подлежащие шеечные железы содержимое их становится гноевидным, на поверхности перерастянутых желез можно наблюдать выраженную сеть варикознорасширеннных сосудов. Пролиферация фиброзной ткани приводит к тому, что шейка при хроническом цервиците нередко выглядит гипертрофированной. Ввиду инфильтрации и утолщения соединительнотканных сосочков на обширных участках слизистой оболочки можно наблюдать мелкие точечные вкрапления и возвышения, продолжавшие существовать длительный период времени, что во многом определяет соответствующую картину при кольпоскопии, которая является одним из ведущих методов диагностики цервицитов [6,77,116,120,127,128].

Репаративный процесс характеризующейся регенерацией замедляется и извращается, поэтому полноценного разрешения не происходит, нормальная структура тканей не восстанавливается, остается клеточная инфильтрация, полнокровность капилляров, в результате чего образуются наботовы кисты, капсула которых уплотняется и фиброзируется, вследствие чего создаются значительные затруднения для попадания внутрь антибактериальных средств, что обусловливает неэффективность терапевтических мер [110,119,120,128].

Факторами, предрасполагающими к развитию заболевания, являются раннее начало половой жизни, наличие нескольких половых партнеров, аборты, вредные привычки (курение, прием алкоголя), бесконтрольное применение антибактериальных средств, снижение иммунологической реактивности [16,27,46,187]. Факторами, способствующими возникновению ХНЦ, являются отягощенный акушерско-гинекологический и соматический анамнез - хроническая патология органов мочевыделительной системы [11,27]. Из

сопутствующей гинекологической патологии пациентки ХНЦ наиболее часто страдают хроническим сальпингоофоритом, вагинитом специфической и неспецифической этиологии [11,23,118].

Диагноз ХНЦ ставится на основе клинических признаков, данных лабораторных и инструментальных исследований. Симптомы ХНЦ, такие как патологические выделения из влагалища, периодически появляющийся зуд и жжение во влагалище, дискомфорт, посткоитальные кровянистые выделения, диспареуния, часто мало выражены и в большинстве случаев это заболевание протекает бессимптомно [40,91,119,184]. При осмотре шейки матки наблюдается отечность, незначительная гиперемия, слизисто-гноевидные выделения. При затяжном течении шейка матки гипертрофирована, кровоточит при диагностических манипуляциях [1,3,79]. Для этиологической верификации используются бактериоскопический метод, микробиологический культуральный метод с подбором антибактериальных средств, ПЦР диагностика. Для постановки диагноза применяют расширенную кольпоскопию и цитологическое исследование, при необходимости биопсию [6,12,51,65,66,69,77,103,105,116,127,128,157,169,178,192,194].

Лечение ХНЦ нередко характеризуется низкой эффективностью, часто сопровождается рецидивами, частота которых достигает 40% [48,150,157]. В последнее время отмечается «бум самодиагностики и самолечения» с бесконтрольным применением лекарственных средств, особенно антибактериальных препаратов, которые способствуют персистенции возбудителя, пролонгированию дисбиоза, подавлению собственного иммунитета и возникновению различных аллергических реакций [24,66,83].

В последнее десятилетие для ХНЦ характерна склонность к малосимптомному, длительному течению, рецидивированию, что приводит к формированию морфологических изменений эндо- и экзоцервикса [23,26,79,113,157].

1.2. Значение иммунной системы в генезе хронических неспецифических цервицитов

На современном этапе развития медицинской науки нет сомнений в том, что форма течения инфекционного процесса определяется сложным взаимодействием патогена и организма человека. Известно, что особенности формирования и течения хронической инфекции обусловлены, с одной стороны, гетерогенностью патогенов (вирулентность, контагиозность, резистентность к антибиотикам), а с другой – состоянием иммунной системы организма, от адекватности функционирования которой, зависят характер течения и исход заболевания [76,154,155,161].

В результате многолетних исследований установлено, что нарушение естественного течения воспалительного процесса, в том числе в шейке матки, может быть как следствием, так и причиной активации патологических механизмов иммунной системы или дисрегуляции иммунного ответа [136,138,155]. Во всех случаях они связаны с нарушением экспрессии воспалительных медиаторов, включая цитокины, факторов роста и простагландинов [123,136,170,171].

Необходимо подчеркнуть, что шейка матки кроме анатомического барьера является основным звеном локального иммунитета [95,102,117].

Ведущую роль в регуляции активности и синхронизации действия иммунокомпетентных клеток принадлежит растворимым факторам межклеточного взаимодействия – цитокинам [135,142,143]. Цитокиновая регуляция имеет огромное значение, как в норме, так и при патологии. В настоящее время в клинических исследованиях определение цитокинов используют как достоверный диагностический инструмент прогнозирования течения и исхода инфекционного процесса [13,14,34,37,39,43,49,57,70,74,112,123,132,136,138,145,161,165,170,186].

Цитокины представляют собой группу полипептидных медиаторов, участвующих в формировании и регуляции защитных реакций организма. Классификация цитокинов в основном проводится по их биологическим

свойствам. К цитокинам относятся интерфероны, представляющие собой большую группу противовирусных полипептидов; колониестимулирующие факторы, вызывающие размножение и дифференцировку клеток предшественников различных ростков гемопоэза на разных этапах их созревания; хемокины или хемотактические цитокины, обеспечивающие активацию процессов миграции различных типов лейкоцитов и некоторых других клеток; трансформирующие ростовые факторы; группа фактора некроза опухолей; интерлейкины со сложившимися исторически порядковыми номерами и некоторые другие. Интерлейкины, имеющие номера с 1 по 25, не относятся к одной подгруппе цитокинов, а могут быть разделены на провоспалительные цитокины, ростовые и дифференцировочные факторы лимфоцитов, отдельные регуляторные цитокины. Воздействие каждого цитокина на клетки характеризуется плейотропностью, спектр эффектов разных медиаторов перекрывается и, в основном, конечное функциональное состояние клетки зависит от влияния нескольких цитокинов, действующих синергично. [70,142,143,154]. Защита на местном уровне развивается путем формирования типичной воспалительной реакции после взаимодействия патогенов с паттерн-распознающими рецепторами (мембранными TLR) с последующим синтезом так называемых провоспалительных цитокинов [161]. Синтезируясь в очаге воспаления, цитокины воздействуют практически на все клетки, участвующие в развитии воспаления, включая гранулоциты, макрофаги, фибробласты, клетки эндотелия и эпителиев, а затем на Т- и В-лимфоциты. В рамках иммунной системы цитокины осуществляют взаимосвязь между неспецифическими защитными реакциями и специфическим иммунитетом, действуя в обоих направлениях. Примером цитокиновой регуляции специфического иммунитета служит дифференцировка и поддержание баланса между Т-лимфоцитами хелперами 1-го и 2-го типов [185]. В случае несостоятельности местных защитных реакций цитокины попадают в циркуляцию, и их действие проявляется на системном уровне [142,185].

Известно, что цитокины регулируют состояние эпителиального барьера шейки матки и образуют цитокиновую сеть в гениталиях женщины. Модуляция цитокиновой оси зависит от инфекции, генетического полиморфизма цитокиновых генов, стресса, питания, экологических факторов, которые вносят вклад в количественные различия в величину и профиль цитокинового ответа [122,146,147].

Необходимо учитывать, что воспалительный процесс является естественным механизмом заживления ран и восстановления нарушенной в процессе операции целостности органов, также нормальной реакцией организма на бактериальную инвазию. При этом повышение продукции провоспалительных цитокинов – абсолютно необходимое условие развития воспалительной реакции [34,39,43,138,154]. Изучение концентрации цитокинов позволяет получить информацию о функциональной активности различных типов иммунокомпетентных клеток, о тяжести воспалительного процесса, о его переходе на системный уровень и прогнозе заболевания [143].

В последние годы наметилась отчетливая тенденция к росту частоты хронической урогенитальной инфекции связанной с рецидивирующей формой заболевания. Одним из ключевых звеньев патогенеза хронической генитальной инфекции является нарушение соотношения про- и противовоспалительных цитокинов. Нарушение иммунологического гомеостаза ведет к запуску самоподдерживающегося вялотекущего воспалительного процесса, развитию вторичного иммунодефицитного состояния и дистрофических процессов в репродуктивном тракте [150,161,165,189].

За последние два десятилетия клонированы гены большинства цитокинов и получены рекомбинантные аналоги, полностью повторяющие биологические свойства природных молекул. Сейчас известно уже более 100 индивидуальных веществ, относящихся к семейству цитокинов [70,143].

Среди цитокинов одним из первых был обнаружен Ил-2. Основными продуцентами Ил-2 являются Т-хелперы. Около 20% цитотоксических Т-клеток также способны к продукции данного цитокина. На синтез Ил-2 в них влияют

не только антигены или митогены, но и ряд других биологически активных соединений. Так, определенные цитокины (Ил-1, Ил-6, IFNγ, TNFα), продуцируемые другими классами клеток, стимулируют продукцию Ил-2 у преактивированных антигеном Т-клеток [70,142].

Мишенями регуляторного действия Ил-2 являются различные субпопуляции Т-клеток, В-клетки, натуральные киллерные клетки, макрофаги. Основным результатом действия Ил-2 на покоящиеся или стимулированные антигеном или митогеном клетки является обеспечение их пролиферации. Именно эта биологическая активность Ил-2 определяет его в качестве типичного ростового фактора клеток лимфомиелоидного комплекса [70,143].

Центральную роль в локальном и системном, остром и хроническом воспалении играет интерлейкин-1β. Ил-1β – провоспалительный цитокин, обладающий широким спектром биологических функций: усиливает функциональную активность всех клеток – участников, как воспалительного процесса, так и репаративного этапа восстановления поврежденной ткани [14]. Повышение концентрации Ил-1β связано с активацией иммунного ответа по Т-хелперному пути 1-го типа [70]. ИЛ-1β участвует в развитии острого воспаления, гипертермии, увеличивает количество нейтрофилов, влияет на состояние эндотелия, стимулирует выработку простагландинов, простациклина, тромбоксана, цАМФ. В высоких дозах вызывает системные реакции при септическом шоке, в низких - протективный эффект. После контакта макрофагов с антигеном начинается выработка Ил-1β, что является пусковым моментом в развитии иммунного ответа [142].

Важную роль в развитии воспаления играет также интерлейкин-6, который относится к классу провоспалительных цитокинов. Существует сложная сеть информационных связей между различными клетками при травмах, инфекциях и опухолевом процессе, в осуществлении которых участвует Ил-6 [70,143].

К группе противовоспалительных цитокинов относится интерлейкин-4 (Ил-4). Ему отводится важная роль в поддержании иммунного баланса, что связывается с его способностью активировать Т-хелперный ответ 2-го типа β

[70,155]. Источником ИЛ-4 являются Т-хелперы, стимулированные митогеном, тучные клетки, неидентифицированные клетки стромы костного мозга. Мишени регуляторного действия ИЛ-4, имеющие соответствующие рецепторы, относятся к самым разнообразным клеточным типам: различные субпопуляции Т-клеток, В-клетки, макрофаги, фибробласты, клетки-киллеры, тучные клетки, костномозговые предшественники гемопоэза. В то же время он повышает цитокинетическую активность макрофагов, способствует миграции в очаг воспаления нейтрофилов, усиливает выработку колониестимулирующих факторов.

Ил-10 противовоспалительный цитокин, который продуцируется Т-клетками 2-го типа β (Th2) и может рассматриваться как антагонист ряда других цитокинов. Он подавляет продукцию всех провоспалительных цитокинов, интерферона, пролиферативный ответ Т-клеток на антигены и митогены, а также подавляет секрецию активированными моноцитами Ил-1b, TNFα и Ил-6. Но одновременно Ил-10 может стимулировать синтез IgE. В результате он способствует развитию гуморальной составляющей иммунного ответа, обусловливая антипаразитарную защиту и аллергическую реактивность организма [143,195].

Ил-12 относится к провоспалительным цитокинам. Основными его продуцентами являются моноциты, макрофаги, а также дендритные клетки, нейтрофилы, активированные лимфоциты. Индукторами синтеза цитокина служат микробные компоненты и продукты. В последние годы было показано, что Ил-12 является ключевым цитокином для усиления клеточно-опосредованного иммунного ответа и инициации эффективной противоинфекционной защиты против вирусов, бактерий, грибов и простейших. Главный эффект - индукция синтеза IFNγ. Синтезированный при этом IFNγ начинает потенцировать индукцию синтеза IL-12 макрофагами. [154,186].

Интерферон-γ (IFNγ) – важнейший эндогенный иммуномодулятор, активирующий Т-хелперный ответ 1-го типа. IFNγ обладает большим спектром

противовирусного и противоопухолевого действия [143]. IFNγ является продуктом экспрессии активированных Т-лимфоцитов и натуральных киллеров (NK), впервые идентифицированный как природный противовирусный агент. IFNγ является регулятором синтеза иммуноглобулинов, включая переключение с одного класса на другой. Биологическая активность IFNγ реализуется через специфические клеточные рецепторы и внутриклеточный сигнальный протеинкиназный каскад, приводящий к активации соответствующих транскрипционных факторов и транскрипции целого семейства генов, кодирующих факторы резистентности к инфекционным агентам и комплементарные цитокины [161,175].

TNFα (называемый также кахектином) - это провоспалительный цитокин. Под влиянием TNFα резко увеличивается образование макрофагами и нейтрофилами перекиси водорода и других свободных радикалов. При хроническом воспалении TNFα активирует катаболические процессы и, тем самым, способствует развитию кахексии - симптома многих хронических заболеваний [70]. TNFα оказывает цитотоксическое, иммуномодулирующее и метаболическое действие. TNFα обладает способностью индуцировать апоптоз, лизировать опухолевые и инфицированные вирусом клетки [199]. TNFα обеспечивает широкий спектр биологических сигналов, участвующих в регуляции иммунного гомеостаза. TNFα стимулирует продукцию Ил-1, Ил-6, оказывает выраженное хемотаксическое действие на моноциты, принимает активное участие в воспалительных реакциях, вызывает экспрессию молекул адгезии на поверхности эндотелиальных клеток сосудов, что приводит к повышению прилипания нейтрофилов, моноцитов и лимфоцитов на поверхности этих клеток [143].

Интерлейкин-17а является основоположником всего семейства, поэтому его также называют просто интерлейкин-17. Этот интерлейкин был выделен в 1993 году как провоспалительный цитокин, стимулирующий продукцию хемокинов и, как следствие, стимулирующий миграцию нейтрофилов к месту воспаления [143]. Ил-17 запускает обширную тканевую реакцию, приводящую к миграции

нейтрофилов в зону воспаления. Ил-17 может вырабатываться многими клетками, однако наиболее выраженную продукцию обеспечивают Т-хелперы 17 типа (Th17) [155].

Толл-подобные рецепторы (Toll-like receptor, TLR) — класс клеточных рецепторов с одним трансмембранным фрагментом, которые распознают консервативные структуры микроорганизмов и активируют клеточный иммунный ответ. Играют ключевую роль во врождённом иммунитете [86,141,193,199]. Например, TLR4 узнаёт и связывается с консервативной структурой клеточной стенки грамотрицательных бактерий — липополисахаридом. Название получили благодаря сходству с открытым в 1985 году геном Toll у дрозофилы [168]. Известно 13 TLR млекопитающих, обозначаемых от TLR1 до TLR13, которые связывают различные лиганды и продуцируются в организме различными типами клеток. У человека существует 10 TLR (от TLR1 до TLR10), у мыши - 12 (от TLR1 до TLR9, а также TLR11-13). В неактивном состоянии TLR находятся в мембране в мономерном состоянии. При активации они димеризуются, что приводит к последующей передаче сигнала в клетку. Большинство рецепторов образуют гомодимеры, в то время как, например TLR2 образует гетеродимеры с TLR1 или TLR6 в зависимости от лиганда. Активация TLR происходит при связывании лигандов, которыми для них являются определённые структуры бактерий, вирусов и грибков. После связывания лиганда и активации рецептора он связывается в цитоплазме с TIR домен-содержащими адаптерными белками, набор которых варьирует в зависимости от типа рецептора и сигнального пути. Например, TLR4 может индуцировать синтез провоспалительных цитокинов, что приводит к синтезу интерферонов. Адаптерные белки связываются со специфическими ферментами - киназами, которые значительно усиливают сигнал и приводят в конечном итоге к индукции определённых генов, которые определяют воспалительный ответ клетки. В целом, TLR являются одними из наиболее мощных клеточных генных модуляторов [29,174,193,198].

TLR2 (толл-подобный рецептор 2, CD282) — мембранный белок, входящий в группу TLR, обеспечивающих функционирование врождённого иммунитета. TLR2 так же как TLR1 распознаёт патоген-связанные молекулярные структуры грамм-положительных бактерий, включая пептидогликаны, липотейхоевую кислоту, некоторые компоненты микобактерий и зимозан клеточной стенки дрожжей [141].

TLR3 (толл-подобный рецептор 3, CD283) — мембранный белок, относится к группе TLR, обеспечивающих функционирование врождённого иммунитета. TLR3 связывает двухцепочечную РНК вирусов и, таким образом, играет важную роль в противовирусной защите организма [92,198].

TLR4 (толл-подобный рецептор 4, CD284) — мембранный белок, относится к группе TLR, участвующих во врождённом иммунитете. Первый обнаруженный рецептор этой группы. TLR4 связывает липополисахарид клеточной стенки бактерии. Сигнал, передающийся в клетку через этот рецептор, функционально близок к рецептору ИЛ-1 и является одним из древнейших в системе антибактериальной защиты организма [92,141,193].

TLR6 (толл-подобный рецептор 6, CD286) — мембранный белок, входящий в группу TLR, обеспечивающих функционирование врождённого иммунитета. Образует гетеродимерный комплекс с TLR2, поэтому его вместе с TLR1 относят к подгруппе «TLR2». Рецептор распознаёт патоген-связанные молекулярные структуры грамм-положительных бактерий и грибков. Рецептор был открыт в 1999 году. Обнаружен на поверхности моноцитов, эндотелиальных клеток кожных капилляров и некоторых других клеток [92,141,193] .

TLR9 (толл-подобный рецептор 9, CD289) — мембранный белок, входящий в группу TLR, обеспечивающих функционирование врождённого иммунитета. Распознаёт CpG - участки на молекуле ДНК, которые встречаются относительно редко (~1%) в ДНК позвоночных по сравнению с бактериальной или вирусной ДНК. Это внутриклеточный белок, локализующийся в эндосомах [28].

Можно заключить, что цитокины представляют собой группу полипептидных медиаторов, участвующих в формировании и регуляции защитных реакций организма, от которых зависит течение и исход заболевания. В то же время от функционирования врожденного иммунитета, за который отвечают TLR, зависит активация или угнетение цитокинов.

1.3. Генетический полиморфизм цитокинов

В связи с развитием технологий генотипирования и возможностью идентифицировать генетические мутации, накоплены данные о влиянии полиморфизмов генов цитокинов и генов TLR на состояние иммунной системы. В последнее десятилетие уделяется большое внимание исследованию генетического полиморфизма как фактора, влияющего на индивидуальную чувствительность клеток и организма человека.

Благодаря достижениям программы "Геном человека" идентифицированы гены, мутации которых приводят к наследственным болезням или увеличивают риск многофакторных заболеваний. Это повлекло за собой разработку новой стратегии в лечении, направленной на выявление индивидуальной предрасположенности к конкретной патологии и исправление функций дефектного гена, в том числе с помощью методов иммунокоррекции. Согласно данным последних лет, различия в генах, контролирующих защитные реакции организма, могут влиять на уровень продукции кодируемых белков и, тем самым, на характер протекания иммунного ответа. В связи с этим функциональный полиморфизм генов цитокинов и TLR представляет значительный интерес, т. к. именно эти белки вносят наибольший вклад в регуляцию иммунитета [10,59,121,188,197].

Генетический полиморфизм – изменения генома, встречающиеся в популяции, по крайней мере, в двух вариантах (аллелях) с частотой не менее 1%. Наиболее частым типом генетического полиморфизма являются однонуклеотидные замены (SNP), которые делают каждого человека генетически уникальным, а располагаясь внутри смысловых

последовательностей ДНК индивидуальных генов, приводят к стойким изменениям соответствующих белков, формируя уникальный биохимический портрет каждого человека. Некоторые полиморфные варианты генов предрасполагают к развитию частых мультифакторных заболеваний. Они получили название генов «предрасположенности». Для развития клинической формы заболевания требуется наличие в генотипе индивида определенных аллельных вариантов генов, формирующих неблагоприятный наследственный фон, реализующийся под действием факторов внешней среды патологическим фенотипом. Это мутантные гены (аллели), совместимые с рождением и жизнью, но при определенных условиях способствующие или препятствующие развитию того или иного заболевания [10].

Мутации могут передаваться от одного поколения другому так же, как унаследованные рыжие волосы матери или карие глаза отца. Мутации также могут произойти спонтанно в результате отрицательного воздействия физических (например, различные виды излучения, радиация, и т.п.), химических (канцерогены, окислительный стресс и т.п.) или биологических (вирусы) факторов окружающей среды [96,133]. Эти генетические различия вносят важный вклад в индивидуальные особенности развития защитных реакций и предрасположенность к целому ряду заболеваний. Гены интерлейкинов обладают чрезвычайно высокой степенью полиморфизма [10,18,41,42,162,163,164].

Исследование генов, контролирующих активность цитокинов, являющихся медиаторами воспаления, — одна из важных задач в раскрытии патогенетических звеньев инициации и течения заболеваний, выявление на ранних сроках предрасположенности к заболеваниям, что позволит прогнозировать риск развития патологии или тяжесть ее течения, с другой — индивидуально подобрать специфическую терапию для конкретного пациента [10,15,18,29,30,41,42,63,64,89,114,163,195,197].

Вопрос о влиянии генетических факторов, в частности полиморфизма генов цитокинов, на частоту возникновения и течение ХНЦ, а так же их связь с состоянием иммунной системы пациентов остается открытым.

1.4. Современные методы лечения неспецифических цервицитов

В настоящее время комплексный подход к диагностике заболеваний шейки матки диктует необходимость комплексного лечения [3,4,25,40,44,47,55,81,88,184,190,194].

Современное лечение воспалительного процесса в области шейки матки состоит из трех основных компонентов: антибиотикотерапия с обязательным местным лечением, иммунокоррекция и восстановление нормального микробиоценоза влагалища [22,36,44,67,83,88,107,113,124,139,153,160,181,184].

Первоочередным методом терапии цервицитов представляется этиотропное лечение. Существование экосистемы влагалища предполагает наличие как в норме, так и при патологии нескольких видов микроорганизмов, представляющих его биотоп. Поэтому этиотропная антибактериальная терапия зависит от видовой принадлежности возбудителей инфекционного процесса и их различной чувствительности к антибиотикам [23,26,32,62,156,191].

В настоящее время наибольшее значение в этиотропной терапии принадлежит антибактериальным средствам группы фторхинолонов и макролидов, также используются антипротозойные и антимикотические средства [35,36,191]. Важное значение имеет местная санация влагалища и коррекция биоценоза. Среди них применяются вагинальные свечи и таблетки нео-пенотран форте, тержинан, полижинакс, клион Д, гексикон, клиндацин, тандум роза, бифидумбактерин, хилак форте, ацилакт, лактогин, вагинорм - с, солкотриховак [23,24,26,27,32,35,56,88,115,126,181]. Характер течения и завершения воспалительных заболеваний женских половых органов напрямую зависят от состояния иммуногенеза. Для стимуляции неспецифической защиты терапию ХНЦ обязательно дополняют препаратами, обладающими иммунокорректирующими свойствами. В настоящее время в гинекологической

практике популярны иммуномодуляторы широкого спектра действия (иммунал, лавомакс, бестим), стимуляторы антителообразования и фагоцитоза (полиоксидоний, галавит, метилурацил), препараты интерферона (виферон, кипферон), индукторы синтеза интерферонов (амиксин, циклоферон, неовир, панавир, галавит), интерлейкины (ронколейкин, беталейкин, лейкомакс, иммуномакс), иммуностимуляторы бактериального происхождения (ликопид, имудон), системные пероральные энзимы (флогэнзим, вобэнзим), цитокинотерапию, а также противовирусные препараты [16,19,22,67,83,104,106,149].

Учитывая наличие нарушений микроциркуляции в тканях, пораженных хроническим воспалительным процессом, используются различные методики физиотерапии, такие как магнитотерапия [152], озонотерапия [38], рефлексо - и лазеротерапия [50,53,58,78,90,134,153,173], их комбинация с ультрафиолетовым облучением крови и аутоиммунизацией [97], сочетание с бальнеологическими средствами [53,99,160], разнообразные фитопрепараты введенные в состав гелей, суппозиториев [24], титансодержащие препараты [55].

При сохранении цервицита применяют хирургические методы лечения – диатермокоагуляцию, криодеструкцию, химическую коагуляцию шейки матки [34,35,115].

Таким образом, проведенный анализ данных многочисленных научных работ показал, что, несмотря на проведение целого ряда научных исследований, осветивших значительную часть вопросов эпидемиологии, патогенеза, клиники, диагностики ХНЦ, проблема далека от решения, в связи с не снижающейся частотой новых случаев заболевания и рецидивирования воспалительного процесса в шейке матки. Известные негативные последствия ХНЦ для репродуктивного здоровья женщин свидетельствует о необходимости дальнейшего детального изучения этиопатогенетических характеристик данной патологии. Несмотря на создание современных эффективных антибактериальных средств, и других групп лекарственных препаратов,

используемых в комплексной терапии ХНЦ, а также других широко применяемых нелекарственных методов, частота ХНЦ остается высокой.

Предлагаемые современные способы терапии не всегда оказываются эффективными, часто сложны в применении, дорогостоящи. Возможно, низкая эффективность связана с индивидуальными иммуногенетическими особенностями пациенток.

В связи с этим актуальной проблемой является поиск новых эффективных, патогенетически обоснованных и щадящих методов лечения ХНЦ, основанных на индивидуальных особенностях пациенток.

Глава 2. ОБЪЕМ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1.Общая характеристика исследования

Настоящее клиническое исследование выполнялось в период с 2009 по 2012 гг. на базе центра планирования семьи и репродукции ГБУЗ «ВОКБ №1», женской консультации ГУЗ «Клинического родильного дома № 2», женской консультации ГУЗ «Клинического родильного дома № 1» г. Волгограда.

Для решения поставленных задач было проведено комплексное клинико-лабораторное обследование у 240 нерожавших женщин. У всех пациенток было получено информированное согласие на использование данных обследования в научных целях и согласие этического комитета на проведение исследования. Клинические исследования выполнены в соответствии с этическими принципами ICH GCP, на основании положений Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации, «Основ законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан от 22 июля 1993 г. N 5487-1», стандартов отрасли ОСТ 42-511-99 «Правила проведения качественных клинических испытаний в Российской Федерации», утв. Минздравом РФ от 29 декабря 1998 г. При формировании больных в группы использовались критерии включения и исключения.

Критерии включения: нерожавшие женщины от 23 до 30 лет с ХНЦ, имеющие рецидивы данного заболевания в анамнезе.

Критерии исключения: беременность, наличие заболеваний передающихся половым путем, экстрагенитальная патология инфекционного генеза, наличие острого цервицита, наличие вирус-ассоциированного заболевания шейки матки, ЦИН, РШМ, доброкачественные и злокачественные новообразования, участие пациента в любом другом исследовании, нежелание самой женщины, пациентки социальной группы, в соответствии с требованиями ICN-GCP (студентки медицинских, фармакологических учебных заведений, младший персонал больниц и лабораторий, военнослужащие, заключенные, неизлечимые или психические больные и т.д.).

Пациентки с ХНЦ были распределены на две клинические группы: группу сравнения и основную. Контрольную группу составили женщины без патологии шейки матки (рис. 2.1.1). Группы были идентичны по возрастному, соматическому и психологическому исходному состоянию.

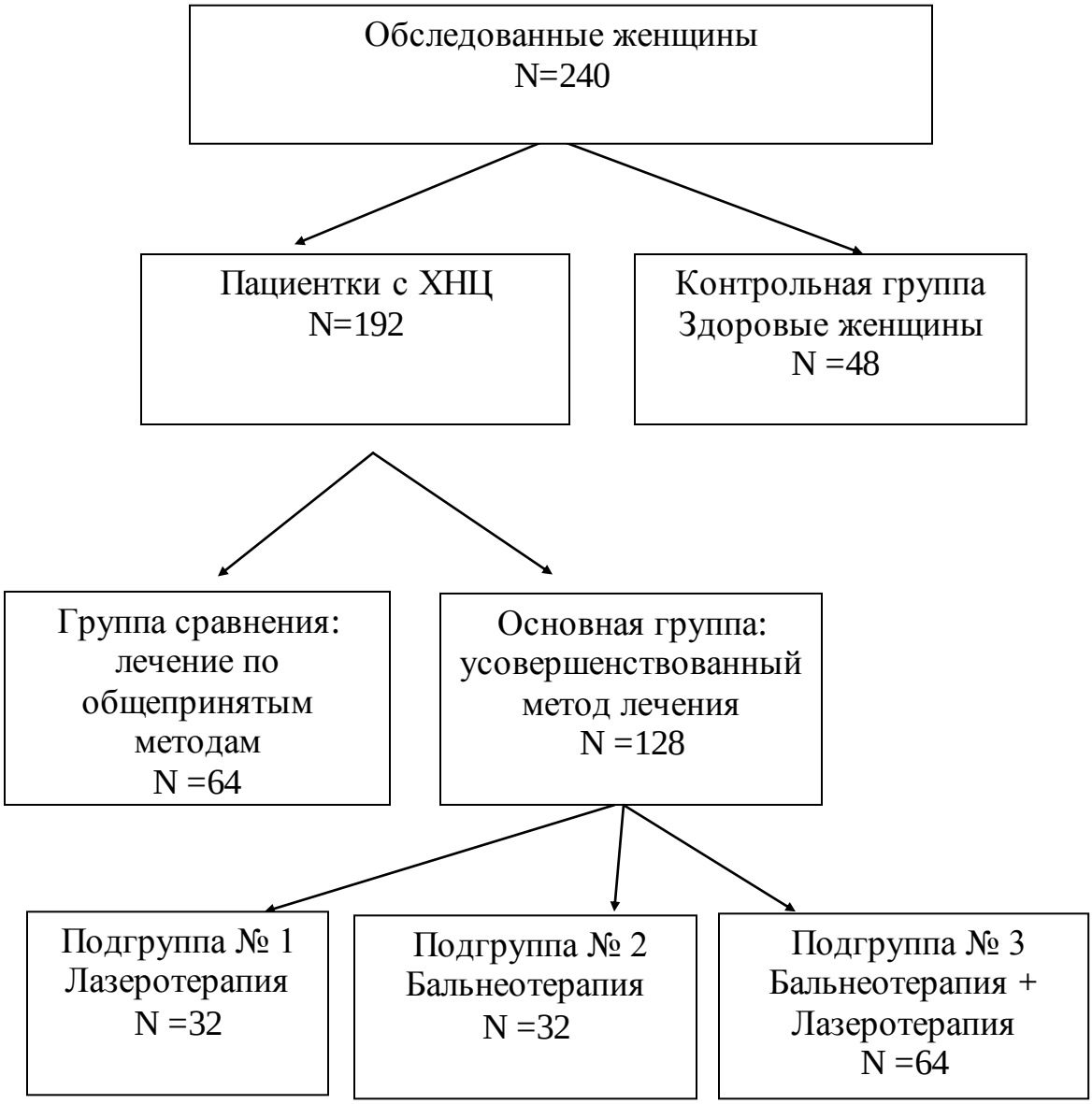


Рисунок 2.1.1. Дизайн исследования

Характер исследования - ретроспективное аналитическое и проспективное сравнительное.

Клиническое обследование включало изучение анамнеза (длительность заболевания и частота обострений, проведенные методы лечения),

перенесенные общие и гинекологические заболевания, менструальную функцию, наличие в анамнезе аллергических реакций. Всем пациенткам проводили лабораторные и инструментальные исследования в соответствии с существующими стандартами оказания гинекологической помощи в условиях женской консультации. Обследование пациенток проводилось по единому алгоритму комплексно и поэтапно с использованием принятой в лечебных учреждениях учетно-отчетной документации. Дополнительно на каждую пациентку заполнялся протокол исследования, который позволял учитывать данные анамнеза, объективного клинического обследования, дополнительных методов исследования, данные о проводившихся лечебных мероприятиях. Это облегчало проведение планового обследования и динамического наблюдения.

Все исследования в группах больных проводились дважды – до и после проведенного курса лечения через 2 месяца, в контрольной группе - однократно, ввиду отсутствия заболевания.

Для оценки системного иммунного статуса и наличия генетических мутаций врожденного и приобретенного иммунитета здоровых женщин в исследование включены результаты обследования 48 практически здоровых женщин (контрольная группа) того же возраста без патологии шейки матки в настоящее время. Женщины контрольной группы на момент обследования не имели острых заболеваний в течение последних 6 месяцев, а также хронической инфекционной патологии гениталий.

Общеклинические, лабораторные методы исследования выполнялись на базе кафедры клинической лабораторной диагностики ВолгГМУ (заведующий кафедрой, д.м.н. Б.Ю. Гумилевский).

Кольпоскопическое исследование выполнялось на базе центра планирования семьи и репродукции ГБУЗ «ВОКБ №1» г. Волгограда (заведующая, к.м.н. Копань С.В.).

Эффективность проведенной терапии оценивалась на основании отсутствия клинических симптомов и нарушения эпителиального покрова шейки матки в течение 6 месяцев после лечения.

2.2. Характеристика используемых методов исследования

2.2.1.Методы клинического обследования

Стандартное клиническое обследование больных включало оценку жалоб, соматического статуса, детальный сбор анамнеза.

Гинекологическое обследование включало осмотр шейки матки с помощью зеркал, бимануальное и ректовагинальное исследование, микроскопическое исследование вагинального секрета, простую и расширенную кольпоскопию, цитологический метод исследования мазков с шейки матки, а также ПЦР диагностику и бактериологическое исследование для верификации инфекционного агента.

Осмотр шейки матки с помощью влагалищных зеркал позволил определить форму шейки матки, форму наружного зева, его деформацию, различные патологические состояния слизистой оболочки шейки матки и нижней трети цервикального канала. При влагалищном исследовании также определяли форму шейки матки, консистенцию, положение во влагалище, подвижность, болезненность при движениях, зияние наружного зева. Бимануальное исследование позволило выявить сопутствующую гинекологическую патологию и патологию органов малого таза.

2.2.2. Методы лабораторного исследования

А. Метод микроскопического исследования мазков из урогенитального тракта

Для бактериоскопического исследования микрофлоры влагалища и отделяемого шейки матки готовили мазки для микроскопии (не менее двух, используя для этого стерильные гинекологические инструменты) из уретры, цервикального канала и заднего свода влагалища, при этом равномерно распределяли материал на предметном стекле. Затем мазок высушивали при комнатной температуре, помещали в чашку Петри. Мазки окрашивали метиленовым синим по Грамму, затем микроскопировали с увеличением х1000. Оценка биоценоза влагалища осуществлялась по классификации Е.Ф. Кира

(1996) на микроскопе «Axiostar plus» фирмы «Zeiss». Исследование проводилось на базе кафедры клинической лабораторной диагностики ВолгГМУ (заведующий кафедрой, д.м.н., Б.Ю. Гумилевский).

Б. Метод бактериологического исследования

Материал для бактериологического исследования получали по следующей методике: после обнажения шейки матки в зеркалах тонким ватным тампоном, осторожно введенным в цервикальный канал, не касаясь стенок влагалища, брали материал для исследования, помещали в транспортную среду и доставляли в бактериологическую лабораторию.

Выделение и идентификацию бактериальной флоры осуществляли согласно приказу МЗ СССР № 535 от 22.02.1985 г. «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследований, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений»; «Основным методам лабораторных исследований в клинической лаборатории (ВОЗ, Женева, 1994 г.)». Идентификацию выделенных микроорганизмов выполняли на основании морфологических и культуральных признаков в соответствии с данными «Bergey's manual of Systematic Bacteriology» (1980). Плотность популяции определяли путем подсчета микроорганизмов в 1 мл материала (КОЕ/мл). Клинически значимым считали, согласно существующим рекомендациям, наличие в 1 мл секрета 10^5 и более микробных тел. Чувствительность микробной флоры к набору антибактериальных препаратов определяли методом серийных разведений последних в жидкой питательной среде. Исследование проводилось на базе кафедры клинической лабораторной диагностики ВолгГМУ (заведующий кафедрой д.м.н. Б.Ю. Гумилевский).

В. Метод цитологического исследования соскоба шейки матки

I. PAP-smear test

В основе метода лежит цитологическое исследование мазка-отпечатка цервикальных клеток. Цитологический скрининг признан «золотым стандартом» и рекомендован ВОЗ для проведения в масштабах национальных программ [51,77,116,155,159,194].

Забор материала для исследования производился до бимануального исследования, кольпоскопии с помощью цитощетки «Юнона» (ЗАО «Медицинское предприятие СИМУРГ», г. Витебск, Россия). Препарат для цитологического исследования фиксировали и окрашивали по методике Лейшмана. Оценка результатов предоставлялась врачом клинической лабораторной диагностики в виде описания клеточного состава по методике Папаниколау (1954). Исследование проводилось на базе кафедры клинической лабораторной диагностики ВолгГМУ (заведующий кафедрой, д.м.н. Б.Ю. Гумилевский).

Г. Определение сывороточного уровня цитокинов (ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-17а, ИЛ-4, ИЛ-10, IFNγ, TNFα)

Цитокины в периферической крови определялись с помощью наборов реактивов для иммуноферментного анализа производства фирмы ООО «Цитокин» (Санкт-Петербург): «ИФА-IL-4», «ИФА-IL-6», «ИФА-IL-17A», «ИФА-IL-10», «ИФА-IL-1β», «ИФА-IFN-gamma», «ИФА-TNF-alpa». Материалом для исследования уровня цитокинов послужила сыворотка крови пациенток.

Состав наборов:

1. Комплект из 12 восьмилуночных стрипов с рамкой с иммобилизированными на внутренней поверхности лунок моноклональными антителами к определяемому интерлейкину.
2. Калибровочные пробы, содержащие известные количества интерлейкинов.
3. Аналитический буферный раствор «Буфер А», 1 фл.

4. Концентрированный раствор конъюгата с хромогеном (пероксидаза или биотин), маркирован «Конъюгат Е», 1 фл.
5. Концентрированный буферный раствор для промывок лунок «Буфер Р», 1 фл.
6. Субстратный буфер «Буфер С», 1 фл.
7. 10% кислота «Стоп-реагент», 1фл.
8. Раствор тетраметилбензидина «ТМБ», 1 фл.

В наборах использован «сэндвич» - вариант твердофазного иммуноферментного анализа. Для реализации этого варианта использованы 2 моноклональных антитела с различной эпитопной специфичностью к определяемым интерлейкинам. Одно из них иммобилизировано на твердой фазе (внутренняя поверхность лунок), второе конъюгировано с хомогеном (пероксидазой или биотином). На первой стадии анализа выявляемый интерлейкин, содержащийся в калибровочных и исследуемых пробах, связывается с антителами, иммобилизированными на внутренней поверхности лунок. На второй стадии анализа иммобилизированный интерлейкин взаимодействует с конъюгатом вторых антител. Количество связавшегося конъюгата прямо пропорционально количеству исследуемого интерлейкина в исследуемом образце.

Во время инкубации с субстратной смесью происходит окрашивание раствора в лунках. Степень окраски прямо пропорциональна количеству связавшихся меченых антител. После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании калибровочной кривой рассчитывается концентрация интерлейкина в определяемых образцах.

Измерение оптической плотности производилось на фотометре иммуноферментном планшетном «Эфос» 9305 (ОАО «Московский завод Сапфир», Москва) при длине волны 450 нм.

Исследование проводилось на базе кафедры клинической лабораторной диагностики ВолгГМУ (заведующий кафедрой, д.м.н., Б.Ю. Гумилевский).

Д. Исследование SNP-мутаций генов цитокинов (Ил-17a, Ил-17f, Ил-1β, Ил-2, Ил-6, Ил-12β, TNFα, Ил-4, Ил-10), системы свертывания крови (F5-фактор Лейдена, MTHFR), врожденного иммунитета (TLR2, TLR3, TLR4, TLR6, TLR9)

Анализу подвергалась геномная ДНК человека, выделенная из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс-кровь» производства НПФ «Литех».

Исследование производили с помощью диагностических наборов для выявления полиморфизмов в геноме человека методом ПЦР «SNP-экспресс» производства НПФ «Литех».

Для выявления полиморфизмов генов системы свертывания крови и фибринолиза использовались наборы «Мутация-1 метилентетрагидофолатредуктазы» (ген-MTHFR, полиморфизм - Ala222Val (C677T)), «Лейденская мутация (коагуляционный фактор V)» (ген – F5, полиморфизм - Arg506Gln (LEIDEN)).

Для исследования полиморфизмов генов провоспалительных цитокинов применялись наборы «Мутация интерлейкина 1β» (ген – Ил 1β, полиморфизм – T-31C), «Мутация интерлейкина 12β» (ген – Ил-12β, полиморфизм – A1188C), «Мутация фактора некроза опухоли альфа» (ген – TNF, полиморфизм – G-308A), «Мутация интерлейкина 17a» (ген – Ил-17a, полиморфизм – G-197A), «Мутация интерлейкина 17f» (ген – Ил-17f, полиморфизм – His161Arg), «Мутация интерлейкина 6» (ген – Ил-6, полиморфизм – C-174G), «Мутация интерлейкина 2» (ген – Ил-2, полиморфизм – T-330G).

Для обнаружения полиморфизма генов противовоспалительных цитокинов использовались наборы «Мутация-1 интерлейкина 10» (ген – Ил-10, полиморфизм – G-1082A), «Мутация-2 интерлейкина 10» (ген – Ил-10, полиморфизм – C-592A), «Мутация-3 интерлейкина 10» (ген – Ил-10, полиморфизм – C-819T), «Мутация интерлейкина 4» (ген – Ил-4, полиморфизм – C-589T).

Для анализа полиморфизма генов системы врожденного иммунитета использовались наборы «Мутация толл-подобного рецептора 2» (ген – TLR2, полиморфизм – Arg753Gln), «Мутация толл-подобного рецептора 3» (ген – TLR3, полиморфизм – Phe412Leu), «Мутация толл-подобного рецептора 4» (ген – TLR4, полиморфизм – Asp299Glu), «Мутация толл-подобного рецептора 6» (ген – TLR6, полиморфизм – Ser249Pro), «Мутация толл-подобного рецептора 9» (ген – TLR9, полиморфизм – T-1237C).

Все наборы рассчитаны на 120 определений, включая контроли.

С образцом выделенной ДНК параллельно проводились две реакции амплификации – с двумя парами аллель-специфичных праймеров. Результаты анализа позволяют дать три типа заключений: нормальная гомозигота; гетерозигота; мутантная гомозигота. Состав набора реагентов «SNP-экспресс»:

1. Реакционная смесь «норма» – 300 мкл.
2. реакционная смесь «мутация» – 300 мкл.
3. Разбавитель – 4 мл.
4. Taq-полимераза – 50 мкл.
5. Минеральное масло – 4 мл.

Детекция производилась с использованием 50 х ТАЕ буфера, бромистого этидия и агарозы производства НПФ «Литех».

Исследование полиморфизма генов производилось в 3 этапа:

1. Выделение ДНК из лейкоцитов цельной крови.
2. Проведение ПЦР (амплификация).
3. Детекция продуктов амплификации методом горизонтального электрофореза.

Выделение ДНК и приготовление амплификационной смеси производилось в УФ-боксе.

На первом этапе в одноразовую пластиковую пробирку с 200 мкл раствора антикоагулянта (0,05М раствор ЭДТА) собиралось 2000 мкл венозной крови. Затем в пробирку типа «Эппендорф» с замком вносилась цельная кровь в количестве 1000 мкл и центрифугировалась со скоростью 3000 об/мин. на

высокоскоростной центрифуге «MiniSpin» («Eppendorf», Германия) при комнатной температуре в течение 5 мин, плазма удалялась пипеткой и пробирка выдерживалась при –20ºС в течение 1 часа.

Содержимое полностью размораживалось при комнатной температуре, и в пробирку вносился реактив «ДНК-экспресс-кровь» в соотношении 500 мкл цельной крови к 500 мкл реактива. Полученная смесь тщательно перемешивалась на микроцетрифуге - вортексе «MicroSpin FV-2400» (Biosan, Латвия). Затем пробирка со смесью прогревалась при 99° С в течение 15 минут в твердотельном термостате «Гном» (НПФ «ДНК-технология», Россия). Полученный при последующем центрифугировании супернатант использовался в качестве исследуемого образца ДНК.

На втором этапе готовились рабочие смеси реагентов для амплификации с реакционной смесью «норма» и «патология» из расчета на 1 пробу: 17,5 мкл разбавителя, 2,5 мкл реакционной смеси, 0,2 мкл Taq-полимеразы. В соответствующие пробирки для амплификации вносилось по 20 мкл рабочей смеси, по 1 капле минерального масла и по 5 мкл исследуемого образца под слой масла. В качестве отрицательного контроля использовался разбавитель в объеме 5 мкл, добавленный в оба типа реакционной смеси. Пробирки центрифугировались в течение 3-5 секунд при 1500-3000 об/мин на микроцентрифуге - вортексе, затем переносились в прогретый до температуры +94º С программируемый термостат (амплификатор) «Терцик» (НПФ «ДНК-технология», Россия) с точным типом регулирования, и проводилась амплификация.

На конечном этапе проводилось разделение продуктов амплификации методом горизонтального электрофореза по следующей схеме:

1. В аппарат для электрофореза заливался ТАЕ буфер, приготовленный на дистиллированной воде разбавлением 50 х ТАЕ в 50 раз (pH=8,3).

2. Готовилась 3% агароза из расчета на 1 гель: к 1,5 г агарозы добавить 1 мл 50х ТАЕ буфера и 55 мл дистиллированной воды (включен запас на испарение).

3. Приготовленная смесь расплавлялась на электрической плите на небольшой мощности. К 50 мл расплавленной агарозы добавлялось 5 мкл 1% раствора бромистого этидия.

4. Расплавленная агароза сразу же заливалась в планшет для заливки геля. Для получения в агарозном геле карманов для нанесения образцов устанавливалась на планшет гребенка, используя зажим типа «бульдог», после застывания геля зажим убирался.

5. В карманы геля наносилось по 10 мкл амплификата в последовательности, соответствующей нумерации проб.

6. Подключалась электрофоретическая камера к источнику питания и задавалось напряжение, соответствующее напряженности электрического поля 10-15 В/См геля. Проводилось электрофоретическое разделение продуктов амплификации в направлении от катода (-) к аноду (+) в течение 15 мин. Контроль за электрофоретическим разделением осуществлялся визуально по движению полосы красителя.

7. Гель из формы переносился на стекло УФ - трансиллюминатора и результаты анализировались визуально с защитным экраном и при помощи программы. Фрагменты анализируемой ДНК проявлялись в виде светящихся оранжево-красных полос под УФ-излучением с длиной волны 310 нм. Результаты интерпретировались в следующих вариантах: нормальная гомозигота, гетерозигота, мутантная гомозигота (рис.2.2.2.1.).

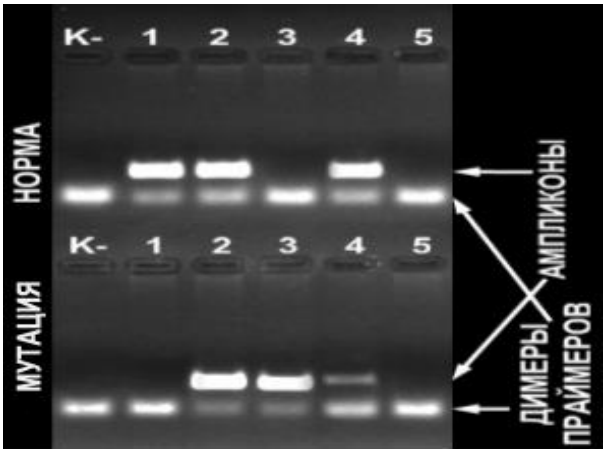


Рисунок 2.2.2.1. Пример интерпретации результатов

К - отрицательный контрольный образец

1 – нормальная гомозигота

2 – гетерозигота

3 – мутантная гомозигота

4 – контаминация или затекание из соседнего кармана геля в тесте на мутантную аллель

5 – реакция не прошла (ошибка при проведении анализа или некорректная работа амплификатора).

Исследование проводилось на базе кафедры клинической лабораторной диагностики ВолгГМУ (заведующий кафедрой, д.м.н., Б.Ю. Гумилевский).

2.2.3. Инструментальный метод

Данный метод включал простую и расширенную кольпоскопию. Кольпоскопическое исследование проводили на базе центра планирования семьи и репродукции ГБУЗ «ВОКБ №1», при помощи кольпоскопа (КНб - 01 «Зенит», Россия) неконтактным способом, с увеличением объектива в 30 раз.

В задачи кольпоскопического исследования входили: оценка состояния эпителия шейки матки, выявление патологического очага, дифференцировка доброкачественных изменений от подозрительных в отношении малигнизации. Кольпоскопическая оценка шейки матки проводилась согласно международной классификации кольпоскопических терминов в отношении шейки матки, принятой в Рио де Жанейро, 2011 г.

В начале исследования сухим тампоном удалялось отделяемое с поверхности шейки матки, и проводилась простая кольпоскопия, позволяющая определить форму, величину шейки и наружного зева, наличие рубцовой деформации шейки матки, цвет и рельеф слизистой оболочки, границу плоского и цилиндрического эпителия, особенности сосудистого рисунка. Этот метод давал возможности выявить наличие или отсутствие воспаления, определить зону трансформации. Далее, в целях более точной характеристики эпителия влагалищной части шейки матки и исключения предраковых и

раковых процессов, проводили расширенную кольпоскопию. При этом использовали пробы с 3% раствором уксусной кислоты и 3% раствором Люголя (проба Шиллера).

Результаты кольпоскопического исследования документировались при помощи описания и графического изображения.

2.2.4. Методы математического анализа полученных данных

Вариационно-статистическую обработку полученных результатов проводили общепринятыми методами с помощью программного пакета EXCEL 2010 (Microsoft, USA), StatPlus 2009, ППП Statistica 6.0 (StatSoft Inc., USA).

Значимость различий при сравнении групп оценивалась непараметрическим U-критерием Манна-Уитни, достоверность различий частот распределения изучаемых признаков в группах определяли по двустороннему варианту точного критерия Фишера. Для статистического анализа уровней цитокинов вычисляли медиану и 25% - 75% квартили {Me (25%-75%)}.

Статистический анализ результатов молекулярно-генетических исследований включал оценку частоты встречаемости аллелей генов, генотипов и их комбинаций, анализ таблиц сопряженности. Частоту аллелей генов и генотипов вычисляли методом прямого подсчета. Статистическую оценку ассоциации генов и генотипов проводили по показателю OR (odds ratio - отношение шансов) с вычислением 95% доверительного интервала для OR (95%CI). Достоверным считали различие между сравниваемыми рядами с уровнем достоверной вероятности 95 % ($p < 0,05$) [125].

Автором лично проводилось: отбор, наблюдение и лечение пациенток, динамическое клиническое обследование, сеансы лазеротерапии, бальнеотерапии, лазерного фотофореза бальнеологического средства «Эльтон», статистическая обработка и оформление результатов исследования.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Генетическая характеристика пациенток

До разделения на группы у больных ХНЦ (n=192) и женщин, не имеющих патологию шейки матки (n=48), были определены и изучены взаимосвязи точечных нуклеотидных мутаций промоторных участков генов цитокинов и TLR.

3.1.1. Полиморфизм генов противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10, ИЛ-4)

При изучении частот аллелей и генотипов полиморфного вариантов гена противовоспалительного цитокина Ил-10 (мутация 1, G-1082A; мутация 2, C-592A; мутация 3, C-819T) статистически значимых отличий между больными ХНЦ и обследуемыми контрольной группы выявлено не было. Так, частота встречаемости аллели G полиморфного маркера гена Ил-10 (мутация 1, G-1082A) составила 57,8% у больных ХНЦ и 62,5% в контрольной группе, аллели A – 42,2% и 37,5%, соответственно. Генотипы у больных ХНЦ распределились следующим образом: генотип GG – 36,5%, генотип GA – 42,7%, генотип AA - 20,9%, в контрольной группе - 41,7%, 41,7%, 16,6%, соответственно (табл.3.1.1).

Таблица 3.1.1.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена Ил-10 (мутация 1, G-1082A)

Показатель	Больные ХНЦ	Контрольная группа	Критерий Фишера	OR	95%CI
G	222(57,8%)	60 (62,5%)	$p \geq 0,05$	0,82	0,51-1,30
A	162(42,2%)	36 (37,5%)	$p \geq 0,05$	1,21	0,76-1,92
Всего	384	96	-	-	-
GG	70 (36,5%)	20 (41,7%)	$p \geq 0,05$	0,80	0,42-1,53
GA	82 (42,7%)	20 (41,7%)	$p \geq 0,05$	1,04	0,55-1,98
AA	40 (20,9%)	8 (16,6%)	$p \geq 0,05$	1,31	0,57-3,03
Всего	192	48	-	-	-

Частота встречаемости аллели С полиморфного маркера гена Ил-10 (мутация 2, C-592A) составила 77,6% у больных ХНЦ и 75% в контрольной группе. Аллель А выявлена в 22,5% случаев у больных ХНЦ, в контрольной группе в 25% случаев. Генотип СС встречался поровну у 58,4% испытуемых. Количество гетерозигот СА у больных ХНЦ составило 38,5%, что не отличалось от количества гетерозигот в контрольной группе – 37,5%. Частота встречаемости мутантных гомозигот (генотип АА) также не отличалась - 3,1% у больных ХНЦ и 4,1% в контрольной группе (табл.3.1.2).

Таблица 3.1.2.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена Ил-10 (мутация 2, С-592А)

Показатель	Больные ХНЦ	Контрольная группа	Критерий Фишера	OR	95%CI
С	298 (77,6%)	72 (75%)	$p \geq 0,05$	1,15	0,68-1,94
А	86 (22,5%)	24 (25%)	$p \geq 0,05$	0,86	0,51-1,45
Всего	384	96	-	-	-
СС	112 (58,4%)	28 (58,4%)	$p \geq 0,05$	1	0,52-1,89
СА	74 (38,5%)	18 (37,5%)	$p \geq 0,05$	1,04	0,54-2,00
АА	6 (3,1%)	2 (4,1%)	$p \geq 0,05$	0,74	0,14-3,79
Всего	192	48	-	-	-

В ходе молекулярно-генетического исследования частота аллели С полиморфного маркера гена Ил-10 (мутация 3, С-819Т) выявлена у 80,2% пациенток с ХНЦ и у 75% женщин контрольной группы, а аллели Т – у 19,8% и 25% обследованных соответственно. Нормальная гомозигота встречалась в 63,3% случаев у больных ХНЦ и в 57,3% случаев в контрольной группе. Гетерозигота определялась в 33,4% и 32,4% случаев, соответственно. Количество мутантных гомозигот также не различалось и составило 3,1% и 8,3% (табл.3.1.3).

Таблица 3.1.3.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена Ил-10 (мутация 3, С-819Т)

Показатель	Больные ХНЦ	Контрольная группа	Критерий Фишера	OR	95%CI
С	308 (80,2%)	72 (75%)	$p \geq 0,05$	1,35	0,79-2,28
Т	76 (19,8%)	24 (25%)	$p \geq 0,05$	0,74	0,43-1,25
Всего	384	96	-	-	-
СС	122(63,5%)	28 (57,3%)	$p \geq 0,05$	1,24	0,65-2,37
СТ	64 (33,4%)	16 (32,4%)	$p \geq 0,05$	1,00	0,51-1,95
ТТ	6 (3,1%)	4 (8,3%)	$p \geq 0,05$	0,35	0,09-1,31
Всего	192	48	-	-	-

Частота встречаемости аллелей С и Т полиморфного маркера гена Ил-4 (С-589-Т) у больных ХНЦ не отличалась от таковой в контрольной группе – 70,4% и 29,6% против 77,1% и 22,9%. Соответственно, частота встречаемости нормальных гомозигот определялись в 48,9% случаев против 57,4% случаев. Количество гетерозигот и мутантных гомозигот также не имели статистически значимых отличий (42,7% против 36,5% и 8,3% против 4,1%) (табл.3.1.4).

Таблица 3.1.4.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена Ил-4 (С-589-Т)

Показатель	Больные ХНЦ	Контрольная группа	Критерий Фишера	OR	95%CI
С	270 (70,4%)	74 (77,1%)	$p \geq 0,05$	0,70	0,41-1,18
Т	114 (29,6%)	22 (22,9%)	$p \geq 0,05$	1,42	0,84-2,39
Всего	384	96	-	-	-
СС	94 (49,0%)	28 (57,4%)	$p \geq 0,05$	0,68	0,36-1,29
СТ	82 (42,7%)	18 (36,5%)	$p \geq 0,05$	1,24	0,64-2,28
ТТ	16 (8,3%)	2 (4,1%)	$p \geq 0,05$	2,09	0,46-9,42
Всего	192	48	-	-	-

Таким образом, при сравнении частот встречаемости аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов противовоспалительного Ил-10 (мутация 1, G-1082A; мутация 2, C-592A; мутация 3, C-819T) и гена противовоспалительного Ил-4 (С-589-Т) у обследованных женщин не было выявлено статистически значимых отличий.

3.1.2. Полиморфизм генов провоспалительных цитокинов (TNFα, Ил-1β, Ил-2,Ил-6, Ил-12β, Ил-17a, Ил-17f)

При молекулярно-генетическом анализе частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфного маркера гена провоспалительного цитокина TNFα выявило значительную вариабельность в генотипах в группах сравнения. Аллель G у пациенток с ХНЦ встречалась в 74% случаев, аллель А – в 26%, тогда как в контрольной группе частоты встречаемости этих аллелей составили 87,5% и 12,5% соответственно ($p<0,05$). Такой эффект связан с увеличением в 5 раз частоты встречаемости гетерозиготного генотипа GA у больных ХНЦ –

41,7% против 8,3% в контрольной группе (p<0,01). Нормальные гомозиготы GG у больных ХНЦ встречались в 53,2% случаев, что в 1,5 раза меньше, чем в контрольной группе – 83,4% случаев. Значимых отличий при определении мутантных гомозигот не обнаружено, 5,1% и 8,3% соответственно (табл.3.1.5).

Таблица 3.1.5.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера TNFa (G-308A)

Показатель	Больные ХНЦ	Контрольная группа	Критерий Фишера	OR	95%CI
G	284 (74%)	84 (87,5%)	p<0,05	0,40	0,21-0,77
A	100 (26%)	12 (12,5%)	p<0,05	2,46	1,29-4,70
Всего	384	96	-	-	-
GG	102 (53,2%)	40 (83,4%)	P ≥ 0,05	0,22	0,10-0,51
GA	80 (41,7%)	4 (8,3%)	p<0,01	7,85	2,71-22,74
AA	10 (5,1%)	4 (8,3%)	p ≥ 0,05	0,60	0,18-2,01
Всего	192	48	-	-	-

Несмотря на выявленные различия частоты встречаемости гетерозиготного генотипа GA между пациентками с ХНЦ и здоровыми женщинами более чем в 5 раз, значимых различий в продолжительности и течении ХНЦ у больных с гетерозиготным генотипом GA в гене TNFα констатировано не было (табл.3.1.6).

Таблица 3.1.6.

Длительность заболевания у пациенток с ХНЦ к моменту обследования

Длительность заболевания	Пациентки с гетерозиготой GA в гене TNFa, n=80	Пациентки с гомозиготой GG, AA в гене TNFa, n=112	Критерий Фишера
1-2 года	24 (30%)	40 (35,6%)	$p \geq 0,05$
3-4 года	30 (37,5%)	36 (32,2%)	$p \geq 0,05$
5 лет и более	26 (32,5%)	36 (32,2%)	$p \geq 0,05$

Таким образом, наличие генотипа GA в гене TNFα у пациенток не влияет на длительность заболевания и рецидивирование воспалительного процесса в шейке матки, а повышенная активность TNFa до проводимого лечения является вторичной и не зависит от аллельных вариантов данного гена, поскольку после проведенной терапии ранее повышенный уровень TNFa нормализовался у всех пациенток, в том числе и имеющих генотип GA в гене TNFα.

Сравнение частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфного маркера гена Ил-1β (T-31C) в группах наблюдения значимых отличий не выявило. Частота встречаемости аллелей Т и С полиморфного маркера гена Ил-1β составила 61,5% и 38,5% у больных ХНЦ против 66,7% и 32,3% в контрольной группе. Нормальные гомозиготы ТТ у больных ХНЦ встречались в 36,4% случаев, а в контрольной группе – в 50,0%. Количество гетерозигот ТС у больных ХНЦ составило 50,0%, что не отличалось от количества гетерозигот в контрольной группе – 37,5%. Встречаемость мутантных гомозигот (генотип СС) у обследуемых также не отличалась - 13,6% и 12,5% соответственно (табл.3.1.7).

Таблица 3.1.7.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена Ил-1β (T-31C)

Показатель	Больные ХНЦ	Контрольная группа	Критерий Фишера	OR	95%CI
T	236 (61,5%)	64 (66,7%)	$p \geq 0,05$	0,79	0,49-1,27
C	148 (38,5%)	32 (32,3%)	$p \geq 0,05$	1,25	0,78-2,01
Всего	384	96	-	-	-
TT	70 (36,4%)	24 (50,0%)	$p \geq 0,05$	0,57	0,30-1,08
TC	96 (50,0%)	18 (37,5%)	$p \geq 0,05$	1,66	0,87-3,19
CC	26 (13,6%)	6 (12,5%)	$p \geq 0,05$	1,09	0,42-2,83
Всего	192	48	-	-	-

Не отличалась частота встречаемости аллелей и генотипов в исследуемых группах и для полиморфного маркера гена Ил-2 (T-330-G). Аллель T встречалась в 75,5% случаев у больных ХНЦ и в 63,6% в контрольной группе, аллель G – в 24,5%, 36,4% случаев соответственно. Генотипы пациенток с ХНЦ распределились следующим образом: количество нормальных гомозигот TT – 53,1%, гетерозигот TG – 44,8%, мутантных гомозигот GG – 2,1%. В контрольной группе распределение генотипов было следующее: нормальных гомозигот TT – 50,0%, гетерозигот TG – 40,6%, мутантных гомозигот GG – 8,3% (табл.3.1.8).

Таблица 3.1.8.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена Ил-2 (T-330-G)

Показатель	Больные ХНЦ	Контрольная группа	Критерий Фишера	OR	95%CI
T	290 (75,5%)	62 (63,6%)	$p \geq 0,05$	1,69	1,04-2,73
G	94 (24,5%)	34 (36,4%)	$p \geq 0,05$	0,59	0,36-1,95
Всего	384	96	-	-	-
TT	102 (53,1%)	24 (50,0%)	$p \geq 0,05$	1,13	0,60-2,13
TG	86 (44,8%)	20 (40,6%)	$p \geq 0,05$	1,13	0,59-2,15
GG	6 (2,1%)	4 (8,3%)	$p \geq 0,05$	0,35	0,09-1,31
Всего	192	48	-	-	-

При анализе распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена Ил-6 (C-174G) у обследуемых женщин было обнаружено, что аллель С встречалась в 59,2% случаев у больных ХНЦ и в 63,6% в контрольной группе, что статистически не отличалось. Частота встречаемости аллели G составила 43,8% и 36,4% соответственно. Генотип СС у пациенток с ХНЦ выявлен в 33,4%случаев, в контрольной группе – в 50,0% случаев. Количество гетерозигот CG составило – 45,8% и 33,4%,а частота встречаемости мутантных гомозигот GG - 20,8% и 16,6%, соответственно. Таким образом, статистически значимых отличий в распределении частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена Ил-6 (C-174G) между пациентками с ХНЦ и женщинами, не имеющих патологию шейки матки, выявлено не было (табл.3.1.9).

Таблица 3.1.9.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена Ил-6 (C-174G)

Показатель	Больные ХНЦ	Контрольная группа	Критерий Фишера	OR	95%CI
C	216 (59,2%)	62 (63,6%)	$p \geq 0,05$	0,70	0,44-1,12
G	168 (43,8%)	34 (36,4%)	$p \geq 0,05$	1,41	0,89 -2,25
Всего	384	96	-	-	-
CC	62 (33,4%)	24 (50,0%)	$p \geq 0,05$	0,47	0,25-0,90
CG	88 (45,8%)	16 (33,4%)	$p \geq 0,05$	1,69	0,87-3,28
GG	40 (20,8%)	8 (16,6%)	$p \geq 0,05$	1,31	0,57-3,03
Всего	192	48	-	-	-

Не было статистически значимых отличий и при сравнении частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена Ил-12β (A1188C) в группах наблюдения. Так, аллель А встречалась в 72,4% случаев у больных ХНЦ и в 80,3% случаев в контрольной группе. Частота встречаемости аллели С составила 27,6% и 18,7% соответственно. Генотип АА у пациенток с ХНЦ выявлен у 54,1%, в контрольной группе – у 67,7% женщин. Генотип АС в группах был распределен следующим образом: у больных ХНЦ его частота составила 36,5%, в контрольной группе – 25,0%. Частота встречаемости мутантных гомозигот СС у обследованных составила 9,4% и 8,3% соответственно (табл.3.1.10).

Таблица 3.1.10.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена Ил-12β (A1188C)

Показатель	Больные ХНЦ	Контрольная группа	Критерий Фишера	OR	95%CI
A	278 (72,4%)	78 (80,3%)	$p \geq 0,05$	0,60	0,34-1,05
C	106 (27,6%)	18 (18,7%)	$p \geq 0,05$	1,65	0,94- 2,89
Всего	384	96	-	-	-
AA	104 (54,1%)	32 (67,7%)	$p \geq 0,05$	0,59	0,30- 1,14
AC	70 (36,5%)	12 (25,0%)	$p \geq 0,05$	1,72	0,84-3,52
CC	18 (9,4%)	4 (8,3%)	$p \geq 0,05$	1,13	0,36-3,53
Всего	192	48	-	-	-

Изучая распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена Ил-17а (G-197A) значимых отличий выявлено не было. Частота встречаемости аллели G составила 76,6% у больных ХНЦ и 80,3% в контрольной группе, аллели А – 23,4% и 18,7% соответственно. Генотипы у пациенток с ХНЦ распределились следующим образом: GG – 64,6%, GA – 24,0%, AA -11,4%, в контрольной группе - GG – 69,8%, GA – 20,8%, AA -8,4% (табл.3.1.11).

Таблица 3.1.11.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена Ил-17 а (G-197A)

Показатель	Больные ХНЦ	Контрольная группа	Критерий Фишера	OR	95%CI
G	294 (76,6%)	78 (80,3%)	$p \geq 0,05$	0,75	0,42-1,32
A	90 (23,4%)	18 (18,7%)	$p \geq 0,05$	1,32	0,75-2,33
Всего	384	96	-	-	-
GG	124 (64,6%)	34 (69,8%)	$p \geq 0,05$	0,75	0,33-1,49
GA	46 (24,0%)	10 (20,8%)	$p \geq 0,05$	1,19	0,55-2,58
AA	22 (11,4%)	4 (8,4%)	$p \geq 0,05$	1,42	0,46-4,34
Всего	192	48	-	-	-

Сравнение частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфного маркера гена Ил-17f His161Arg (7488A/G) значимых отличий не выявило. Частота встречаемости аллели His полиморфного маркера гена Ил-17f составила 79,2% у больных ХНЦ и 87,5% в контрольной группе. Аллель Arg выявлена у 20,8% пациенток и в контрольной группе у 12,5% обследуемых. Нормальные гомозиготы His/His у больных ХНЦ встречались в 64,6% случаев, в контрольной группе – в 79,2% случаев. Количество гетерозигот His/Arg составило - 29,2% и 16,7% соответственно. Частота встречаемости мутантных гомозигот (генотип Arg/Arg) также не отличалась: 6,2% у больных ХНЦ и 4,1% в контрольной группе (табл. 3.1.12).

Таблица 3.1.12.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена Ил-17f His161Arg (7488A/G)

Показатель	Больные ХНЦ	Контрольная группа	Критерий Фишера	OR	95%CI
His	304 (79,2%)	84 (87,5%)	$p \geq 0,05$	0,54	0,28-1,04
Arg	80 (20,8%)	12 (12,5%)	$p \geq 0,05$	1,84	0,95-3,54
Всего	384	96	-	-	-
HisHis	124 (64,6%)	38 (79,2%)	$p \geq 0,05$	0,48	0,22-1,02
HisArg	56 (29,2%)	8 (16,7%)	$p \geq 0,05$	2,05	0,90-4,67
ArgArg	12 (6,2%)	2 (4,1%)	$p \geq 0,05$	1,53	0,33-7,09
Всего	96	24	-	-	-

Таким образом, изучив точечные нуклеотидные мутации промоторных участков генов провоспалительных цитокинов (TNFα, Ил-1β, Ил-2,Ил-6, Ил-12β, Ил-17a, Ил-17f) у пациенток, страдающих ХНЦ и женщин, не имеющих данного заболевания, обнаружены значимые отличия лишь в распределении частот аллелей и генотипов полиморфного маркера TNFa (G-308A). Констатировано увеличение в 5 раз частоты встречаемости гетерозиготного генотипа GA у больных ХНЦ. Однако, выявленные генетические особенности, не отражались на экспрессию провоспалительного цитокина TNFα, а также не коррелировали с длительностью и течением ХНЦ. Следовательно, повышенная активность TNFα при ХНЦ является вторичной и не зависит от аллельных вариантов гена TNFα.

3.1.3. Полиморфизм генов системы свертывания крови и фибринолиза (Лейденовский фактор F5, MTHFR)

Частота встречаемости аллели Arg полиморфного маркера гена F5 (Arg506Gln, G-1691A) у больных ХНЦ составила 78,6% против 78,1% в контрольной группе. Также не значима была частота встречаемости аллели Gln -21,4% и 20,9%, соответственно. У больных ХНЦ нормальные гомозиготы Arg/Arg встречались в 59,4% случаев, в контрольной группе – в 63,5% случаев. Количество гетерозигот Arg/Gln у обследованных составило - 38,5% и 33,4% соответственно. Частота встречаемости генотипа Gln/Gln составила - 6,2% у больных ХНЦ и 4,1% в контрольной группе (табл. 3.1.13).

Таблица 3.1.13.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена F5 (Arg506Gln, G-1691A)

Показатель	Больные ХНЦ	Контрольная группа	Критерий Фишера	OR	95%CI
Arg	302 (78,6%)	76 (78,1%)	$p \geq 0,05$	0,96	0,55-1,67
Gln	82 (21,4%)	20 (20,9%)	$p \geq 0,05$	1,03	0,59-1,78
Всего	384	48	-	-	-
ArgArg	114 (59,4%)	30 (63,5%)	$p \geq 0,05$	0,87	0,45-1,68
ArgGln	74 (38,5%)	16 (33,4%)	$p \geq 0,05$	1,25	0,64-2,44
GlnGln	4 (2,1%)	2 (4,1%)	$p \geq 0,05$	0,48	0,08-2,75
Всего	96	24	-	-	-

При сравнении распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена метилентетрагидрофолатредуктазы (C-677T) в группах наблюдения статистически значимых отличий не выявлено. Частота встречаемости аллели С – 63,5% у больных ХНЦ и 69,8% в контрольной группе, аллели Т – 36,5% и 30,2% соответственно. У пациенток с ХНЦ генотипы были распределены следующим образом: количество нормальных гомозигот СС – 33,3%, гетерозигот СТ – 60,5%, мутантных гомозигот ТТ –

6,2%. В контрольной группе распределение генотипов было следующее: нормальных гомозигот СС – 46,9%, гетерозигот ТС - 50%, мутантных гомозигот ТТ – 4,1% (табл.3.1.14).

Таблица 3.1.14.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена MTHFR (C-677T)

Показатель	Больные ХНЦ	Контрольная группа	Критерий Фишера	OR	95%CI
С	244 (63,5%)	68 (69,8%)	$p \geq 0,05$	0,71	0,44-1,16
Т	140 (36,5%)	28 (30,2%)	$p \geq 0,05$	1,39	0,85-2,26
Всего	384	96	-	-	-
СС	64 (33,3%)	22 (46,9%)	$p \geq 0,05$	0,59	0,31-1,12
СТ	116 (60,5)	24 (50,0%)	$p \geq 0,05$	1,52	0,80-2,88
ТТ	12 (6,2%)	2 (4,1%)	$p \geq 0,05$	1,53	0,33-7,09
Всего	192	48	-	-	-

Таким образом, при сравнении частот встречаемости аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов системы свертывания крови и фибринолиза (Лейденовский фактор F5, MTHFR) статистически значимых отличий между пациентками с ХНЦ и женщинами, не имеющих патологию шейки матки, выявлено не было.

3.1.4. Полиморфизм генов системы врожденного иммунитета (TLR2, TLR3, TLR4, TLR6, TLR9)

В ходе молекулярно-генетического исследования частота аллели Arg полиморфного маркера гена TLR2 выявлена у 88,6% пациенток с ХНЦ и 82% женщин контрольной группы, а аллели Gln – 11,4% и 18% соответственно, что статистически не значимо. Генотипы у больных ХНЦ распределились

следующим образом: количество нормальных гомозигот – 78,1%, гетерозигот – 20,9%, а в контрольной группе: нормальных гомозигот – 69,8 %, гетерозигот – 19,8%. Значимое отличие наблюдалось лишь в количестве мутантных гомозигот : 1,1% - в группе больных ХНЦ и 8,4% - в контрольной группе ($p< 0,05$) (табл. 3.1.15).

Таблица 3.1.15.

Распределение аллельных вариантов полиморфного маркера гена (Arg753Gln) TLR2

Показатель	Больные ХНЦ	Контрольная группа	Критерий Фишера	OR	95% CI
Arg	342 (88,6%)	78 (82%)	$p \geq 0,05$	1,87	1,02-3,43
Gln	42 (11,4%)	18 (18%)	$p \geq 0,05$	0,53	0,29-0,97
Всего	384	96	-	-	-
ArgArg	150 (78,1%)	34 (69,8%)	$p \geq 0,05$	1,47	0,72-2,99
ArgGln	40 (20,9%)	10 (19,8%)	$p \geq 0,05$	1	0,45-2,17
GlnGln	2 (1,1%)	4 (8,4%)	$p< 0,05$	0,11	0,02-0,65
Всего	192	48			

При молекулярно-генетическом исследовании распределение полиморфного варианта Phe412Leu промоторной области TLR3 статистически не отличалось. Анализ распределения аллели Phe дал следующий результат: 69,3% у больных ХНЦ и 65,7% в контрольной группе, аллели Leu – 30,7% и 33,3% соответственно. Генотипы обследованных были распределены следующим образом: количество нормальных гомозигот Phe/Phe у больных ХНЦ – 47,9% против 53,2% в контрольной группе, мутантных гомозигот Leu/Leu – 9,4% против 19,8% соответственно. Гетерозиготный генотип Phe/Leu у больных ХНЦ встречался в 1,7 раза чаще, чем в контрольной группе (42,7% против 25%), что статистически значимо ($p< 0,05$) (табл. 3.1.16).

Таблица 3.1.16.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера Phe412Leu гена TLR3

Показатель	Больные ХНЦ	Контрольная группа	Критерий Фишера	OR	95%CI
Phe	266 (69,3%)	64 (65,7%)	$p \geq 0,05$	1,12	0,70-1,81
Leu	118 (30,7%)	32 (33,3%)	$p \geq 0,05$	0,88	0,55-1,42
Всего	384	96	-	-	-
PhePhe	92 (47,9%)	26 (53,2%)	$p \geq 0,05$	0,77	0,41-1,46
PheLeu	82 (42,7%)	12 (25,0%)	$p< 0,05$	2,23	1,09-4,56
LeuLeu	18 (9,4%)	10 (19,8%)	$p \geq 0,05$	0,39	0,16-0,91
Всего	96	48			

Анализ распределения частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфного маркера Asp299Gly промоторной области TLR4 статистически значимых отличий между испытуемыми не выявил. Анализ распределения аллели Asp дал следующий результат: 90,1% у больных ХНЦ и 89,6% в контрольной группе, аллели Gly – 9,9% и 10,4% соответственно. Генотипы у пациенток с ХНЦ были распределены следующим образом: Asp/Asp – 83,4%, Asp/Gly - 13,5%, Gly/Gly – 3,1%. Среди женщин контрольной группы частота встречаемости генотипа Asp/ Asp составила – 80,2%, генотипа Asp/Gly – 16,7%, генотипа Gly/Gly – 4,1% (табл.3.1.17).

Таблица 3.1.17.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера Asp299Gly гена TLR4

Показатель	Больные ХНЦ	Контрольная группа	Критерий Фишера	OR	95%CI
Asp	346 (90,1%)	86 (89,6%)	$p \geq 0,05$	1,05	0,50-2,20
Gly	38 (9,9%)	10 (10,4%)	$p \geq 0,05$	0,94	0,45-1,97
Всего	384	96	-	-	-
AspAsp	160 (83,4%)	38 (80,2%)	$p \geq 0,05$	1,31	0,59-2,90
AspGly	26 (13,5%)	8 (16,7%)	$p \geq 0,05$	0,78	0,33-1,85
GlyGly	6 (3,1%)	2 (4,1%)	$p \geq 0,05$	0,74	0,14-3,79
Всего	192	48	-	-	-

Частоты встречаемости аллелей и генотипов полиморфного маркера гена TLR6 распределились следующим образом: аллель Pro встречалась чаще у больных ХНЦ, чем в контрольной группе - 49% против 31%, а аллель Ser встречалась реже - в 51% и 69% случаях соответственно. При этом отмечено значительное увеличение частоты обнаружения мутантных гомозигот Pro/Pro у больных ХНЦ, что в 9,2 раза чаще, чем в контрольной группе - 37% против 4% ($p<0,01$). У каждой третьей обследованной пациентки с ХНЦ была определена гомозигота Pro/Pro. Количество гетерозигот Ser/Pro так же значимо различалось, за счет повышения генотипа Pro/Pro у пациенток с ХНЦ. Генотип Ser/Pro встречался у больных ХНЦ реже в 1,9 раза, чем у женщин контрольной группы (22,9% против 44,8%). Частота встречаемости нормальной гомозиготы Ser/Ser не отличались – 39,6% против 50,0%. (табл.3.1.18).

Таблица 3.1.18.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена TLR6 (Ser249Pro)

Показатель	Больные ХНЦ	Контрольная группа	Критерий Фишера	OR	95%CI
Ser	196 (51,1%)	68 (69,8%)	p<0,01	0,42	0,26-0,69
Pro	188 (48,9%)	28 (30,2%)	p<0,01	2,32	1,43-3,77
Всего	384	96	-	-	-
SerSer	76 (39,6%)	24 (50,0%)	p ≥ 0,05	0,65	0,34-1,23
SerPro	44 (22,9%)	22 (44,8%)	p<0,05	0,35	0,18-0,68
ProPro	72 (37,5%)	2 (4,1%)	p<0,01	13,8	3,25-58,57
Всего	192	48	-	-	-

При дальнейшем анализе, выявлена зависимость между наличием мутантной гомозиготы Pro/Pro TLR6 у больных ХНЦ и длительностью заболевания. Так, средняя продолжительность заболевания на момент обследования у женщин без мутации в гене TLR6 в группе больных ХНЦ составила- 2,5±1,2 года, а у пациенток, носительниц мутантной гомозиготы Pro/Pro гена TLR 6 - 3,9±1,01 год (p<0,01) (табл. 3.1.19).

Таблица 3.1.19.

Длительность заболевания у больных ХНЦ к моменту обследования

Длительность заболевания	Носители мутации в TLR6, n=72	Пациентки без мутации n=120	Критерий Фишера
1-2 года	10 (13,9%)	60 (50%)	p<0,01
3-4 года	36 (50%)	46 (38,3%)	p ≥ 0,05
5 лет и более	26 (36,1%)	14(11,7%)	p<0,01

Анализ частоты встречаемости аллельных вариантов полиморфного локуса Т-1237С в промоторной части гена TLR9 позволил установить значимое увеличение частоты встречаемости гетерозиготного генотипа ТС у больных ХНЦ в 2,1 раза по сравнению с женщинами из контрольной группой - 53,2% против 25%. Тем не менее, частоты встречаемости аллелей и гомозигот ТТ, СС значимо не различались. Так, аллель Т была выявлена у 69,3% больных ХНЦ и у 78,2% женщин контрольной группы, а аллель С - у 30,7% и 21,8% соответственно. Гомозигота ТТ обнаружена у 42,7% и 67,7% испытуемых в группах наблюдения. Соответственно гомозигота СС определялась у 4,1% и 8,3% женщин исследуемых групп (табл.3.1.20).

Таблица 3.1.20.

Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена TLR9 (Т-1237С)

Показатель	Больные ХНЦ	Контрольная группа	Критерий Фишера	OR	95%CI
Т	266 (69,3%)	76 (78,2%)	$p \geq 0,05$	0,59	0,34-1,01
С	118 (30,7%)	20 (21,8%)	$p \geq 0,05$	1,68	0,98-2,88
Всего	384	96	-	-	-
ТТ	82 (42,7%)	32 (67,7%)	$p \geq 0,05$	0,37	0,19-0,72
ТС	102 (53,2%)	12 (25%)	$p<0,05$	3,4	1,66-6,93
СС	8 (4,1%)	4 (8,3%)	$p \geq 0,05$	0,47	0,13-1,66
Всего	192	48	-	-	-

Можно заключить, что между больными ХНЦ и женщинами, не имеющими патологии шейки матки, при изучении полиморфизма генов системы врожденного иммунитета были определены значимые увеличения частот встречаемости: мутантных гомозигот Gln/Gln гена (Arg753Gln) TLR2, гетерозиготного генотипа Phe/Leu TLR3 (Phe412Leu), гетерозиготного генотипа

ТС гена TLR9 (T-1237C), гетерозиготного генотипа Ser/Pro и мутантных гомозигот Pro/Pro гена TLR 6 (Ser249Pro). Так, мутантные гомозиготы Gln/Gln гена (Arg753Gln) TLR2 выявлены у 1,1% пациенток с ХНЦ и у 8,4% женщин в контрольной группе ($p< 0,05$). Гетерозиготный генотип Phe/Leu TLR3 (Phe412Leu) у больных ХНЦ встречался в 1,7 раза чаще, чем в контрольной группе (42,7% против 25%) ($p< 0,05$). Генотип ТС гена TLR9 (T-1237C) у больных ХНЦ встречался чаще в 2,1 раза по сравнению с женщинами контрольной группой - 53,2% против 25% ($p< 0,05$).

Наиболее значимые различия при изучении точечных нуклеотидных мутаций промоторных участков генов цитокинов, системы свертывания крови и TLR были выявлены при анализе распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена TLR6 (Ser249Pro). Среди пациенток с ХНЦ мутантные гомозиготы Pro/Pro в гене TLR6 (Ser249Pro) встречались у каждой третьей обследованной больной, что в 9,2 раза чаще, чем среди женщин, не имеющих данного заболевания - 37% против 4% ($p< 0,01$). Гетерозигота Ser/Pro гена TLR6 (Ser249Pro) выявлялась у больных ХНЦ реже в 1,9 раза, чем у женщин контрольной группы - 22,9% против 44,8% ($p< 0,05$). В 3,6 раза чаще течение ХНЦ длительностью менее 2 лет наблюдалось у пациенток без мутации в гене TLR6. Кроме того, у таких больных в 3 раза реже данное заболевание длилось более 5 лет. Следовательно, выздоровление наступало скорее, нежели у больных, имеющих в своем генотипе мутантную гомозиготу Pro/Pro TLR6.

Таким образом, носительство гомозиготы Pro/Pro TLR6 ассоциировано с рецидивированием и хронизацией воспаления в шейке матки и как следствие является предиктором ХНЦ. Иммуногенетическое обследование профиля гена TLR6 (Ser249Pro) у женщин с ХНЦ позволяет прогнозировать течение ХНЦ и может быть основой для индивидуализации профилактических и лечебных мероприятий у данной группы пациенток.

3.2. Клиническая характеристика пациенток до лечения

Для достижения намеченной цели и решения поставленных задач пациентки всех групп сравнивались по основным критериям, характеризующим репродуктивное и соматическое здоровье на момент обследования.

Возрастные особенности обследованных пациенток представлены в таблице 3.2.1.

Таблица 3.2.1.

Возрастные характеристики пациенток в группах наблюдения

Возраст	Группа сравнения n=64		Основная группа n=128		Контрольная группа n=48	
	n	%	n	%	n	%
23-25 лет	20	31,2	46	35,9	14	29,1
26-28 лет	12	18,8	34	26,5	16	33,3
29-30 лет	32	50	48	37,5	18	37,5

Из таблицы видно, что распределение пациенток по возрастным критериям в сравниваемых группах достоверно не отличалось. Средний возраст пациенток составил в группе сравнения -26,2±2,4 лет, в основной группе - 26,6±2,2 лет, в контрольной группе -26,7 ±2,1 лет ($p>0,05$).

В характере менструальной функции существенных различий не установлено. Средний возраст менархе в группе сравнения составил 13,2±0,14 лет, в основной группе - 13,0±0,12 лет, а в контрольной– 13,1±0,23 лет ($p>0,05$). Продолжительность менструального цикла у пациенток сравниваемых групп представлена в таблице 3.2.2.

Таблица 3.2.2.

Характеристика менструального цикла у обследованных больных

Менструальный цикл	Группа сравнения n=64		Основная группа n=128		Контрольная группа n=48	
	n	%	n	%	n	%
Нормопонирующий	42	65,6	88	68,9	34	70,8
Антепонирующий	10	15,6	18	14	6	12,5
Постпонирующий	12	18,8	22	17,2	8	16,7

Нарушение менструального цикла в виде олигоменореи отмечалось у 10 (15,6%) пациенток группы сравнения, у 16 (12,5%) основной группы ($p>0,05$). Альгодисменорея выявлена у 20 (31,2%) и у 38 (29,7%) пациенток соответственно ($p>0,05$). Наличие нарушений менструального цикла в анамнезе говорит о наличии эндокринных изменений у пациенток.

Во всех группах преобладали женщины, не состоявшие в зарегистрированном браке –36 в группе сравнения (56,2%), 70 (54,6%) в основной группе и 26 (54,1%) в контрольной группе ($p>0,05$). Семейный статус не имел существенных отличий.

Возраст сексуального дебюта, отражающий особенности сексуального поведения у обследованных женщин, составил во всех группах - 17,2± 0,9лет.

Данные о количестве половых партнеров женщин обследуемых групп за последний год представлены на рисунке 3.2.1.

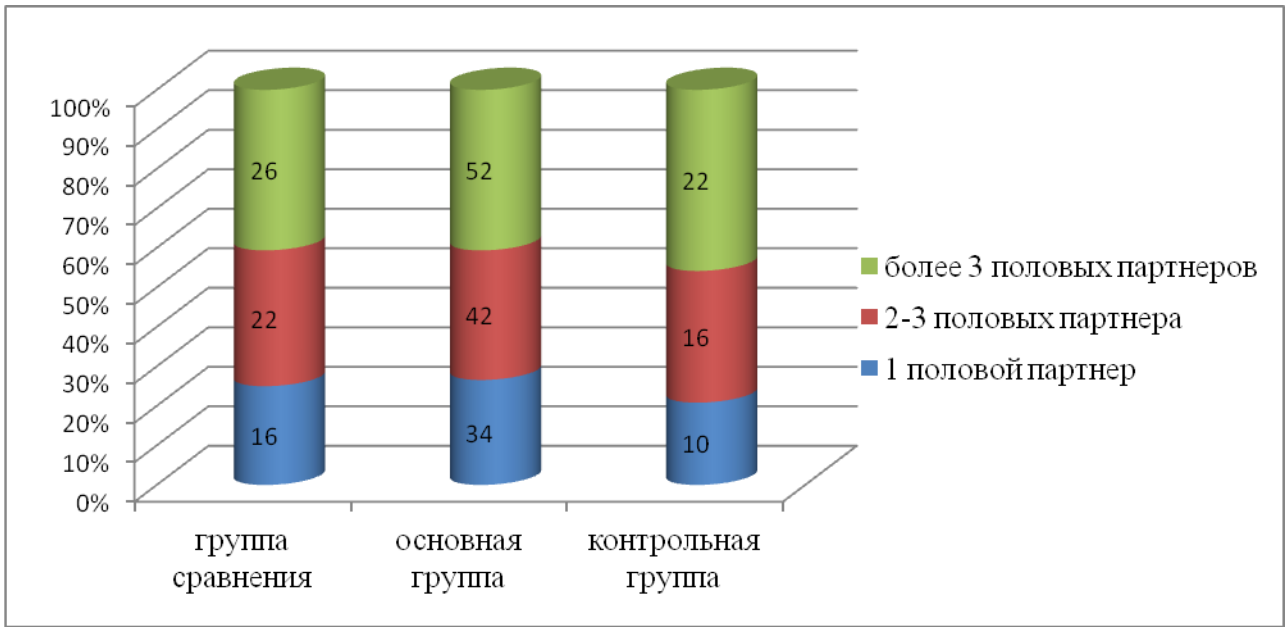


Рис.3.2.1. Распределение обследованных женщин по количеству половых партнеров

Как видно из диаграммы, большинство обследованных женщин в сравниваемых группах жили регулярной половой жизнью с частой сменой половых партнеров. Достоверных отличий по сравниваемому критерию выявлено не было ($p>0,05$).

Известно, что частая смена половых партнеров увеличивает риск заболевания инфекциями передаваемыми половым путем, снижению иммунных защитных механизмов [32,80].

Треть испытуемых имели в анамнезе прерывание беременности. Структура репродуктивной функции отражена в таблице 3.2.3.

Таблица 3.2.3.

Структура репродуктивной функции

Исходы беременности	Группа сравнения n=64		Основная группа n=128		Контрольная группа n=48	
	n	%	n	%	n	%
Не имели беременность	48	75,0	80	62,5	30	62,5
Артифициальные аборты	10	15,7	38	29,7	12	25,0
Самопроизвольный выкидыш	2	3,1	8	8,3	2	4,1
Внематочная беременность	2	3,1	0	0	2	4,1
Несостоявшийся выкидыш	2	3,1	2	1,5	0	0

Известно, что хронический воспалительный процесс в шейке матки редко существует ограниченно, чаще всего воспаление распространяется во влагалище, в матку, реже в маточные трубы [113,130,179]. Кроме того, манипуляции, связанные с прерыванием беременности, часто приводят к травматизации шейки матки. Травмирование шейки матки является причиной повреждения в ней физиологического барьера, что способствует снижению иммунных механизмов, формированию и поддержанию воспалительного процесса [134,136]. Полученные данные могут косвенно говорить о повреждении физиологического защитного барьера шейки матки и о возможном распространении воспалительного процесса за ее пределы, несмотря на отсутствие клинических симптомов.

Структура экстрагенитальной заболеваемости представлена на рисунке 3.2.2

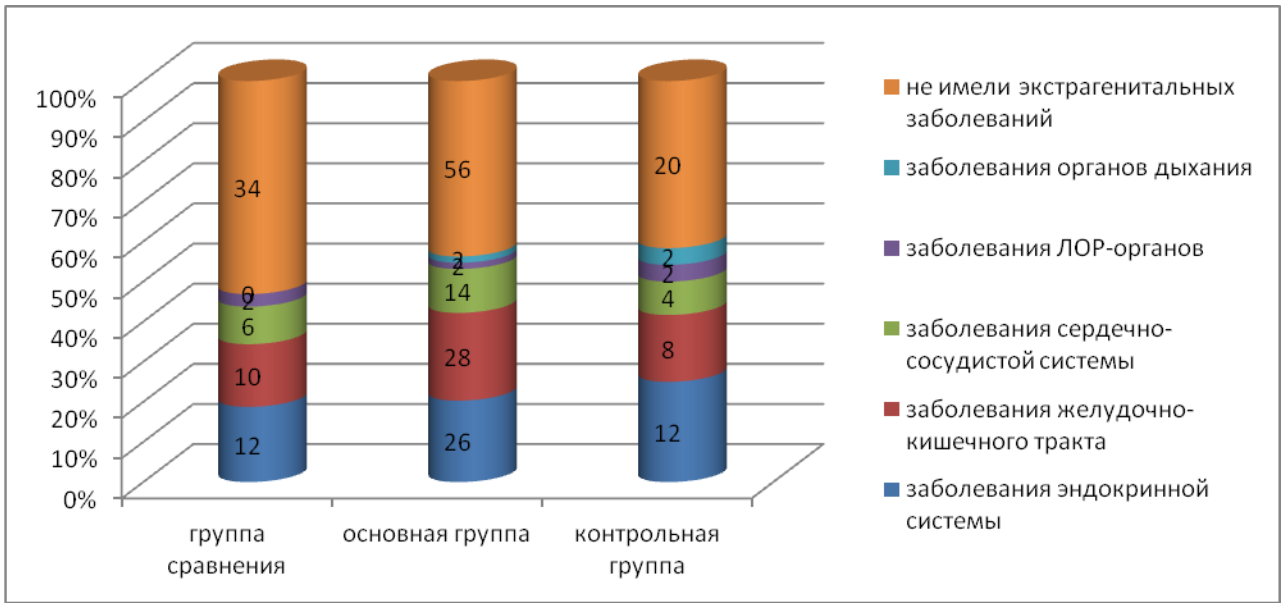


Рисунок 3.2.2. Структура экстрагенитальной заболеваемости

В исследовании приняли участие женщины при отсутствии острых (или в период ремиссии) хронических соматических неинфекционных заболеваний более 6 месяцев, а также при условии исключения приема медикаментов и принятия лечебных процедур. Обращает на себя внимание то что, не смотря на исключение пациенток с экстрагенитальной патологией инфекционного генеза из исследования, лишь половина пациенток не имели какой-либо экстрагенитальной патологии. Среди экстрагенитальных заболеваний преобладали заболевания эндокринной системы (рис.3.2.3).

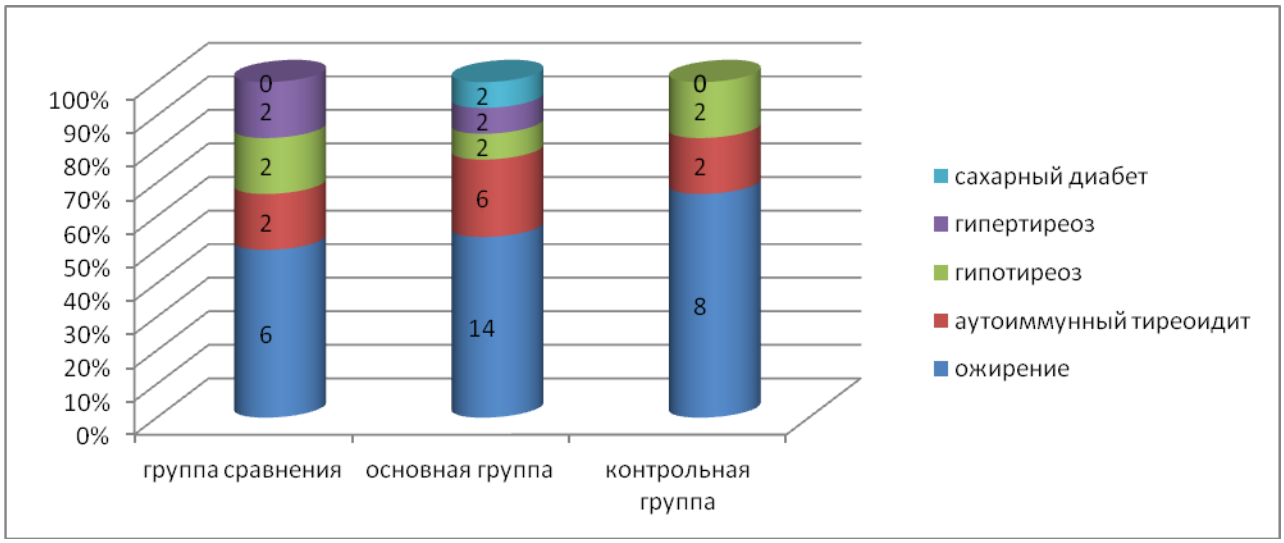


Рисунок 3.2.3. Структура заболеваемости эндокринной системы

На втором месте по частоте были болезни органов пищеварения: дискинезия желчевыводящих путей, гастрит, колит, холецистит, панкреатит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки (15,6% в группе сравнения, в основной группе – 21,9% и 16,7% в контрольной группе (p>0,05).

Заболевания сердечно – сосудистой системы заняли третье место в структуре экстрагенитальной патологии. Так, у 6 (9,4%) больных группы сравнения, у 14 (10,9%) пациенток основной группы и у 4 (8,3%) обследованных контрольной группы (p>0,05) выявлена вегетососудистая дистония, что говорит о неустойчивости вегетативной регуляции.

Следует отметить, что у трети пациенток сравниваемых групп отмечалось сочетание нескольких соматических заболеваний. Достоверных различий в заболеваемости экстрагенитальной патологией в группах отмечено не было.

Структура гинекологической заболеваемости у пациенток с хроническим неспецифическим цервицитом представлена на рисунке 3.2.4.

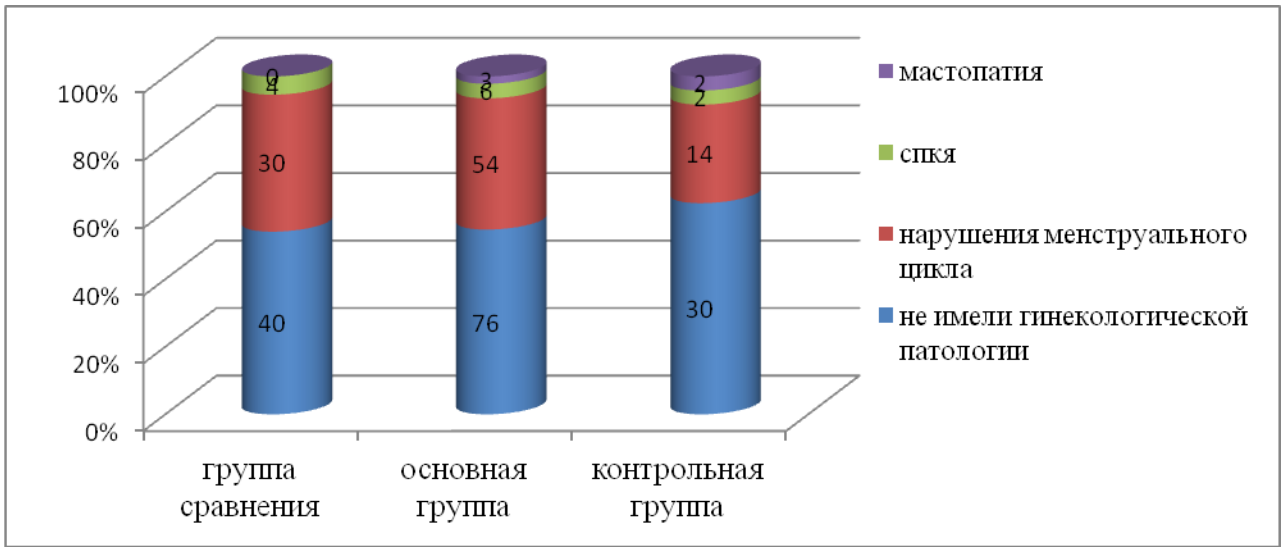


Рисунок 3.2.4. Структура гинекологической заболеваемости

В структуре гинекологической патологии выявлены нарушения менструальной функции, синдром поликистозных яичников, мастопатия. Частота их была практически одинаковой в сравниваемых группах (p>0,05).

Основными жалобами пациенток в группе сравнения и основной группе были постоянные или периодические выделения из половых путей, чувство дискомфорта или жжения во влагалище. При обращении жалобы предъявляли 56 (87,5%) больных в группе сравнения и 112 (87,5%) – в основной группе (p>0,05). Обращает на себя внимание тот факт, что 8 (12,5%) пациенток группы сравнения и 16 (12,5%) – в основной группе жалоб не предъявляли (p>0,05) (табл.3.2.4.).

Таблица 3.2.4.

Характеристика жалоб и клинических симптомов больных ХНЦ в исследуемых группах до лечения

Показатели	Группа сравнения n=64		Основная группа n=128	
	n	%	n	%
Умеренные выделения	50	78,1	88	68,8
Обильные выделения	6	9,4	14	10,9
Жжение (зуд) во влагалище	4	6,3	14	10,9
Дискомфорт во влагалище	4	6,3	12	9,4
Неприятный запах выделений	52	81,3	90	70,3
Не предъявляли жалоб	8	12,5	16	12,5

Важно отметить, что у большинства больных отмечается сочетание 2-3-х клинических симптомов. Полученные данные подтверждают наличие малосимптомной клинической картины, что указывает на хроническую форму заболевания.

Все больные обеих групп проходили ранее лечение по поводу цервицита. Во время предыдущих курсов лечения назначалась антибактериальная терапия и местная санация влагалища. Длительность заболевания к моменту обследования пациенток представлена в таблице 3.2.5.

Таблица 3.2.5.

Длительность заболевания к моменту обследования

Длительность заболевания	Группа сравнения n=64		Основная группа n=128	
	n	%	n	%
1-2 года	24	37,5	46	35,9
3-4 года	28	43,7	54	42,3
5 лет и более	12	18,8	28	21,8

Средняя длительность заболевания составила в группе сравнения-3,0 ±1,1 лет, в основной группе-3,1 ±1,2 лет. Установлено, что у 62,5% пациенток группы сравнения и у 64,0% больных основной группы длительность заболевания составила от 3 до 5 лет (p>0,05). Данные, представленные в табл. 3.1.5. свидетельствуют о длительном течении заболевания и отсутствии эффекта от предшествующего лечения. Частота рецидива заболевания варьировала от 1 до 4 эпизодов в течение жизни. Таким образом, состояние и общая клиническая картина заболевания у испытуемых обеих групп были идентичными и достоверно не отличались, что свидетельствует об их сопоставимости.

Таким образом, для ХНЦ характерен длительный анамнез заболевания, малосимптомное, субклиническое, затяжное течение, низкая эффективность предшествующей терапии.

3.3. Результаты специальных методов исследования до лечения

При осмотре шейки матки в 100% случаев обнаружены гиперемия шейки матки и патологические выделения из цервикального канала (p>0,05). При бимануальном исследовании у пациенток обеих групп не обнаружены какие либо патологические изменения внутренних половых органов (p>0,05).

Результаты бактериоскопического исследования влагалищного и цервикального секрета показали, что в основной группе и группе сравнения

определялись различной степени выраженности воспалительные изменения. При микроскопии вагинальных мазков в контрольной группе были выявлены единичные лейкоциты (до 5-7 в поле зрения) у всех 48 (100%) обследованных. Для постановки диагноза цервицит одним из критериев служило содержание лейкоцитов в цервикальном секрете более 10 в поле зрения. Результаты бактериоскопического исследования обследованных представлены в таблице 3.3.1.

Таблица 3.3.1.

Лейкоцитоз в цервикальном секрете у пациенток до лечения

Количество лейкоцитов	Группа сравнения n=64		Основная группа n=128		Контрольная группа n=48	
	n	%	n	%	n	%
Менее 10	0	0	0	0	48	100
Менее 50	56	87,5	112	87,5	0	0
Более 50	8	12,5	16	12,5	0	0

Полученные результаты свидетельствует о том, что у большинства пациенток групп наблюдения в мазках отмечался умеренный лейкоцитоз, указывая на хроническое течение воспалительного процесса. Кроме того, известно, что ХНЦ редко протекает изолированно и сочетается с воспалительными или дисбиотическими изменениями влагалища.

Картина дисбиоза выявлена у 40,6% пациенток группы сравнения и у 46,8% обследованных основной группы ($p>0,05$). Неспецифический вагинит был определен у 56,2% больных группы сравнения и у 53,2% пациенток основной группы ($p>0,05$). Лишь у 2 обследованных из группы сравнения мазок приближался к показателям нормы. В контрольной группе биоценоз влагалища соответствовал показателям нормы. Нормоценоз определен в 58,3% мазках, промежуточный тип в 41,7% мазках (рис. 3.3.1).

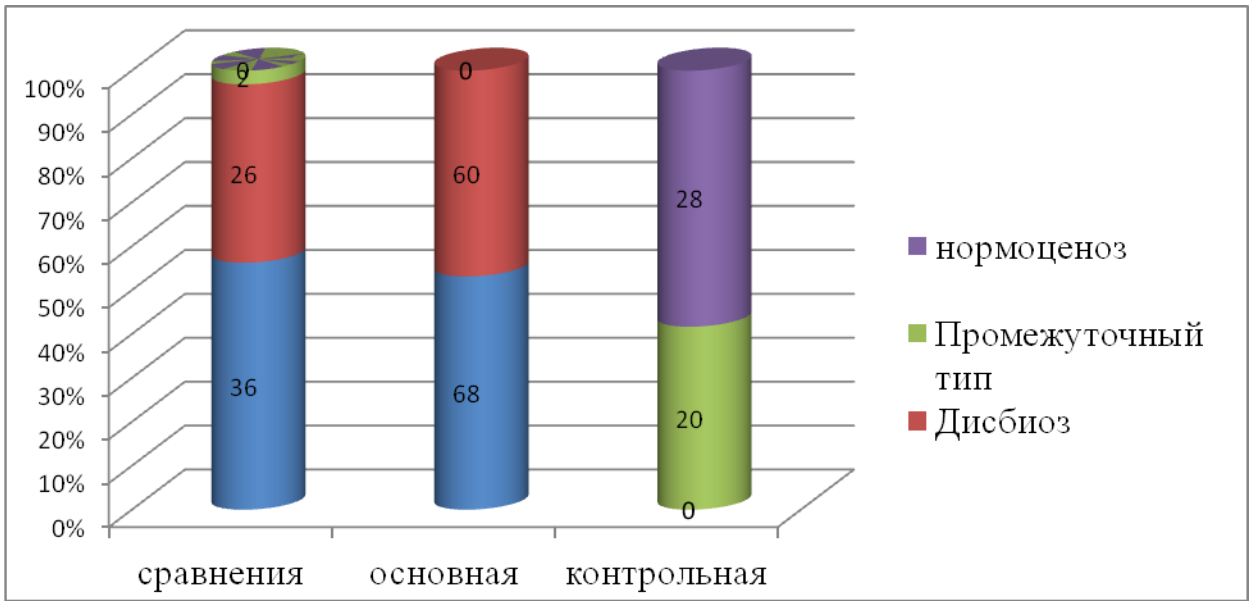


Рисунок 3.3.1. Биоценоз влагалища пациенток до лечения

При культуральном микробиологическом исследовании цервикального канала до лечения в группе сравнения и в основной группе у всех больных выявлен значительный рост условно-патогенных микроорганизмов. Чаще других у больных основной группы выявлялись Escherichia coli (78,1%), Candida spp (62,5%) и Streptococcus spp (59,4%). В группе сравнения результаты были аналогичны. У подавляющего большинства женщин контрольной группы, а именно у 42 (87,5%) пациентки посев роста патогенной флоры не дал. В остальных 6 (12,5%) случаях были обнаружены Candida spp, Streptococcus spp и Mobiluncus spp. Данные представлены в таблице 3.3.2.

Таблица 3.3.2.

Количественный и видовой состав возбудителей, выделенных из цервикального канала пациенток до лечения

Тип возбудителя КОЕ/мл	Группа сравнения n=64		Основная группа n=128		Контрольная группа n=48	
	n	%	n	%	n	%
Mycoplasma spp. $\geq 10^5$	10	15,6	22	17,2	0	0
Ureaplasma spp. $\geq 10^5$	14	21,9	26	20,3	0	0
Candida spp. $\geq 10^5$	38	59,4	80	62,5	2	4,2
Gardnerella vaginalis $\geq 10^5$	28	43,8	60	46,9	0	0
Escherichia coli $\geq 10^5$	52	81,3	100	78,1	0	0
Streptococcus spp. $\geq 10^5$	34	53,1	76	59,4	2	4,2
Enterococcus spp. $\geq 10^5$	26	40,6	54	42,2	0	0
Staphylococcus spp. $\geq 10^5$	42	65,6	72	56,2	0	0
Proteus Vulgaris $\geq 10^5$	6	9,4	14	10,9	0	0
Mobiluncus spp. $\geq 10^5$	10	15,6	18	14,0	2	4,2
Роста нет	0	0	0	0	42	87,5

Лактобацилярная флора была значительно снижена и в группе сравнения, и в основной группе. В контрольной группе содержание лактобактерий соответствовало показателям нормы (табл. 3.3.3).

Таблица 3.3.3.

Количественное содержание Lactobacillus spp у пациенток до лечения

Lactobacillus spp. КОЕ/мл	Группа сравнения n=64		Основная группа n=128		Контрольная группа n=48	
	n	%	n	%	n	%
$\geq 10^8$	0	0	0	0	30	62,5
10^6 - 10^8	0	0	0	0	18	37,5
10^4 - 10^6	28	43,8	60	46,9	0	0
$< 10^4$	36	56,2	68	53,1	0	0

Таким образом, при бактериологическом исследовании отмечалось значительное снижение нормальной лактобациллярной и обилие факультативной флоры.

У большинства больных в обеих группах (78,1% в группе сравнения и у76,6% в основной группе, p>0,05) инфицированность носила сочетанный характер (рис. 3.3.2)

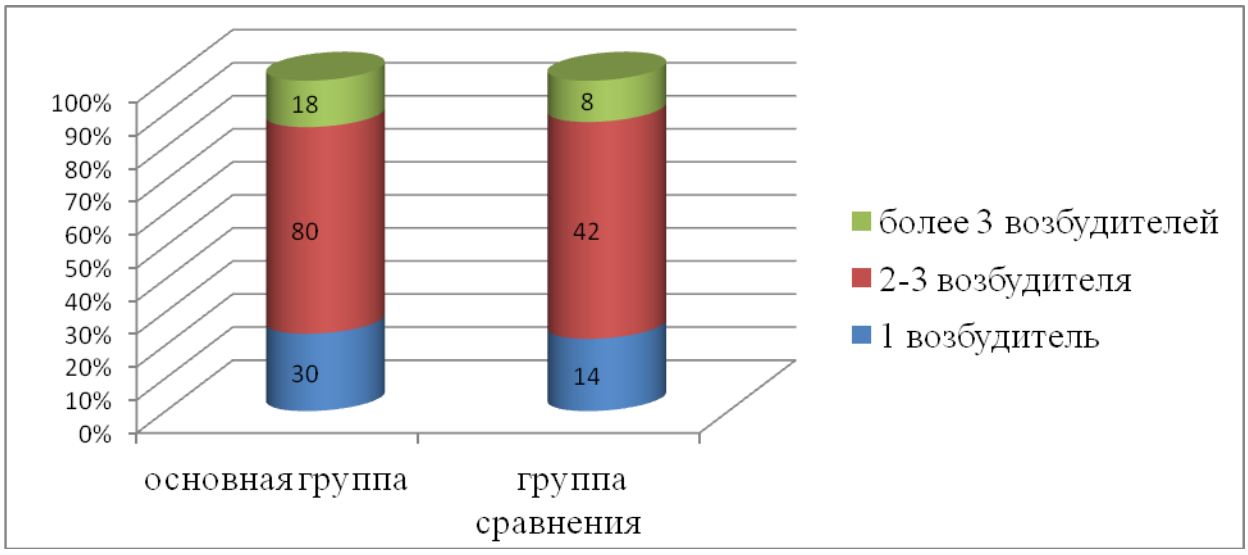


Рисунок 3.3.2. Инфицированность больных до лечения

По результатам скрининга на вирус папилломы человека методом ПЦР у 38 (59,4%) больных группы сравнения и у 82 (64,0%) больных основной группы

получены отрицательные результаты. При дальнейшем генотипировании и определении количественной нагрузки были выявлены вирусы папилломы человека низкого онкогенного риска 6, 42, 43, 44, 53, 54 типов с клинически малозначимой вирусной концентрацией (менее 10^4 копий геномов).

Достоверных различий между больными группы сравнения и основной группы, при анализе видового состава микрофлоры влагалища и шейки матки, выявлено не было.

Таким образом, наличие дисбиоза и воспалительных заболеваний влагалища являются наиболее значимыми факторами риска возникновения и хронизации неспецифического цервицита.

В результате цитологического скрининга (Pap-smear test) установлено, что у большинства больных ХНЦ выявлены морфологически измененные клеточные элементы, обусловленные воспалительным процессом в шейке матки, соответствующие незначительным клеточным изменениям, согласно Бетесда-системе или II классу мазка согласно классификации Папаниколау.

Нормальная цитологическая картина (I класс мазка) обнаружена в 43,7% случаях в группе сравнения, в 40,6% случаях в основной группе и у всех пациенток (100%) контрольной группы. Воспалительная цитологическая картина (II класс мазка) обнаружена у 56,3% пациенток группы сравнения, у 59,4% больных основной группы.

Цитологическая картина, соответствующая III классу мазка (единичные клетки с аномалиями цитоплазмы и ядер), IV классу (наличие отдельных клеток с явными признаками злокачественности) и V классу (большое число раковых клеток) не обнаружена ни у одной пациентки, принявшей участие в настоящем исследовании (рис. 3.3.3).

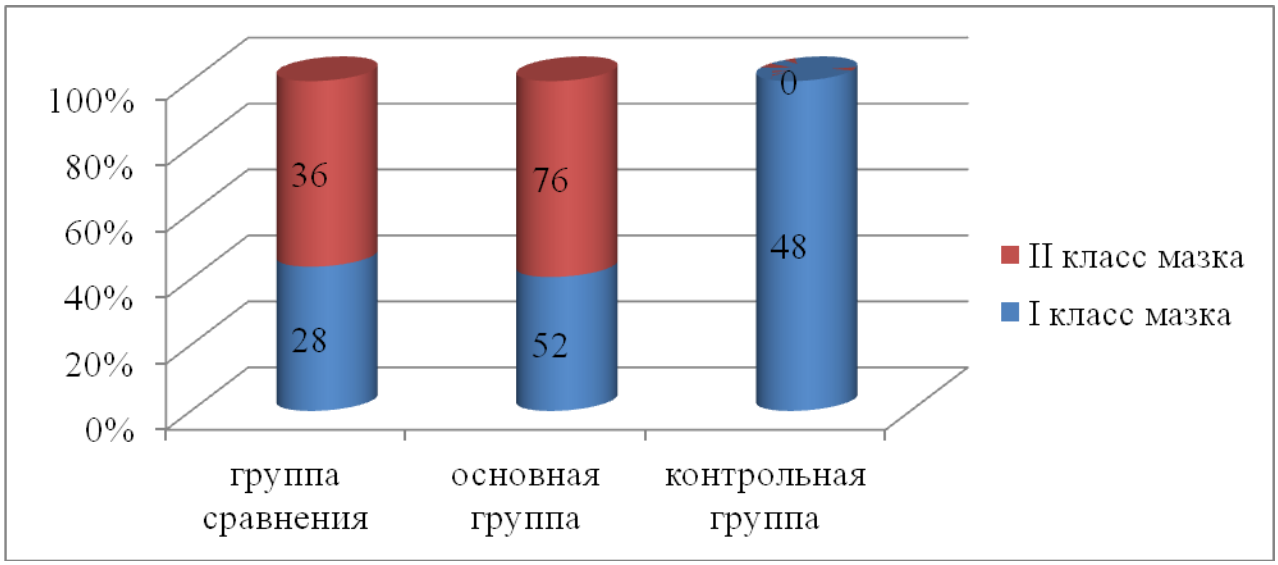


Рисунок 3.3.3. Цитологический скрининг пациенток до лечения

Известно, что цитологическая картина мазка при недостаточно выраженном воспалении шейки матки может не отличаться от таковой при норме [159,196].

Кольпоскопическая оценка шейки матки проводилась согласно международной классификации кольпоскопических терминов в отношении шейки матки, принятой в Рио де Жанейро, 2011 г.

В контрольной группе у всех пациенток определялся многослойный плоский эпителий. Хорошо визуализировалась зона стыка. Расширенная кольпоскопия у обследованных контрольной группы в 100% случаев подтвердила нормальную кольпоскопическую картину. После кратковременного воздействия 3% раствором уксусной кислоты отмечался выраженный спазм подэпителиальных сосудов. После проведения пробы Шиллера многослойный плоский эпителий экзоцервикса окрашивался йодпозитивно, что расценено как норма.

При проведении простой и расширенной кольпоскопии у всех пациенток с ХНЦ выявлена воспалительная кольпоскопическая картина.

Эктопия шейки матки с явлениями воспаления диагностирована у 20 (31,3%) пациенток группы сравнения и у 42 (32,8%) – основной группы. Неровный рельеф шейки матки, ввиду единичных и множественных закрытых желез, отмечался у 9 (14,0%) больных в группе сравнения и у 16 (12,5%) – основной группы. Гипертрофия шейки матки за счет отека выявлена у 30 (46,9%)

обследованных группы сравнения и у 56 (43,8%) – основной группы. Данные признаки расценены как проявления хронического длительно-текущего воспалительного процесса в шейке матки.

После кратковременного воздействия 3% раствором уксусной кислоты тонкий ацетобелый эпителий с неровными размытыми краями определялся практически у всех обследованных обеих групп (у 60 – 93,8% в группе сравнения и у 118 – 92,2% в основной группе, соответственно). Нежная мозаика и нежная пунктация наблюдалась в большинстве случаев наблюдения. В группе сравнения данные кольпоскопические признаки визуализировались у 44 (68,7%) больных, в основной группе - у 90 (70,3%) обследованных. Распространенная крапчатость была выявлена у 20 (31,2%) пациенток группы сравнения и у 38 (29,7%) больных основной группы, что свидетельствовало о диффузном воспалительном процессе. При обработке экзоцервикса раствором Люголя у 10 (15,6%) пациенток группы сравнения и у 22 (17,2%) пациенток основной группы наблюдалось пестрое окрашивание. Это свидетельствовало о диффузном отсутствии гликогена в эпителии. Йоднегативные участки различных размеров с расплывчатыми границами определялись в 56 (87,5%) случаях группы сравнения и в 118 (92,2%) случаях основной группы. Описанные кольпоскопические картины могут наблюдаться при длительном течении хронического цервицита и являться следствием реактивных процессов в эпителии [127].

Иммунологическая дисфункция выявлена у всех больных ХНЦ (табл. 3.3.4.).

Таблица 3.3.4.

Уровни интерлейкинов в периферической крови пациенток до лечения {Me (25%-75%)}

Интерлейкин пг/мл	Группа сравнения n=64	Основная группа n=128	Контрольная группа n=48
Ил-6	8 (5-9,5) *	8 (5-10) *	2,5 (2-6)
Ил-10	8 (5-10,5) *	9 (7-14) *	3 (1-6,5)
Ил-1 β	2 (1-3) *	1 (1-2) *	3,5 (2-9,5)
Ил-4	2 (1-8) *	1 (1-2,5) *	4,5 (2-7)
Ил-17 а	442 (215,5-665) *	353(285-900) *	117 (75-143,5)
IFNγ	3,5 (1,-6,5) *	3 (1-6) *	12,5 (5-15)
TNFα	55 (24,5-77) *	68 (46-101,5) *	2 (0-7,5)

*- значимые различия по сравнению с контрольной группой, $p<0,05$

При анализе цитокинового профиля больных в группах наблюдения обращает на себя внимание нарушение баланса всех исследуемых провоспалительных и противовоспалительных интерлейкинов, что свидетельствует о реактивности иммунной системы при хроническом течении цервицита. Однако, выявленные различия в количественном содержании Ил-6, Ил-10, Ил-1 β, Ил-4 у больных ХНЦ и у женщин контрольной группы, не превышали показателей нормы.

Известно, что баланс цитокинов в воспалительный период может отражать соответствующую форму иммунного ответа, будет ли это преимущественно клеточный или гуморальный иммунный ответ [155]. Так, в группе сравнения наблюдалось повышение провоспалительного Ил-17а в 3,7 раза, в основной группе - в 3 раза, а прововоспалительного TNFα, соответственно в 27,5 и в 34 раза. Сниженная выработка провоспалительного IFNγ закономерна увеличению продукции TNFα, соответственно отмечалось уменьшение уровня IFNγ в

группе сравнения в 3,6 раза, в основной группе в 4,1 раза, по сравнению с показателями женщин контрольной группы. Продукция Ил- β и Ил- 4 в группе сравнения и основной группе была снижена в среднем в 2 раза, по сравнению с показателями контрольной группы. Не исключено, что подобные изменения являются результатом хронизации воспалительного процесса.

В контрольной группе отклонений от нормы в состоянии цитокиновой сети отмечено не было.

У пациенток с ХНЦ отмечалась иммунологическая нестабильность с преимущественным нарушением функционирования Т-клеточного звена иммунной системы, что является патогенетически значимым механизмом в поддержании хронического вялотекущего воспалительного процесса в шейке матки.

Анализ анамнеза, жалоб, данных объективного и специальных методов исследования больных в группе сравнения и основной группе показал однородность пациенток с ХНЦ по всем вышеперечисленным показателям.

Таким образом, для больных ХНЦ характерны стертые клинические формы, длительное рецидивирующее течение с развитием устойчивого патологического состояния в шейке матки и с изменением иммунологической реактивности, поддерживаемое на системном уровне.

3.4. Результаты лечения в группе сравнения

Всем пациенткам группы сравнения была назначена терапия, включающая местную санацию влагалища и восстановление нормобиоценоза влагалища, согласно приказу МЗ №765 от 20.11.2006 г. и национальному руководству по гинекологии (В.И. Кулаков и др., 2011). Пациенткам, у которых при бактерологическом культуральном методе исследования были идентифицированы микроорганизмы в концентрациях более 10^5 на первом этапе лечения была проведена этиотропная терапия, в строгой зависимости от выявленного патогена. Назначались препараты группы цефалоспоринов (цефиксим 400 мг в сутки на 7 дней), линкозаминов (клиндамицин 450 мг в

сутки на 7 дней), макролидов (азитромицин 1000 мг в сутки на 3 дня), фторхинолонов (левофлоксацин 500 мг в сутки на 7 дней) в сочетании с метронидазолом (750 мг в сутки на 10 дней). С целью лечения и профилактики вульвовагинального кандидоза назначали флуконазол в дозе 150 мг. В состав комплексной терапии для местной ликвидации условно-патогенных микроорганизмов, грибов и анаэробов был включен комбинированный препарат нео-пенотран форте в виде вагинальных свечей (по 1 свече на ночь в течение 7 дней). С целью восстановления влагалищного микробиоценоза после антибиотикотерапии был назначен Ацилакт по 1 свече интравагинально в течение 10 дней. На втором этапе лечения с целью коррекции иммунологических нарушений был назначен «Генферон» 500 тыс. МЕ вагинально по 1 свече 2 раза в день в течение 10 дней.

Изменения в клинической картине у пациенток группы сравнения после проведенного лечения представлены в таблице 3.4.1.

Таблица 3.4.1.

Динамика клинических симптомов в группе сравнения

Жалобы пациенток	Группа сравнения, n=64	
	До лечения	После лечения
Умеренные выделения	50 (78,1%)	10 (15,6%)*
Обильные выделения	6 (9,4%)	0*
Жжение, зуд	4 (6,2%)	0*
Дискомфорт во влагалище	4 (6,2%)	0*
Неприятный запах	52 (81,3%)	6 (9,4%)*
Жалоб нет	8 (12,5%)	54 (84,4%)*

Примечание: достоверность различий показателя в пределах одной группы по отношению к исходному (*) статистически достоверны ($p<0,05$).

После окончания курса традиционной терапии 54 (84,4%) пациенток отметили значительное улучшение самочувствия по сравнению с состоянием до начала лечения. Положительная динамика выражалась в отсутствии жалоб у большинства пролеченных пациенток. Лишь у 15,6% больных сохранялись жалобы на умеренные выделения, которые уменьшились, но не исчезли полностью. Жалобы на неприятный запах влагалищного секрета отмечены только у 9,4% пациенток, что достоверно ниже, чем до проводимой терапии ($p<0,05$). При осмотре шейки матки в зеркалах у 20 (31,2%) больных сохранились изменения слизистой шейки матки воспалительного характера, в виде локальной или диффузной гиперемии экзоцервикса, отека, слизисто-гнойных выделений из цервикального канала, несмотря на то, что половина из них жалоб не предъявляла. Результаты микроскопического исследования вагинальных мазков после проведенной терапии представлены в таблице 3.4.2.

Таблица 3.4.2.

Биоценоз влагалища пациенток группы сравнения после лечения

Типы биоценоза	Контрольная группа, n=48	Группа сравнения, n=64	
		До лечения	После лечения
Нормоценоз	28 (58,3%)	0*	26 (40,6%)**
Промежуточный тип	20 (41,7%)	2 (3,1%)*	24 (37,5%)**
Дисбиоз	0	26 (40,6%)*	14 (21,9%)*,**
Вагинит	0	36 (56,3%)*	0

Примечание: достоверность различий показателя по отношению к показателю контрольной группы (*) и в пределах одной группы по отношению к исходному (**) статистически достоверны ($p<0,05$).

Контрольное бактериоскопическое исследование выявило снижение количества лейкоцитов и слизи у всех пролеченных, в состоянии биоценоза

влагалища явления неспецифического вагинита были полностью устранены, однако у 21,9% пациенток сохранялись патологические изменения, характерные для дисбиоза влагалища. В 2 (3,1%) случаях было выявлено кандидоносительство без клинических проявлений. Повторный бактериальный посев подтвердил устранение инфекционного агента у 48 больных (75,0%) группы сравнения. Данные представлены в таблице 3.4.3.

Таблица 3.4.3.

Количественный и видовой состав возбудителей, выделенных из цервикального канала у пациенток группы сравнения после лечения

Микроорганизмы КОЕ/мл	Контрольная группа, n=48	Группа сравнения, n=64	
		до лечения	после лечения
Mycoplasma spp. $\geq 10^5$	0	10 (15,5%)*	0**
Ureaplasma spp. $\geq 10^5$	0	14 (21,9%)*	0**
Candida spp. $\geq 10^5$	2 (4,2%)	38 (59,4%)*	2 (3,1%)**
Gardnerella vaginalis $\geq 10^5$	0	28 (43,8%)*	14 (21,9%)*,**
Escherichia coli $\geq 10^5$	0	52 (81,3%)*	0**
Streptococcus spp. $\geq 10^5$	2 (4,2%)	34 (53,1%)*	0**
Enterococcus spp. $\geq 10^5$	0	26 (40,6%)*	0**
Staphylococcus spp. $\geq 10^5$	0	42 (65,6%)*	0**
Proteus Vulgaris $\geq 10^5$	0	6 (9,4%)*	0**
Mobiluncus spp. $\geq 10^5$	2 (4,2%)	10 (15,6%)*	0**
Роста нет	42(87,5%)	0*	48 (75,0%)**

Примечание: достоверность различий показателя по отношению к показателю контрольной группы (*) и в пределах одной группы по отношению к исходному (**) статистически достоверны ($p<0,05$).

Изучение изменений бактериологических показателей содержимого влагалища пациенток группы сравнения показало, что после проведенной

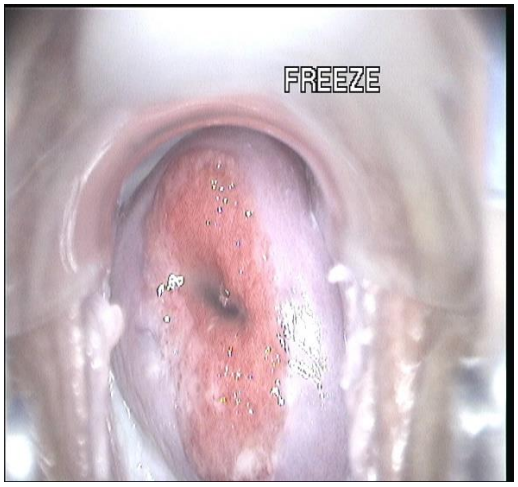
терапии произошли существенные изменения состава вагинальной микрофлоры. Условно-патогенные микроорганизмы и патогенная флора в большинстве случаев были устранены. Восстановление нормальной микрофлоры влагалища отмечено у трети пациенток. Так, уровень лактобактерий после лечения повысился до уровня более 10^8 КОЕ/мл у 4 (6,2%) пациенток, до 10^6 – 10^8 КОЕ/мл - у 16 (25,0%) пролеченных, до 10^4 – 10^6 КОЕ/мл - у 30 (46,9%) больных, в 14 (21,8%) случаях пул лактобактерий был угнетен и составил менее 10^4 КОЕ/мл.

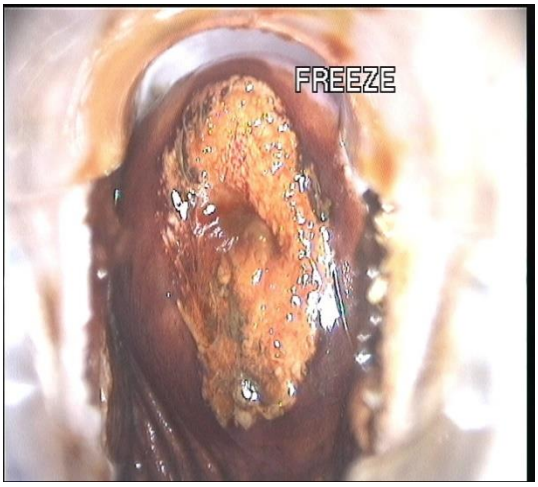
В результате цитологического скрининга (Pap-smear test) нормальная цитологическая картина (I класс мазка) была определена в 68,8% случаях. Воспалительная цитологическая картина (II класс мазка) сохранилась у 20 (31,2%) пациенток, что достоверно значимо по сравнению с показателями до лечения.

Нормальная кольпоскопическая картина в группе сравнения через 2 месяца после лечения констатирована лишь у 24 (37,5%) пациенток группы сравнения. Кольпоскопическая картина воспаления отмечена у 20 (31,2%) пациенток. У остальных пролеченных женщин этой группы (31,2%) наблюдалась аномальная кольпоскопическая картина I степени (слабовыраженные поражения). После обработки шейки матки 3% раствором уксусной кислоты тонкий ацетобелый эпителий с неровными размытыми краями (LSIL) был отмечен у 20 (31,2%) обследованных, что в 2,8 раза реже, чем до проведенной терапии ($p<0,05$). При обработке экзоцервикса раствором Люголя очаговая крапчатость визуализировалась у 20 (31,2%) пролеченных, что свидетельствовало о продолжающемся воспалительном процессе ($p<0,05$). Йоднегативные участки различных размеров с расплывчатыми границами определялись также в 20 (31,2%) случаях. Описанные кольпоскопические картины указывают на вялотекущий воспалительный процесс в шейке матки.

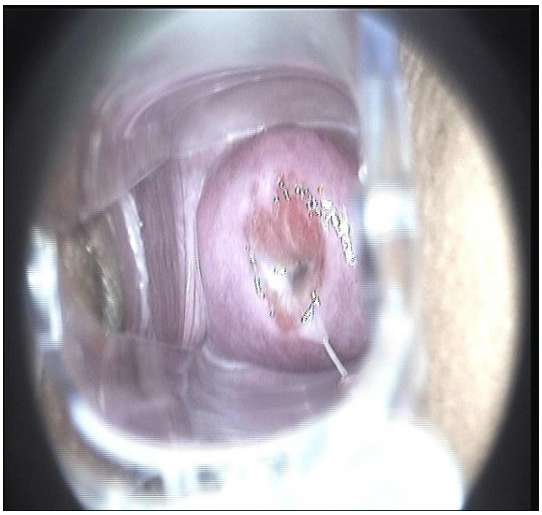
Пример № 1. Пациентка С., 26 лет, группа сравнения.

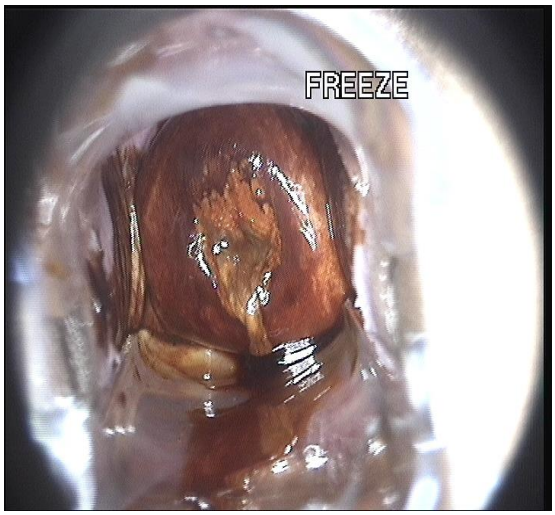
Кольпоскопия шейки матки до лечения





Кольпоскопия шейки матки после лечения





Состояние иммунной реактивности отражено в таблице 3.4.4.

Таблица 3.4.4.

Уровни интерлейкинов в периферической крови пациенток через 2 месяца после лечения {Me (25%-75%)}

Интерлейкин пг/мл	Контрольная группа, n=48	Группа сравнения, n=64	
		До лечения	После лечения
Ил-6	2,5 (2-6)	8 (5-9,5) *	2 (2-4,5) **
Ил-10	3 (1-6,5)	8 (5-10,5) *	2 (1-3,5) **
Ил-1β	3,5 (2-9,5)	2 (1-3)	7 (2-12) **
Ил-4	4,5 (2-7)	2 (1-8)	19,5(9-32,5) *,**
Ил-17а	117(75-143,5)	442 (215,5-665)*	394 (124-560) *,**
IFNγ	12,5 (5-15)	3,5 (1,-6,5) *	59(19-110) *,**
TNFα	2 (0-7,5)	55 (24,5-77) *	6 (2-12) **

*- значимые различия по сравнению с контрольной группой, $p<0,05$

**- значимые различия в пределах одной группы, $p<0,05$

Из таблицы видно, что в процессе лечения было отмечено снижение уровней провоспалительного Ил-6 и противовоспалительного Ил-10 в 4 раза. Их концентрация нормализовалась и значимо не отличалась от показателей контрольной группы. Усиленная продукция данных цитокинов отмечалась лишь у 6 (9,4%) и у 4 (6,2%) пациенток, соответственно.

Уровень Ил-1β после лечения значимо повысился, но не превышал показателя нормы. Так, до лечения уровень Ил-1β составил 2 (1-3) пг/мл, против 7 (2-12) пг/мл после терапии ($p<0,05$). Повышенное содержание исследуемого цитокина было констатировано в 6 (9,4%) случаях.

Анализируя количественное содержание противовоспалительного Ил-4, обращает на себя внимание, что до лечения у пациенток наблюдалось некоторое угнетение его выработки - в 2 раза по сравнению с контрольной

группой. В то время как после проведенного курса лечения продукция Ил-4 резко возросла с 2 (1-8) пг/мл до 19,5 (9-32,5) пг/мл, более чем в 9,7 раза ($p<0,05$). Повышенное содержание Ил-4 было отмечено больше чем у половины пациенток (59,4%). Вероятно, это свидетельствует об активации Т-хелперов второго типа с последующей стимуляцией гуморального звена иммунитета и носит компенсаторный характер, угнетая продукцию провоспалительного цитокина TNFα. Действительно, продукция TNFα после лечения нормализовалась и ни у одной пациентки увеличенной его выработки не наблюдалось. Так, если до лечения была обнаружена значительная активация провоспалительного цитокина TNFα более чем в 27 раз при сопоставлении с уровнем TNFα в контрольной группе, то после проведенной терапии концентрация TNFα снизилась в 9,1 раза (с 55 (24,5-77) пг/мл до 6 (2-12) пг/мл, $p<0,05$). Полученные данные и выявленные генетические особенности, в виде увеличения гетерозиготного генотипа GA в гене TNFα, можно считать независимыми друг от друга наблюдениями.

Изучая динамику Ил-17а в ходе исследования, установлено снижение продукции данного цитокина на 10,8% после проведенной терапии с 442 (215,5-665) пг/мл до 394 (124-560) пг/мл. Однако даже после курса лечения показатель, определенный в группе сравнения превосходил показатель контрольной группы в 3,4 раза. Повышение уровня Ил-17а было констатировано у 38 (59,4%) пролеченных.

Изучая иммунологический ответ на проведенную терапию, выявлено значимое увеличение количества IFNγ по сравнению с исходным более чем в 16 раз (3,5 (1,-6,5) пг/мл против 59 (19-110) пг/мл, $p<0,05$). Повышенная концентрация IFNγ наблюдалась у 38 (59,4%) больных.

Увеличение продукции IFNγ после проведенного курса терапии указывает на подавление клеток Т-хелперов второго типа и увеличение активности Т-лимфоцитов. В то же время продукция Ил-6 и TNFα снизилась, что является следствием нормализации повышенной активности макрофагов.

Полученные данные говорят о том, что стандартная терапия, примененная в группе сравнения не достаточно эффективна для восстановления иммунологического равновесия. Несмотря на проведенную терапию, цитокиновый профиль остался значительно изменен, его нормализации не произошло. У больных этой группы клиническое улучшение в течение заболевания носило кажущийся характер, о чем свидетельствует возникший рецидив в течение 6 месяцев наблюдения у трети пациенток.

Таким образом, несмотря на положительную динамику клинико-лабораторных показателей, полной ликвидации воспалительного процесса у пациенток группы сравнения не произошло. Можно предположить, что сохраняющаяся иммунологическая дисфункция является патогенетически значимым механизмом в поддержании хронического вялотекущего воспалительного процесса в шейке матки.

Подводя итог, можно заключить, что не высокая эффективность терапии ХНЦ (68,8%) в группе сравнения была обусловлена нарушением иммунного реагирования в результате дисфункции цитокинового каскада.

Данное заключение обусловливает необходимость разработки нового концептуального подхода в лечении ХНЦ.

3.5. Результаты лечения больных в основной группе

3.5.1. Распределение пациенток по подгруппам, описание методики воздействия

Всем пациенткам основной группы на первом этапе лечения была проведена идентичная терапия, проводимая в группе сравнения: этиотропная терапия, профилактика вульвовагинального кандидоза, местная санация влагалища и восстановление влагалищного микробиоценоза. На втором этапе лечения больные основной группы были разделены на 3 подгруппы. В подгруппе №1 (n=32) проводилась вагинальная лазеротерапия, в подгруппе №2 (n=32) использовались тампоны с бальнеологическим средством «Эльтон» (гель), в

подгруппе №3 (n=64) применялся лазерный фотофорез бальнеологического средства «Эльтон» (гель).

В подгруппе №1 было применено низкоинтенсивное инфракрасное лазерное воздействие на шейку матки на аппарате «Мустанг - 024» (НПКЦ “Техника”).

Выбор лазеротерапии обусловлен тем, что она оказывает многостороннее влияние, обладая стимулирующим влиянием на молекулярном, субклеточном, тканевом, органном или системном уровне [20,73,87]. В этот широкий диапазон укладываются практически все известные патологические состояния. Лазерное излучение оказывает противовоспалительное действие за счет подавления перекисного окисления липидов и улучшения микроциркуляции. Анальгезирующее действие происходит благодаря снижению отечности в области нервных окончаний. Иммуномодуляция и стимуляция репаративных процессов осуществляется за счет активизации метаболизма клеток, пролиферации фибробластов, синтеза белков и коллагена, неоваскуляризации тканей [31,45,60,68,75,84,93,140,167,173,177].

Данные обстоятельства послужили нам основанием для применения вагинальной лазеротерапии в комплексном лечении больных с ХНЦ в качестве лечебного фактора. Преимущество ее перед другими физиотерапевтическими и медикаментозными методами лечения заключаются в быстроте наступления клинического эффекта, атравматичности, асептичности, широте диапазона параметров терапевтического воздействия, низком кумулятивном эффекте, комфортности для пациентов [73,140,167].

В подгруппе №1 схема была идентичной как для пациенток с генотипом Pro/Pro в гене TLR6 (Ser249Pro) (n=10), так и для пациенток с генотипами Ser/Ser и Ser/Pro (n=22).

Методика осуществлялась следующим образом. Положение пациентки при выполнении процедуры - лежа на гинекологическом кресле. Наружные половые органы и шейка матки, выведенная с помощью зеркала Куско, обрабатывались стерильным тампоном, смоченным хлоргексидином биглюконатом 0,05%. Облучение проводилось гинекологической насадкой. Время воздействия

составило 3 минуты, длина волны 0,9 нм, импульсная мощность 5 Вт, частота следования импульса 600 Гц. Сеансы проводились в течение 10 дней, ежедневно, начиная в первую фазу менструального цикла. Известных противопоказаний к проведению лазеротерапии у пациенток не встречалось.

В подгруппе №2 использовались вагинальные тампоны с бальнеологическим средством «Эльтон» в гелевой форме в течение 10 дней, время воздействия 2 часа. В данной подгруппе схема была также идентичной как для пациенток с генотипом Pro/Pro в гене TLR6 (Ser249Pro) (n=6), так и для пациенток с генотипами Ser/Ser и Ser/Pro (n=26). Основанием для выбора бальнеологического средства «Эльтон» явились его особенности воздействия на ткань, поврежденную воспалительным процессом [33,148,160]. Бальнеологическое средство «Эльтон» является нелекарственным средством (ТУ 13-01-03-44-98), разрешённым к применению заключением ГСЭС РФ № 34.12.01.936.П. 000295.04.04, 2004-04-13 от ВолгГМУ в качестве бальнеологического средства, научно-производственная фармацевтическая лаборатория, Россия (патент 2043100,РФ,1995 «Способ получения липидов из иловых грязей» Симонян А.В., Щербак И.Ф.; патент 2107504,РФ,1998 «Способ получения липидов из иловых грязей» Симонян А.В.).

Липидный комплекс средства имеет следующий химический состав: жиры (триглицериды) - 92%, свободные жирные кислоты - 3%, метиловые эфиры кислот - 2,5%, стерины, тритерпенолы и их эфиры 0,6%, фосфолипиды - 0,1%, серосодержащие вещества - 0,1%, углеводороды и алифатические спирты - 0,5%. Основными компонентами свободных и связанных кислот являются пальмитиновая, олеиновая, линолевая, стеариновая, линоленовая. Для повышения биодоступности липидов наиболее рациональной формой представляется структурированный гель, что позволяет увеличить зону проникновения препарата, легко его дозировать[144].

В работах Толмачевой С.В. (2006), Щетининой Т.А. (2008), Гетманенко А.Ю. (2009), Плетневой И.В. (2011) доказано, что средство оказывает обезболивающее, мембраностабилизирующее, противовоспалительное,

биостимулирующее (улучшает обменные процессы в органах и тканях), ранозаживляющее и кератопластическое (ускоряет процессы клеточной регенерации при вяло гранулирующих и медленно эпителизирующих ранах), антиоксидантное (за счёт активации ферментов тканевого дыхания и связывания продуктов перекисного окисления липидов в органах и тканях) иммуномодулирующее действия [33,148,160].

В подгруппе №3 было решено использовать сочетание выше перечисленных преформированных факторов. Лазерный фотофорез лекарств – это один из современных высокоэффективных методов лазеротерапии, в основе которого лежит одновременное воздействие лазерным излучением и лекарственным веществом, предварительно нанесенным на облучаемую область [94]. По нашему мнению, комплексное воздействие бальнеологического средства «Эльтон» и лазерного излучения может способствовать возникновению синергетического эффекта за счет существенного усиления микроциркуляции, повышения проницаемости эпителия, и ускорения диффузии лекарственного средства в месте воздействия [53,94].

В ходе нашего исследования было выявлено, что гомозиготы Pro/Pro аллельного варианта SNP мутации в гене TLR6 (Ser249Pro) встречаются в 9,2 раза чаще ($p<0,05$) среди пациенток с ХНЦ, чем среди женщин, не имеющих данного заболевания. В связи с этим мы предположили, что технология лазерного фотофореза должна быть индивидуальной и учитывать наличие иммуногенетических нарушений, что может также способствовать повышению эффективности комплексного лечения.

В связи с вышеизложенным, подгруппа №3 была разделена еще на 2 подгруппы. В подгруппу №3а (n=36) вошли пациентки с гомозиготным (Ser/Ser) и гетерозиготным (Ser/Pro) вариантами SNP полиморфизма в гене TLR6 (Ser249Pro), которым применялась «короткая» схема лазерного фотофореза бальнеологического средства «Эльтон». Зона поражения обрабатывалась бальнеологическим средством «Эльтон», после чего, использовалось инфракрасное лазерное облучение шейки матки.

Характеристики лазерного излучения были идентичны характеристикам, применяемым в подгруппе № 1.

В подгруппе №3б (n=28) пациенткам с гомозиготным вариантом SNP мутации Pro/Pro в гене TLR6 (Ser249Pro) была проведена «удлиненная» схема разработанного метода. Поскольку по данным ряда авторов [10,17,29,30,41,42,63,64,89,114,163] наличие точеных нуклеотидных мутаций промоторных участков генов цитокинов и TLR может предполагать затяжное течение заболевания и наличие рецидивов, вследствие нарушенного иммунного ответа, что было также подтверждено в ходе нашего исследования. Было решено увеличить время лазерного воздействия и количество процедур для достижения стойкого клинического эффекта.

Лазерное излучение осуществлялось по вышеописанной методике, однако было увеличено время воздействия до 10 мин, и курс составил 20 процедур, в течение 2 менструальных циклов по 10 сеансов в каждом.

3.5.2. Характеристика больных основной группы после лечения

Изменения в клинической картине пациенток основной группы после проведенного лечения представлены в таблице 3.5.2.1.

Таблица 3.5.2.1.

Динамика клинических симптомов в основной группе

Жалобы пациенток	Основная группа, n=128	
	До лечения	После лечения
Умеренные выделения	88 (68,8%)	10 (7,8%)*
Обильные выделения	14 (10,9%)	0*
Жжение, зуд	14 (10,9%)	0*
Дискомфорт во влагалище	12 (9,4%)	0*
Неприятный запах	90 (70,3%)	4 (3,1%)*
Жалоб нет	16 (12,5%)	114 (89,1%)*

Примечание: достоверность различий показателя в пределах одной группы по отношению к исходному (*) статистически достоверны (p<0,05).

После окончания курса лечения лишь у 7,8% больных жалобы на умеренные выделения не исчезли полностью, хотя данные пациентки отмечали значительное улучшение. Жалоба на неприятный запах влагалищного секрета сохранилась только у 3,1% пациенток, что достоверно ниже, чем в группе сравнения – 9,4% (p<0,05).

При осмотре шейки матки в зеркалах лишь у 6 (4,7%) пациенток визуально сохранились изменения слизистой шейки матки воспалительного характера, в виде локальной гиперемии экзоцервикса, отека, против 20 (31,2%) больных в группе сравнения (p<0,05).

Количество лейкоцитов при микроскопировании значительно снизилось и в группе сравнения и в основной группе во всех наблюдениях, что говорит об эффективности проведенной этиотропной терапии. Результаты микроскопического исследования вагинальных мазков в основной группе после проведенной терапии представлены в таблице 3.5.2.2.

Таблица 3.5.2.2.

Биоценоз влагалища пациенток основной группы после лечения

Исследуемые группы	Наблюдения	Тип биоценоза			
		Нормоценоз	Промежуточный тип	Дисбиоз	Вагинит
Контрольная группа, n=48		28 (58,3%)	20 (41,7%)	0	0
Группа сравнения, n=64	До лечения	0*	2 (3,1%)*	26 (40,6%)*	36(56,3%)*
	После лечения	26(40,6%)*,**	24 (37,5%)**	14(21,9%)*,**	0**
Основная группа	До лечения	0*	0*	14 (43,8%)*	18 (56,2%)*
	После лечения	16 (50,0%)**	16 (50,0%)**	0**	0**
Основная группа (подгруппа № 2), n=32	До лечения	0*	0*	12 (37,5%)*	20 (62,5%)*
	После лечения	14 (43,7%)**	18 (56,3%)**	0**	0**
Основная группа (подгруппа № 3а), n=36	До лечения	0*	0*	20 (55,6%)*	16 (44,4%)*
	После лечения	22 (61,1%)**	14 (38,9%)**	0**	0**
Основная группа (подгруппа № 3б), n=28	До лечения	0*	0*	14 (50,0%)*	14 (50,0%)*
	После лечения	18 (64,3%)**	10 (35,7%)**	0**	0**

Примечание: достоверность различий показателя по отношению к показателю контрольной группы (*) и в пределах одной группы по отношению к исходному (**) статистически достоверны ($p<0,05$).

Как видно из таблицы, во всех подгруппах основной группы дисбиоза влагалища и вагинита обнаружено не было. В то же время в группе сравнения в мазках сохранялись патологические изменения, характерные для дисбиоза влагалища у 21,9% пролеченных. Картина нормоценоза в группе сравнения была выявлена реже на 17,7%, в подгруппе №1 основной группы реже на 8,3%, а в подгруппе №2 - на 14,6% по сравнению с контрольной группой. Однако в

подгруппах №3а и 3б основной группы биоценоз 1 типа превосходил показатели контрольной группы на 2,8% и на 6%, соответственно.

Контрольный бактериальный посев подтвердил устранение инфекционного агента у всех пациенток основной группы, в то время как у 16 пролеченных (25,0%) группы сравнения были определены в 14 случаях Gardnerella vaginalis и в 2 случаях грибы рода Candida в концентрации более 10^5 ($p<0,05$). Эффективность комплексного лечения в основной группе проявилась не только в клиническом выздоровлении, но и элиминации возбудителей из патологического очага.

На рисунке 3.5.2.1 отмечена динамика восстановления лактофлоры влагалища после поведенного комплексного лечения в основной группе.

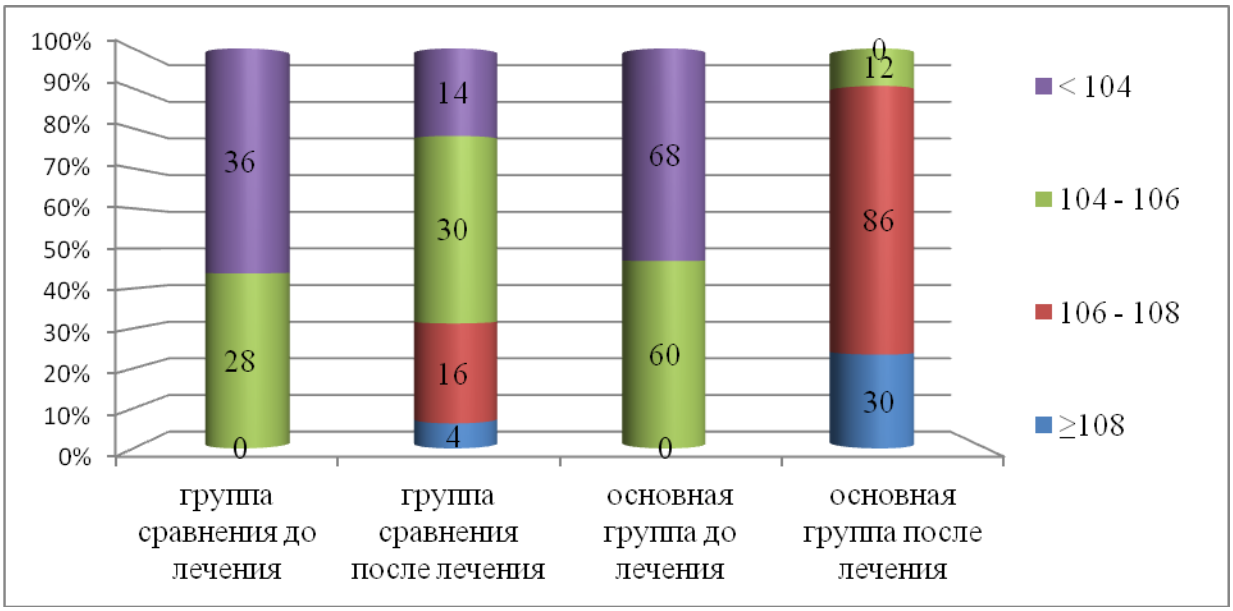


Рисунок 3.5.2.1. Количественное содержание Lactobacillus spp. вагинального секрета после лечения у пациенток основной группы

На диаграмме видно, что восстановление нормальной микрофлоры влагалища отмечено у большинства пациенток основной группы. Так, количество лактобактерий нормализовалось до уровня более 10^8 КОЕ/мл у 30 (23,4%) пациенток основной группы и всего у 4 (6,2%) в группе сравнения ($p<0,05$). Повышение до уровня 10^6 - 10^8 КОЕ/мл было отмечено у большинства женщин в основной группе и лишь у трети пролеченных группы сравнения, что

в 2,6 раза выше (p<0,05). Однако подъем до уровня 10^4 – 10^6 КОЕ/мл произошел в 30 (46,9%) случаях в группе сравнения и в 12 (9,4%) случаях в основной группе (p<0,05). Известно, что снижение лактобацилярной флоры после проведенной санации влагалища может способствовать реинфекции и возникновению дисбиотических проявлений и как следствие, стать причиной самоподдерживающегося воспалительного процесса [129,154,182]. У 18 (28,1%) больных группы сравнения нормальная микрофлора влагалища была угнетена и составила менее 10^4 КОЕ/мл.

Если проанализировать пограничное содержание Lactobacillus spp. (10^4 – 10^6 КОЕ/мл) в основной группе, то в подгруппах пациентки распределились не равномерно. А именно в первой подгруппе – 4 (3,1%) женщины, во второй подгруппе - 8 (6,2%), в подгруппах № 3а и 3б количество лактобактерий было в пределах нормы и не отличалось от показателей контрольной группы.

Надо отметить, что по результатам цитологического скрининга, отчетливо прослеживалась положительная динамика в обеих группах наблюдения. Результаты до и после лечения отражены на рисунке 3.5.2.2.

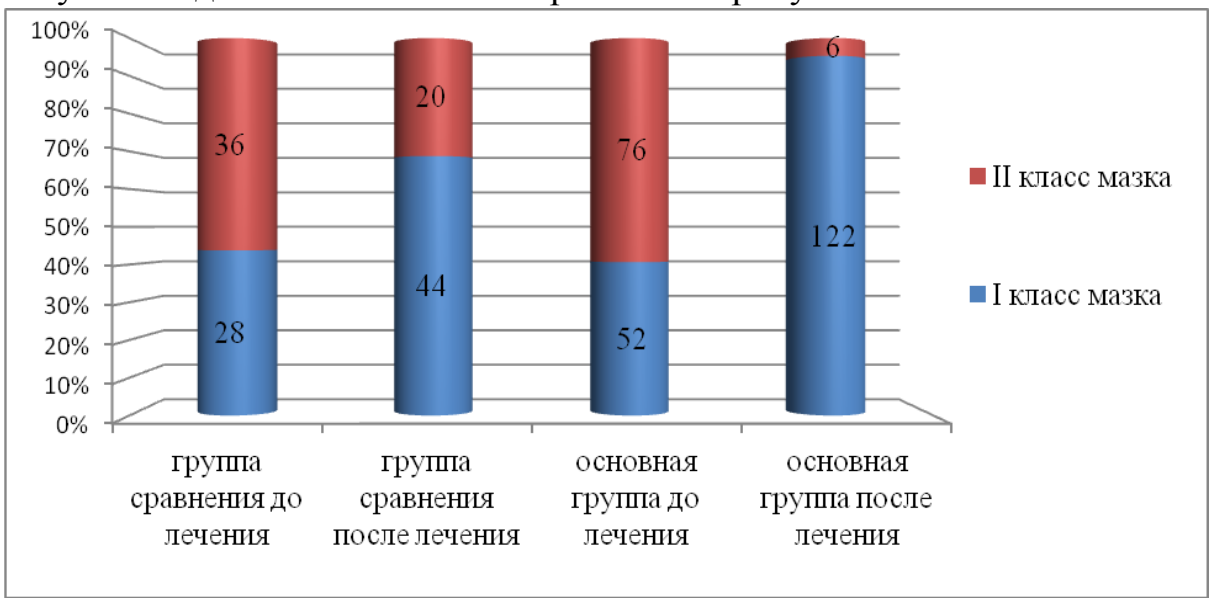


Рисунок 3.5.2.2. Цитологический скрининг пациенток после лечения

Как видно из диаграммы, нормальная цитологическая картина (I класс мазка) была определена у 122 (95,3%) пациентки, что на 26,5% больше при сопоставлении с больными группы сравнения (p<0,05). Воспалительная

цитологическая картина (II класс мазка) сохранилась только у 6 (18,7%) пациенток второй подгруппы основной группы, что в 1,7 раза ниже по сравнению с показателями группы сравнения ($p<0,05$). Цитологическая картина, соответствующая III классу мазка (единичные клетки с аномалиями цитоплазмы и ядер), IV классу (наличие отдельных клеток с явными признаками злокачественности) и V классу (большое число раковых клеток) не обнаружена ни у одной пациентки после проведенной терапии. Кольпоскопическая оценка слизистой оболочки шейки матки отражена в таблице 3.5.2.3.

Таблица 3.5.2.3.

Состояние шейки матки после лечения в основной группе

Исследуемые группы	Наблюдения	Кольпоскопическая картина		
		Нормальная	Аномальная (I степени)	картина воспаления
Группа сравнения, n=64	До лечения	0	18 (28,1%)	46 (71,9%)
	После лечения	24 (37,5%) *	20 (31,2%)	20 (31,2%)*
Основная группа (подгруппа № 1), n=32	До лечения	0	12 (37,5%)	20 (62,5%)
	После лечения	30 (93,8%)*,**	2 (6,3%)*,**	0*,**
Основная группа (подгруппа № 2), n=32	До лечения	0	12 (37,5%)	20 (62,5%)
	После лечения	26 (81,2%)*,**	4 (12,5%)*,**	2 (6,2%)*,**
Основная группа (подгруппа № 3а), n=36	До лечения	0	16 (44,4%)	20 (55,6%)
	После лечения	36 (100%)*,**	0*,**	0*,**
Основная группа (подгруппа № 3б), n=28	До лечения	0	10 (35,7%)	18 (64,3%)
	После лечения	28 (100%)*,**	0*,**	0*,**

Примечание: достоверность различий показателя в пределах одной группы по отношению к исходному (*) и по отношению к показателю группы сравнения (**) статистически достоверны ($p<0,05$).

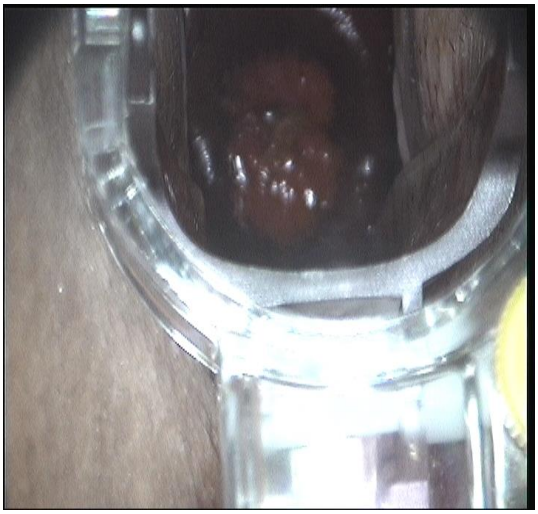
Как видно, после проведенной терапии имелась отчетливая тенденция к нормализации слизистой шейки матки в обеих группах наблюдения. Процент пациенток, имеющих кольпоскопическое описание нормы, во всех подгруппах основной группы был значимо выше, относительно группы сравнения. В подгруппах №3а и 3б основной группы у большинства пролеченных определялся многослойный плоский эпителий. Зона стыка хорошо визуализировалась. После кратковременного воздействия 3% раствором уксусной кислоты отмечался выраженный спазм подэпителиальных сосудов.

После проведения пробы Шиллера многослойный плоский эпителий экзоцервикса окрашивался йодпозитивно, что было интерпретировано как норма.

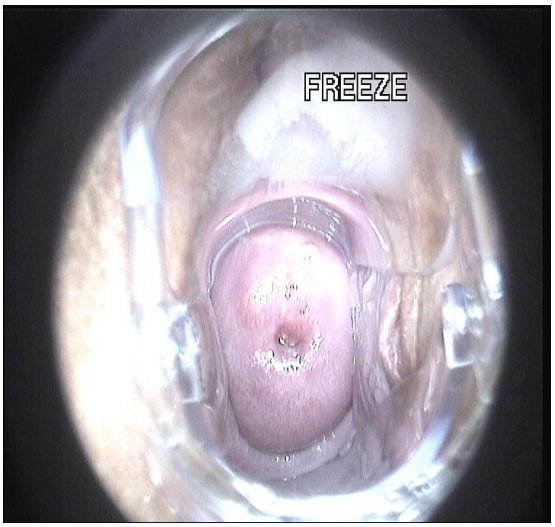
У 38 (29,6%) из 42 (32,8%) пациенток в основной группе с ранее выявленной эктопией шейки матки отмечалась в зоне трансформации плоскоклеточная метаплазия без атипии, что является процессом физиологической эпителизации [127]. Особенно активным этот процесс был в подгруппах №1 и №3, что объясняется стимуляцией репаративных механизмов низкоинтенсивным инфракрасным лазерным воздействием в зоне патологического очага.

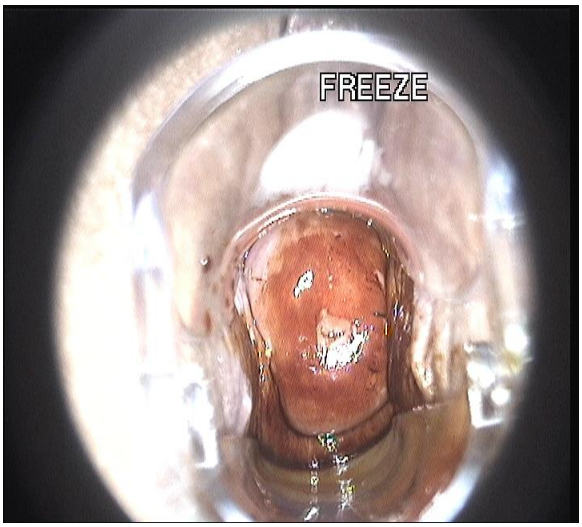
Пример № 2. пациентка М., 25 лет подгруппа №1

Кольпоскопия шейки матки до лечения



Кольпоскопия шейки матки после лечения



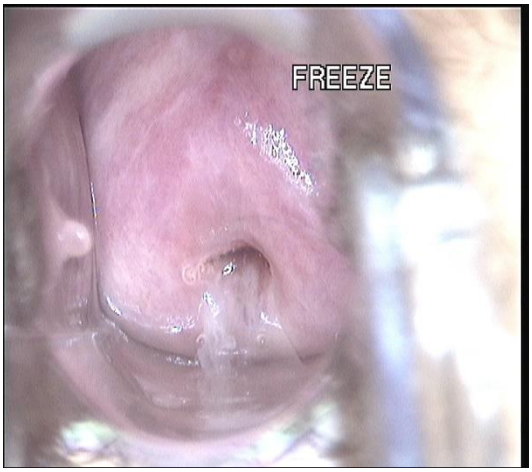


Надо отметить, что явления воспаления, такие как отечность, гиперемия шейки матки, а также количество закрытых желез значительно снизились. Так, в группе сравнения уменьшение воспалительных явлений произошло в 2,3 раза по сравнению с исходным показателем, в подгруппе №2 - в 5,9 раза, в остальных наблюдениях критерии, характерные для воспалительного процесса после лечения отсутствовали.

Пример № 3. пациентка С., 29 лет, подгруппа №2

Кольпоскопия шейки матки до лечения

Кольпоскопия шейки матки после лечения



После обработки 3% раствором уксусной кислоты тонкий ацетобелый эпителий, несмотря на сокращение площади, наблюдался у 8 (6,2%) больных основной группы, в то время как в группе сравнения он визуализировался у 20 (31,2%) пролеченных ($p<0,05$). У этих же больных была отмечена нежная крапчатость. Согласно литературным данным ацетобелый эпителий может быть проявлением незрелой метаплазии, регенерации и репарации, врожденной зоны трансформации, воспаления, поэтому определенно говорить о сохранении воспалительного процесса в шейке матки не правомочно [127].

Если анализировать динамику окрашивания шейки матки раствором Люголя в процессе лечения, то можно сказать о уменьшении площади йоднегативных

малоконтрастных участков с расплывчатыми краями у больных в обеих группах наблюдения, однако несмотря на положительную динамику, эти зоны визуализировались в 20 (31,2%) случаях группы сравнения, что в 2,8 раза меньше относительно исходного состояния ($p<0,05$). В основной группе количество йоднегативных участков сократилось в 14,8 раза после проведенной терапии с 118 (92,2%) до 8 (6,2%), что свидетельствует о более интенсивных процессах регенерации и стимуляции гликогена в эпителии ($p<0,05$). Распределение пациенток с сохранившимися йоднегативными участками представлено на рисунке 3.5.2.3.

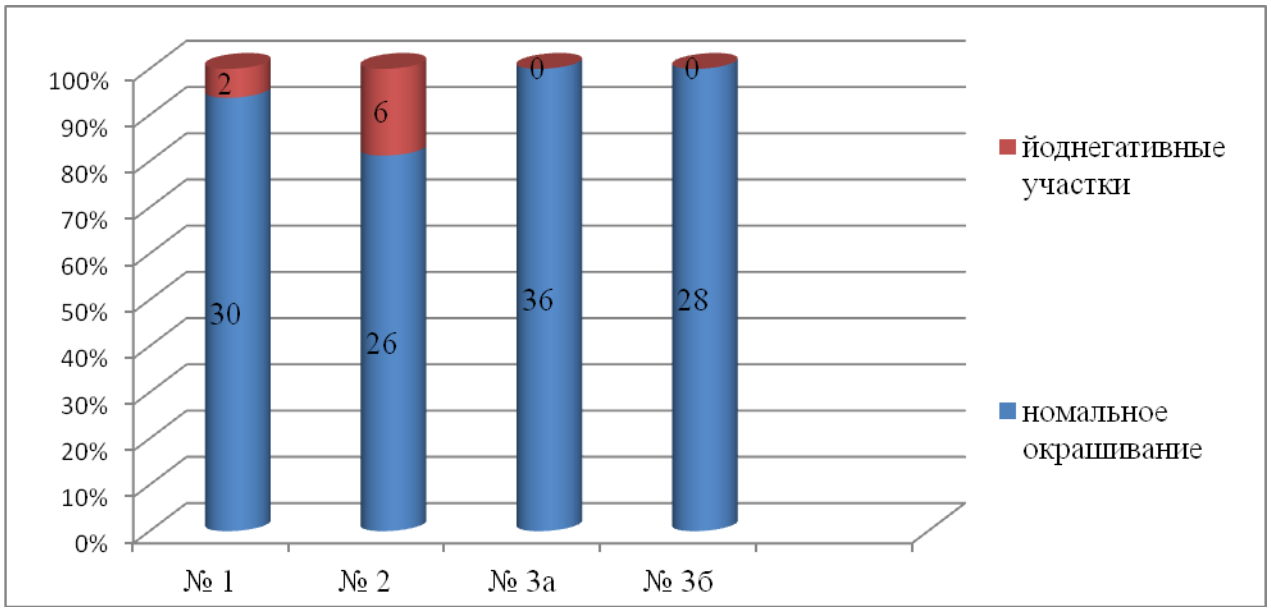
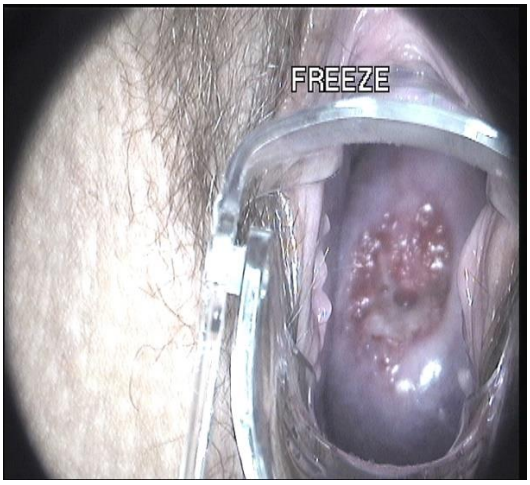


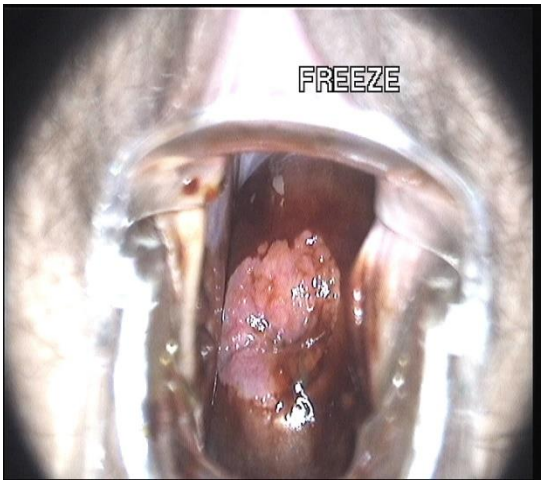
Рисунок 3.5.2.3. Распределение пациенток основной группы по подгруппам с сохранившимися йоднегативными участками после лечения

Как видно из диаграммы, у всех пациенток подгруппы №3а и №3б отмечалось интенсивное окрашивание эпителия в коричневый цвет, что свидетельствовало об отсутствии изменений в структуре многослойного плоского эпителия после проведенного курса комплексной терапии. В подгруппе №1 йоднегативные зоны сохранились у 6,2% пролеченных, а в подгруппе №2 – у 18,7%, что достоверно значимо при сопоставлении с группой, где была применена стандартная терапия - 31,2% ($p<0,05$).

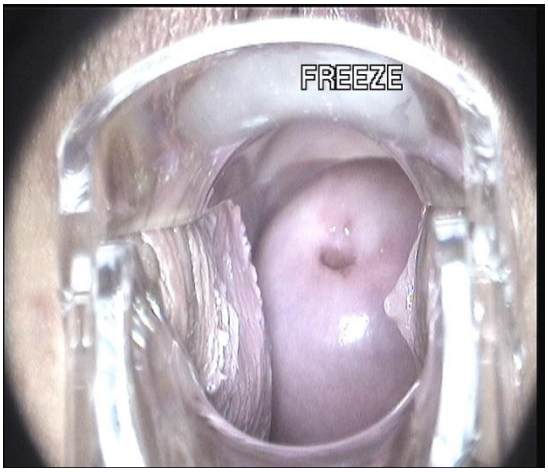
Пример № 4. пациентка Н., подгруппа №3а

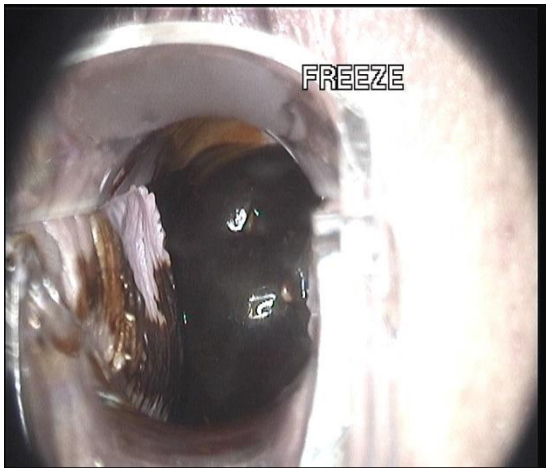
Кольпоскопия шейки матки до лечения





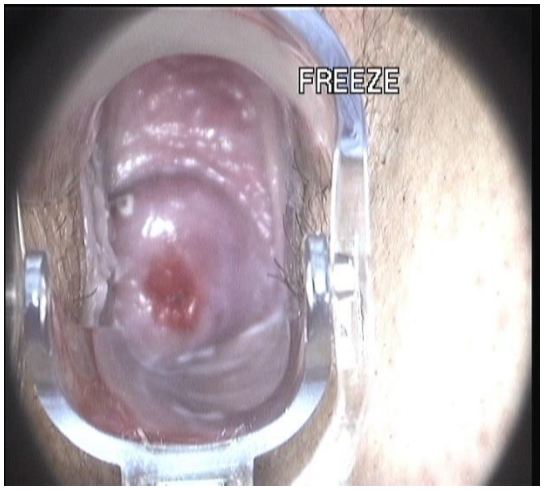
Кольпоскопия шейки матки после лечения

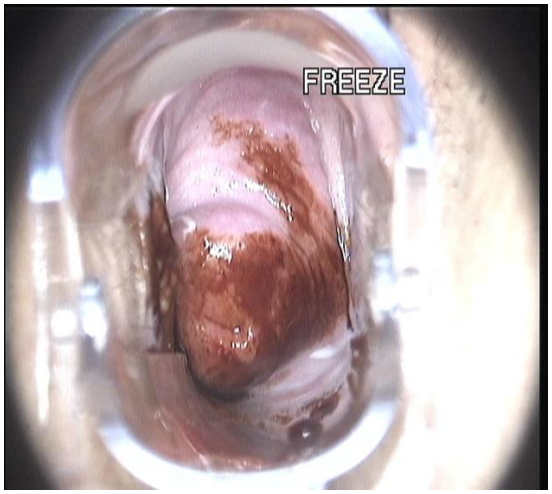




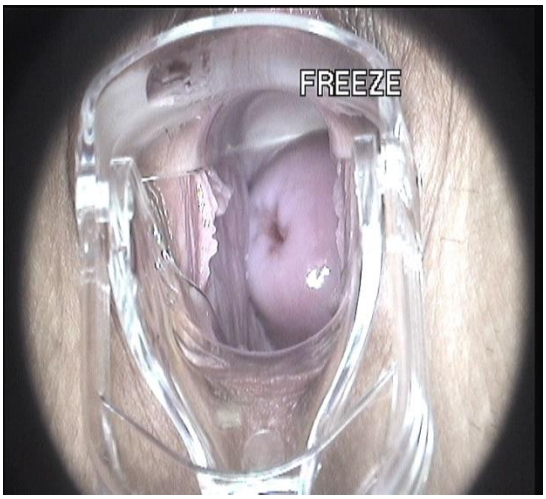
Пример № 5. пациентка М., 25 лет, подгруппа №3б

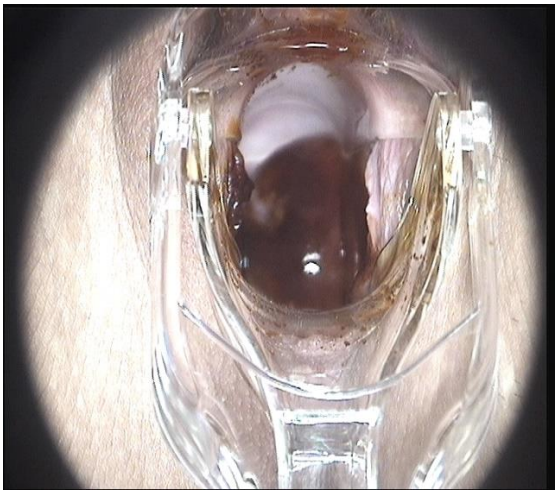
Кольпоскопия шейки матки до лечения





Кольпоскопия шейки матки после лечения





Динамика иммунологических показателей в процессе лечения у пациенток основной групп представлена в таблице 3.5.2.4.

Таблица 3.5.2.4.

Уровни интерлейкинов в периферической крови пациенток основной группы через 2 месяца после лечения {Me (25%-75%)}

Интерлейкин пг/мл	Контрольная группа, n=48	Основная группа, n=128	
		До лечения	После лечения
Ил-6	2,5 (2-6)	8 (5-10) *	2,5 (2-7) **
Ил-10	3 (1-6,5)	9 (7-14) *	3,5 (2-8,5) **
Ил-1β	3,5 (2-9,5)	1 (1-2) *	4 (2-10) **
Ил-4	4,5 (2-7)	1 (1-2,5) *	4 (2-12) **
Ил-17а	117(75-143,5)	353(285-900) *	126,5(61-307) **
IFNγ	12,5 (5-15)	3 (1-6) *	17(7,5-40,5) **
TNFα	2 (0-7,5)	68 (46-101,5) *	3 (0-8) **

Примечание: достоверность различий показателя по сравнению с контрольной группой (*) и значимые различия в пределах одной группы (**) статистически достоверны ($p<0,05$)

Сравнительный анализ состояния цитокиновой сети показал, что уже через 2 месяца после окончания курса лечения в основной группе активность изучаемых иммунологических показателей не отличались от таковых у здоровых женщин в контрольной группе. Так, уровень провоспалительных Ил-6 и Ил-17а снизился в 3,2 и в 2,8 раза, соответственно. В то время как показатель Ил-1β повысился в 4 раза и значимо не отличался от среднего физиологического значения. Была также отмечена динамика снижения уровня противовоспалительного Ил-10 в 2,6 раза, а уровень противовоспалительного Ил-4 достиг нормальных значений при своем увеличении в 4 раза по сравнению с исходным угнетением продукции. Наблюдалась также активация выработки IFNγ в 5,6 раза и подавление TNFα в 22,6 раза, что закономерно при купировании воспалительного ответа. На фоне проводимой терапии в основной

группе нормализовалась продукция всех исследуемых цитокинов, по сравнению с исходными показателями. Полученные результаты цитокинового скрининга свидетельствуют об иммунорегуляторном эффекте в отношении звеньев иммунной системы, активность которых была нарушена.

Детальное изучение иммунологических показателей после лечения во всех группах и подгруппах представлено в таблице 3.5.2.5.

Таблица 3.5.2.5.

Уровни интерлейкинов в периферической крови всех пациенток через 2 месяца после лечения {Me (25%-75%)}

Интерлейкин пг/мл	Контрольная группа, n=48	Группа сравнения, n=64	Основная группа (подгруппа № 1), n=32	Основная группа (подгруппа № 2), n=32	Основная группа (подгруппа № 3а), n=36	Основная группа (подгруппа № 3б), n=28
Ил-6	2,5 (2-6)	2 (2-4,5)	4 (1,5-9,5)	2 (2-7)	2 (2-5,5)	2,5 (2-5)
Ил-10	3 (1-6,5)	2 (1-3,5)	3,5 (2,5-8,5)	4,5 (2-11)	3 (2-6)	3 (2-4,5)
Ил-1β	3,5 (2-9,5)	7 (2-12)	10,5 (4-14)	4 (2-5,5)	3 (1,5-5)	3 (2,5-4,5)
Ил-4	4,5 (2-7)	19,5 (9-32,5) *	16,5 (4-37) *	4 (2,5-9,5) **	3,5 (2-5) **	4 (2-5) **
Ил-17а	117 (75-143,5)	394 (124-560) *	84 (39-125) **	319 (160-771) *	127 (48-207) **	135 (68-213) **
IFNγ	12,5 (5-15)	59 (19-110) *	18 (11-78) **	53 (17-99) *	11 (1,5-24) **	13 (5-21) **
TNFα	2 (0-7,5)	6 (2-12)	1 (0-7,5)	5 (2,5-11)	2,5 (0-7,5)	3 (1-8)

Примечание:
достоверность различий показателя по отношению к показателю контрольной группы (*),
достоверность различий показателя по отношению к показателю группы сравнения (**) $p<0,05$

Так, в группе сравнения уровень IFNγ превосходил показатели контрольной группы в 4,7 раза, Ил-4 был выше - в 4,3 раза, Ил-17а - в 3,3 раза. Повышенные уровни как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов у женщин после лечения могут свидетельствовать о сохранении воспалительного процесса в шейке матки и о его хронизации. Известно, что баланс цитокинов в воспалительный период может отражать соответствующую форму иммунного ответа, будет ли это преимущественно клеточный или гуморальный иммунный ответ [135,143].

В подгруппе №1 основной группы, где была применена вагинальная лазеротерапия, наблюдалось повышение противовоспалительного Ил-4 в 3,6 раза относительно показателя контрольной группы. В подгруппе №2 основной группы, где были применены тампоны с бальнеологическим средством «Эльтон», после лечения отмечались повышенные уровни провоспалительных IFNγ в 4,9 раза и Ил-17а в 2,7 раза. В подгруппах №3а и 3б основной группы значимых различий в состоянии цитокиновой сети относительно здоровых женщин отмечено не было.

Сравнивая полученные результаты между группой сравнения и подгруппами основной группы, значимые результаты были констатированы по концентрациям противовоспалительного Ил-4, провоспалительных Ил-17а и IFNγ. Уровни остальных изучаемых интерлейкинов в сыворотке крови пациенток после проведенного лечения нормализовались и значимо не отличались (рис. 3.5.2.4.).

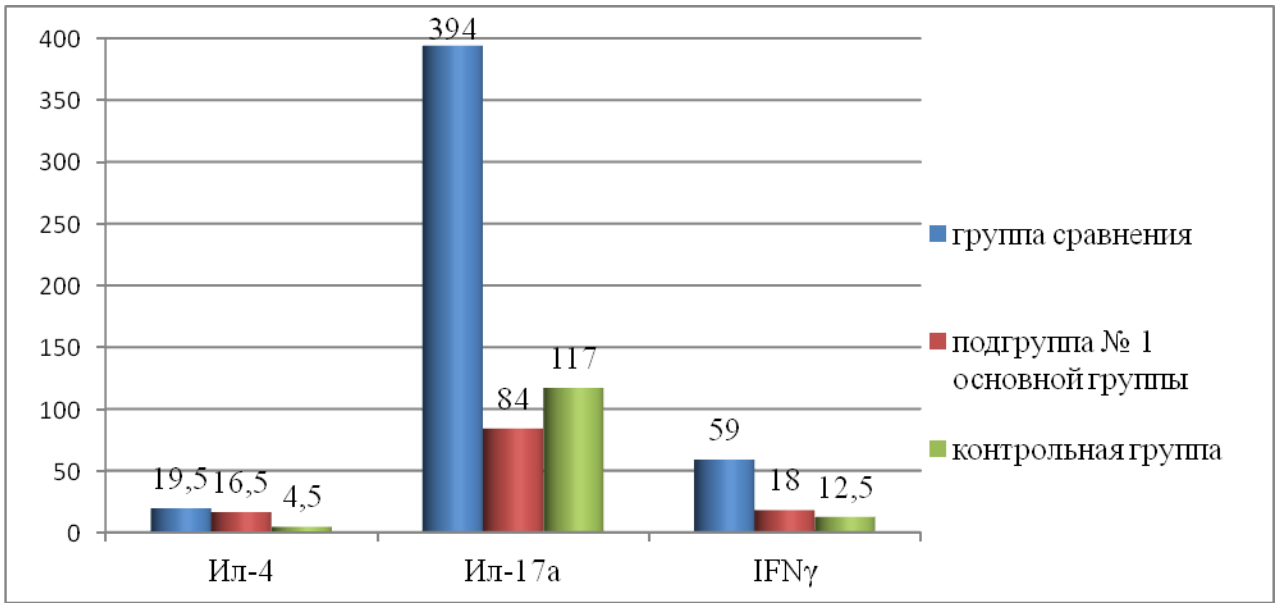


Рисунок 3.5.2.4. Концентрации Ил-4, Ил-17а, IFNγ у пациенток группы сравнения и подгруппой №1 основной группы после лечения

Из диаграммы видно, что у больных подгруппы №1 основной группы сохранилась усиленная выработка противовоспалительного Ил-4, как и в группе сравнения - 16,5 (4-37) пг/мл и 19,5 (9-32,5) пг/мл, соответственно, ($p>0,05$). Важно отметить, что до лечения у большинства больных наблюдалось угнетение выработки Ил-4 - в 2 раза по сравнению с контрольной группой. Повышение уровня Ил-4 после лечения может свидетельствовать об активации угнетенных Т-хелперов второго типа с последующей стимуляцией гуморального звена иммунитета и скорее носит компенсаторный характер, угнетая продукцию провоспалительных цитокинов.

В подгруппе № 1 основной группы уровень провоспалительного IFNγ был приближен к показателю здоровых женщин контрольной группы, а в группе сравнения сохранилась его повышенная концентрация (18 (11-78) пг/мл против 59 (19-110пг/мл)), соответственно ($p<0,05$).

Кроме того, в подгруппе №1 основной группы отмечено значительное снижение уровня провоспалительного Ил-17а до нормального значения в 4,2

раза с 353(285-900) пг/мл до 84 (39-125) пг/мл ($p<0,05$), что на 28% ниже даже относительно показателя пациенток в контрольной группе.

При сравнении полученных результатов в подгруппе №2 основной группы и в группе сравнения, обращает на себя внимание значительные изменения цитокинпродуцирующей активности Т-хелперов первого типа и Т-хелперов 17 (третьего типа) относительно контрольной группы (рис. 3.5.2.5.).

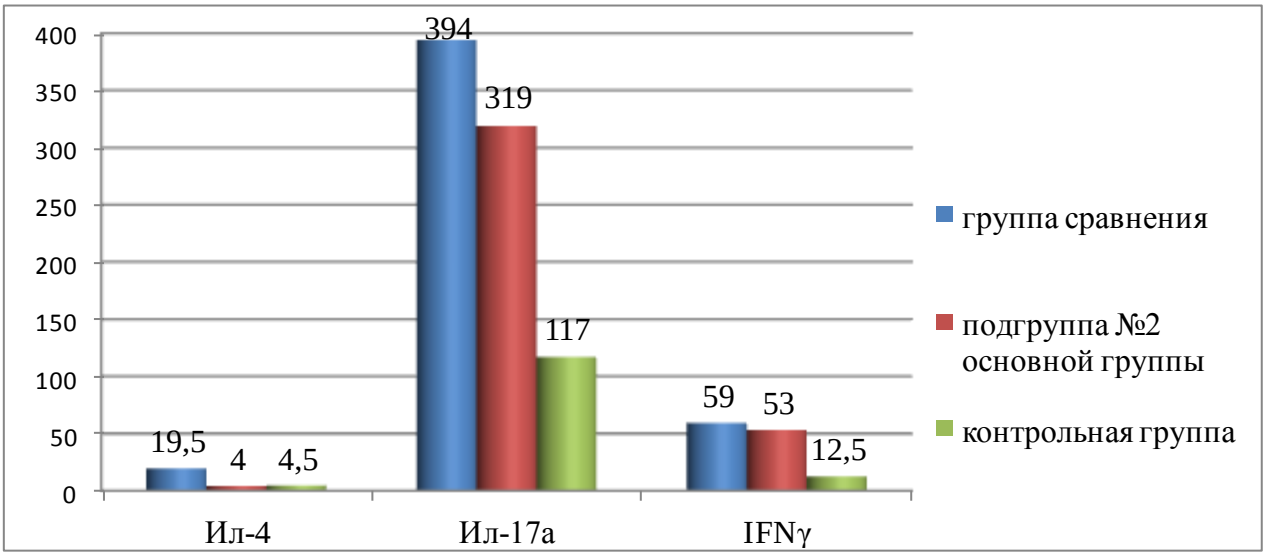


Рисунок 3.5.2.5. Концентрации Ил-4, Ил-17а, IFNγ у пациенток группы сравнения и подгруппой №2 основной группы после лечения

Как видно из диаграммы, в обеих сравниваемых группах после лечения отмечены высокие уровни провоспалительных Ил-17а и IFNγ. В то время как значение Ил-4 в подгруппе №2 основной группы значимо не отличалось от показателя здоровых женщин контрольной группы и составило 4 (2,5-9,5) пг/мл.

Выработка Ил-17а в сравниваемых наблюдениях превышала показатель контрольной группы почти в 3 раза (394 (124-560) пг/мл в группе сравнения и 319 (160-771) пг/мл в подгруппе №2 против 117 (9-32,5) пг/мл в контрольной группе), соответственно ($p<0,05$). Несмотря на сохранившуюся активность, продукция Ил-17а снизилась по сравнению с исходной на 10,8% в группе сравнения и на 9,6% в подгруппе №2 основной группы.

Продукция IFNγ в группе сравнения и подгруппе №2 основной группы значимо между собой не отличалась - 59 (19-110) пг/мл и 53 (17-99) пг/мл, соответственно, и была превышена показателя контрольной группы более чем в 4 раза. Увеличение IFNγ после проведенного курса терапии может указывать на подавление клеток Т-хелперов второго типа, увеличение активности Т–лимфоцитов и макрофагов, направленной на уничтожение захваченного антигена, или приведение его в иммуногенную форму. А сохранившийся повышенный уровень Ил-17а, который относится к Т-хелперам 17-третьего типа Т-хелперов, указывает на активацию защиты от внеклеточных патогенов, которые не смогли эффективно элиминироваться Т-хелперами первого и второго типов. Преобладание активности Th17 и Th1-клеток свидетельствует о склонности к развитию аутоиммунных процессов. В свою очередь аутоиммунные процессы являются одной из причин развития фоновых заболеваний шейки матки.

В ходе исследования при изучении анамнеза у четверти больных сравниваемых групп были выявлены заболевания эндокринной системы, в том числе аутоиммунный тиреоидит был констатирован у 4,7% пациенток основной группы. Возможно, сохраненная повышенная активность Т-хелперов третьего типа в половине случаев связана именно с экстрагенитальной патологией пациенток.

В группах №3а и 3б основной группы были отмечены наилучшие результаты, наиболее близкие к результатам контрольной группы (рис.3.5.2.6.).

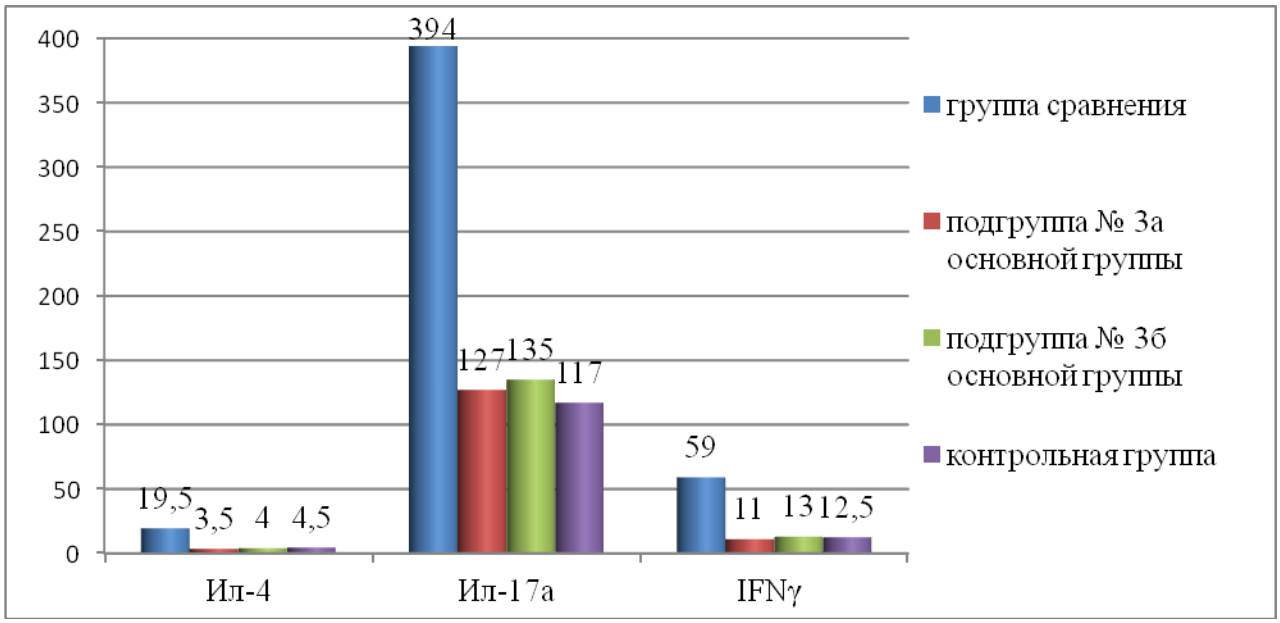


Рисунок 3.5.2.6. Концентрации Ил-4, Ил-17а, IFNγ у пациенток группы сравнения и подгруппами №3а и 3б основной группы после лечения

Так, после проведенной комбинированной терапии, произошла нормализация уровней как провоспалительных, так и противовоспалительных цитокинов.

В динамике было установлено снижение продукции Ил-17а в 2,7 раза в подгруппе №3а и в 2,6 раза в подгруппе № 3б основной группы по сравнению с исходным, что достоверно значимо относительно группы сравнения - 127 (48-207) пг/мл и 135 (68-213) пг/мл против 394 (124-560) пг/мл ($p<0,05$).

К тому же, было выявлено увеличение продукции IFNγ по сравнению с угнетенным исходным (в 3,7 раза - в подгруппе №3а и в 4,3 раза - в подгруппе №3б основной группы). Концентрация IFNγ после терапии, несмотря на активацию продукции, имела физиологическое значение в подгруппах №3а и №3б и значимо не отличалась от показателя в контрольной группе.

Также положительная динамика была отмечена в продукции противовоспалительного Ил-4. Так, до лечения у пациенток наблюдалось некоторое угнетение его выработки (1 (1-2,5) пг/мл) – почти в 4 раза по сравнению с контрольной группой (4,5 (2-7) пг/мл). После проведенного курса

лечения продукция Ил-4 нормализовалась и составила 3,5 (2-5) пг/мл в подгруппе № 3а и 4 (2-5) пг/мл в подгруппе № 3б основной группы. Сравнивая уровни противовоспалительного Ил-4 подгрупп №3а и №3б с уровнем группы сравнения, можно констатировать значимые отличия (3,5 (2-5) пг/мл и 4 (2-5) пг/мл против 19,5 (9-32,5) пг/мл, соответственно) ($p<0,05$).

В целом было установлено, что в большинстве случаев цитокиновый профиль пролеченных женщин нормализовался (табл. 3.5.2.6.).

Таблица 3.5.2.6.

Пациентки с повышенным содержанием исследуемых цитокинов после лечения

Интерлейкин, пг/мл	Группа сравнения, n=64	Основная группа (подгруппа № 1), n=32	Основная группа (подгруппа № 2), n=32	Основная группа (подгруппа № 3а), n=36	Основная группа (подгруппа № 3б), n=28
Ил-6	6 (9,4%)	2 (6,2%)	2 (6,2%)	0*	0*
Ил-10	4 (6,2%)	2 (6,2%)	2 (6,2%)	0*	3 (10,7%)
Ил-1β	6 (9,4%)	2 (6,2%)	2 (6,2%)	0*	0*
Ил-4	38 (59,4%)	18 (56,2%)	4 (12,5%)*	2 (5,5%)*	3 (10,7%)*
Ил-17 а	38 (59,4%)	2 (6,2%)*	14 (43,7%)	0*	3 (10,7%)*
IFNγ	38 (59,4%)	4 (12,5%)*	16 (50,0%)	2 (5,5%)*	1 (3,5%)*
TNFα	0	0	0	0	0

Примечание: достоверность различий показателя по отношению к показателю группы сравнения (*) $p<0,05$

Из таблицы видно, что в группе сравнения уровни противовоспалительного Ил-4 и провоспалительных Ил-17а, IFNγ остались повышенными больше чем у половины пациенток.

Включение в комплекс лечения инфракрасного низкоинтенсивного лазерного облучения шейки матки позволило уменьшить долю пациенток с высоким уровнем Ил-17а с 59,4% до 6,2% и с повышенным уровнем IFNγ с

59,4% до 12,5%. В то же время количество пациенток с измененным уровнем противовоспалительного Ил-4 в подгруппе №1 основной группы осталось неизменно большим, несмотря на то, что у 2 пациенток подгруппы №3а была также отмечена увеличенная экспрессия данного цитокина.

Применение в комплексном лечении ХНЦ на втором этапе бальнеологического средства «Эльтон» так же позволило достичь более эффективного восстановления уровней цитокинов. Так, количество женщин с повышенным уровнем Ил-4 снизилось с 59,4% до 12,5%, а количество женщин с другими повышенными цитокинами было ниже, но достоверно не отличалось. Число больных с высокой выработкой Ил-17а в подгруппе №2 было ниже на 15,7%, а с увеличенной концентрацией IFNγ ниже на 9,4% относительно числа пациенток группы сравнения.

Можно заключить, что применение преформированных факторов в комплексном лечении ХНЦ позволяет ликвидировать воспалительный процесс, что отражается в нормализации цитокинового профиля. Причем примененные дополнительные методы терапии стабилизируют разные цитокины, что позволяет предположить о влиянии этих методов на разные патогенетические механизмы заболевания.

Однако, сохранившаяся усиленная экспрессия IFNγ у 4 пролеченных больных подгруппы №1 (12,5%) в дальнейшем наблюдении за пациентками выразилась в возникновении рецидива заболевания, что на 18,7% ниже относительно пациенток группы сравнения.

В подгруппе №2 рецидив в течение 6 месяцев наблюдения возник у 8 больных, соответственно эффективность терапии составила всего 75,0%, что на 6,2% выше относительно пациенток группы сравнения.

Сочетанное применение бальнео - и лазеротерапии в комплексном лечении ХНЦ в подгруппах №3а и №3б основной группы, оказало более выраженное положительное влияние на течение патологического процесса, регресс клинических проявлений болезни. В результате разработанной схемы индивидуального лечения были получены данные о клиническом

выздоровлении, элиминации условно-патогенных микроорганизмов, восстановлении нормобиоценоза влагалища, нормализации иммунологического статуса и полноценной эпителизации шейки матки у пациенток подгруппы № 3а. Частота рецидива заболевания в этой подгруппе была минимальной. Так, у больных, не имеющих в своем генотипе мутацию гена TLR6, рецидив возник лишь в 2 случаях (5,5%), когда отмечалась повышенная продукция Ил-4 и IFNγ, что подтверждает зависимость рецидивирования процесса от иммунологического дисбаланса. Эффективность лечения в подгруппе №3а составила 94,5%, что в 1,4 раза выше, чем у пациенток группы сравнения.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

На основании анализа литературных данных и результатов собственного исследования имеется необходимость обсуждения некоторых принципиальных положений.

4.1. Роль иммуногенетических нарушений в патогенезе ХНЦ

В последнее время накапливается все больше данных, свидетельствующих о том, что полиморфизм единичных нуклеотидов (SNP) за счет формирования специфических аллелей генов вносит важный вклад в индивидуальные особенности иммунитета [10].

В последние годы выполнено большое число работ, выявивших ассоциации между вариантами аллелей генов регуляторных молекул, реализующих свою активность на различных этапах воспаления, уровнями экспрессии этих генов, характером продукции соответствующих белков и предрасположенностью к тем или иным заболеваниям. Различия в генах, контролирующих защитные реакции организма, могут определять различный характер протекания воспалительного ответа и специфических иммунологических реакций при внедрении патогенов [10,15,18,29,30,41,42,63,64,89,114,172].

Таким образом, на наш взгляд, несомненный интерес представляет изучение влияния полиморфизма генов цитокинов, TLR и генов системы свертывания крови и фибринолиза на частоту возникновения, течение ХНЦ и эффективность лечения.

До разделения на группы у больных ХНЦ (n=192) и женщин, не имеющих патологию шейки матки (n=48), были определены и изучены взаимосвязи точечных нуклеотидных мутаций промоторных участков генов цитокинов и TLR.

В ходе молекулярно-генетического исследования при сравнении частот встречаемости аллелей и генотипов полиморфных маркеров генов противовоспалительного Ил-10 (мутация 1, G-1082A; мутация 2, C-592A;

мутация 3, C-819T) и гена противовоспалительного Ил-4 (C-589-T), а также генов системы свертывания крови и фибринолиза (Лейденовский фактор F5, MTHFR) исследуемых групп статистически значимых отличий выявлено не было.

Изучая точечные нуклеотидные мутации промоторных участков генов провоспалительных цитокинов (TNFα, Ил-1β, Ил-2,Ил-6, Ил-12β, Ил-17a, Ил-17f) у пациенток, страдающих ХНЦ и женщин, не имеющих данного заболевания, обнаружены значимые отличия лишь в распределении частот аллелей и генотипов полиморфного маркера TNFa (G-308A). Выявлено увеличение в 5 раз частоты встречаемости гетерозиготного генотипа GA в группе больных ХНЦ. В свою очередь у пациенток с генотипом GA полиморфного маркера TNFa наблюдалась более активная продукция TNFa относительно пациенток с другими генотипами. Однако уровень TNFα после лечения нормализовался и ни у одной пациентки увеличенной его выработки не наблюдалось.

При изучении полиморфизма генов системы врожденного иммунитета между группой больных ХНЦ и контрольной группой были определены значимые увеличения частот встречаемости: мутантных гомозигот Gln/Gln гена (Arg753Gln) TLR2, гетерозиготного генотипа Phe/Leu TLR3 (Phe412Leu), гетерозиготного генотипа TC гена TLR9 (T-1237C), гетерозиготного генотипа Ser/Pro и мутантных гомозигот Pro/Pro гена TLR6 (Ser249Pro). Так, гетерозиготный генотип Phe/Leu TLR3 (Phe412Leu) в группе больных ХНЦ встречался чаще на 17,7% относительно контрольной группы (42,7% против 25%), а генотип TC гена TLR9 (T-1237C) чаще в 2,1 раза (53,2% против 25%).

Наибольшие различия при изучении точечных нуклеотидных мутаций промоторных участков генов цитокинов, системы свертывания крови и TLR были выявлены при анализе распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена TLR6 (Ser249Pro). Среди пациенток с ХНЦ мутантные гомозиготы Pro/Pro в гене TLR6 (Ser249Pro) встречались в 9,2 раза чаще, чем среди женщин, не имеющих данного заболевания - 37% против 4%

(p< 0,01). Гетерозигота Ser/Pro гена TLR6 (Ser249Pro) выявлялась у больных ХНЦ реже в 1,9 раза, чем у женщин контрольной группы - 22,9% против 44,8% (p< 0,05). В 3,6 раза чаще течение ХНЦ длительностью менее 2 лет наблюдалось у пациенток без мутации в гене TLR6. Кроме того, у таких больных в 3 раза реже данное заболевание длилось более 5 лет. Следовательно, выздоровление наступало скорее, нежели у больных, имеющих в своем генотипе мутантную гомозиготу Pro/Pro TLR6.

Научное значение полученных данных заключается в том, что данные иммуногенетические особенности пациенток могут привести к нарушению цитокинового баланса, что в свою очередь будет способствовать поддержанию длительного вялотекущего воспалительного процесса из-за несовершенства иммунного реагирования.

Таким образом, иммуногенетическое обследование профиля гена TLR6 (Ser249Pro) у женщин с ХНЦ позволяет прогнозировать течение ХНЦ и может быть основой для персонализации профилактических и лечебных мероприятий у данной группы пациенток.

Практическая значимость полученных результатов заключается в обосновании целесообразности разработки нового концептуального подхода в лечении ХНЦ на основе индивидуальных иммуногенетических особенностей пациентки.

4.2. Эффективность современных методов лечения пациенток с ХНЦ

Лечение женщин с ХНЦ широко освещено в литературе. Используются различные методы медикаментозной и немедикаментозной терапии с учетом этиологического фактора и клинических проявлений заболевания. Для достижения клинического выздоровления используются различные лекарственные препараты, которые в настоящее время стали более агрессивными [115,124]. Имеет место проблема полипрагмазии. При этом на организм женщин оказывается значительная медикаментозная нагрузка, что неблагоприятно сказывается на здоровье пациенток. В связи с этим особый

интерес проявляется к немедикаментозным методам лечения и профилактики акушерской и гинекологической патологии [5,7,31,52,54,58,60,87,97].

Современное лечение воспалительного процесса в области шейки матки предполагает антибиотикотерапию с обязательным местным лечением, иммунокоррекцию и восстановление нормального микробиоценоза влагалища [22,36,44,67,83,88,107,113,124,139,153,160,181,184].

Ведущее место занимает антибактериальная терапия, для чего используются антибиотики широкого спектра действия. Наибольшее значение в этиотропной терапии принадлежит антибактериальным средствам группы фторхинолонов и макролидов, также используются антипротозойные и антимикотические средства. Однако, в работах отечественных исследователей, было экспериментально доказано, что роль микробного фактора в хронизации воспалительного процесса остается дискутабельной, поскольку микробный фактор быстро теряет свое первоначальное значение [71]. Имеются научные исследования, которые доказали участие инфекционного агента лишь в 60% случаев [61].

Важное значение имеет местное лечение сопутствующих бактериальных инфекций, с учетом данных микробиологических исследований, и последующая коррекция биоценоза влагалища [23,24,26,27,32,35,56,88,115,126,181].

Несмотря на применение современных методов лечения с использованием различных медикаментозных препаратов, а также физиотерапевтических средств, не всегда их эффективность удовлетворяет требованиям клинической практики. Для уточнения сведений литературных данных одной из задач нашего исследования явилось изучение эффективности общепринятых методов лечения пациенток ХНЦ. Нами проведена оценка общепринятой комплексной терапии через 2 месяца после ее окончания на основании клинико-лабораторных и специальных методов обследования у 64 пациенток группы сравнения.

Характерным для всех обследованных больных являлся рецидивирующий характер течения болезни и длительность заболевания более 1 года. При этом преобладали пациентки с продолжительностью заболевания от 3 до 5 лет (62,5%).

Проанализировав данные о динамике клинических симптомов в процессе лечения, отмечено значительное улучшение самочувствия у 54 (84,4%) пациенток группы сравнения. Положительная динамика выражалась в отсутствии жалоб у большинства пролеченных пациенток. Лишь у 15,6% больных сохранялись жалобы на умеренные выделения, которые уменьшились, но не исчезли полностью. Жалобы на неприятный запах влагалищного секрета отмечены только у 9,4% пациенток, что достоверно ниже, чем до проводимой терапии ($p<0,05$).

Изменения слизистой шейки матки воспалительного характера сохранились у 20 (31,2%) больных группы сравнения, в виде локальной или диффузной гиперемии экзоцервикса, отека, слизисто-гнойных выделений из цервикального канала, несмотря на то, что половина из них жалоб не предъявляла. Снижение количества лейкоцитов и слизи в мазках отмечено у всех пролеченных, явления неспецифического вагинита были полностью устранены, однако у 14 (21,9%) пациенток сохранялись патологические изменения, характерные для дисбиоза влагалища.

Повторный бактериальный посев подтвердил устранение инфекционного агента у 48 больных (75,0%) группы сравнения. Восстановление нормальной микрофлоры влагалища отмечено у четверти пациенток. Так, уровень лактобактерий после лечения повысился до уровня более 10^8 КОЕ/мл у 6,2% пациенток, до 10^6 – 10^8 КОЕ/мл - у 25,0% пролеченных, до 10^4 – 10^6 КОЕ/мл - у 46,9% больных, в 21,9% случаях пул лактобактерий был угнетен и составил менее 10^4 КОЕ/мл.

В результате цитологического скрининга (Pap-smear test) нормальная цитологическая картина (I класс мазка) была определена в 22 (68,8%) случаях,

в то время как воспалительная цитологическая картина (II класс мазка) сохранилась у 10 (31,2%) пациенток.

Нормальная кольпоскопическая картина в группе сравнения констатирована лишь у 24 (37,5%) пациенток. Кольпоскопическая картина воспаления отмечена у 20 (31,2%) пациенток. В остальных случаях (31,2%) наблюдалась аномальная кольпоскопическая картина I степени (слабовыраженные поражения).

Таким образом, анализируя состояние больных группы сравнения можно отметить что, несмотря на положительную динамику клинико-лабораторных показателей полной ликвидации воспалительного процесса не произошло. У трети пациенток сохранилось дисбиотическое состояние микробиоценоза влагалища, что является условием для прогрессирования условно-патогенной флоры и поддержания вялотекущего воспалительного процесса в шейке матки. У больных этой группы клиническое улучшение в течение заболевания носило временный характер, о чем свидетельствует возникший рецидив в течение 6 месяцев наблюдения у трети пациенток.

4.3. Влияние иммуногенетических особенностей пациенток на цитокиновый профиль в процессе лечения

Характер течения и завершения воспалительного процесса напрямую зависят от состояния иммуногенеза. Известно, что хронический вялотекущий воспалительный процесс шейки матки характеризуется угнетением местной иммунологической резистентности, изменением репаративных процессов слизистой [39,82,95,101,147]. Иммунная недостаточность у больных с ХНЦ отражается на особенностях клинического течения заболевания и результатах лечения, является основной причиной хронизации процесса [40,46,82]. Поэтому лечение хронических урогенитальных заболеваний без коррекции иммунных нарушений является малоэффективным [16,22,67].

В доступной нам литературе отсутствуют данные об исследовании цитокинов на системном уровне при ХНЦ.

Изучая иммунологический ответ на проведенную терапию у пациенток в группе сравнения, была отмечена нормализация уровней только четырех цитокинов (Ил-1β, Ил-6, Ил-10, TNFα) из изучаемых семи.

Была отмечена усиленная активность противовоспалительного Ил-4. Его продукция резко возросла с 2 (1-8) пг/мл до 19,5 (9-32,5) пг/мл, более чем в 9,7 раза ($p<0,05$). Повышенное содержание Ил-4 было отмечено больше чем у половины пациенток (59,4%). Вероятно, это свидетельствует об активации Т-хелперов второго типа с последующей стимуляцией гуморального звена иммунитета и носит компенсаторный характер, угнетая продукцию провоспалительного цитокина TNFα. Действительно, продукция TNFα после лечения нормализовалась и ни у одной пациентки увеличенной его выработки не наблюдалось. Полученные данные и выявленные иммуногенетические особенности, в виде увеличения гетерозиготного генотипа GA в гене TNFα, можно считать независимыми друг от друга наблюдениями.

Изучая динамику Ил-17а в ходе исследования, установлено снижение продукции данного цитокина на 10,8% после проведенной терапии с 442 (215,5-665) пг/мл до 394 (124-560) пг/мл. Однако показатель сохранялся высоким, в 3,4 раза. Повышение уровня Ил-17а было констатировано у 19 (59,4%) пролеченных.

После проведенной традиционной терапии выявлено значимое увеличение количества IFNγ по сравнению с исходным более чем в 16 раз (3,5 (1,-6,5) пг/мл против 59 (19-110) пг/мл, $p<0,05$). Повышенная концентрация IFNγ наблюдалась у 19 (59,4%) больных.

Увеличение продукции IFNγ указывает на подавление клеток Т-хелперов второго типа и увеличение активности Т-лимфоцитов. В то же время продукция Ил-6 и TNFα снизилась, что является следствием нормализации повышенной активности макрофагов.

Полученные данные говорят о том, что стандартная терапия, примененная в группе сравнения не достаточно эффективна для восстановления цитокинового равновесия. Можно предположить, что сохраняющаяся иммунологическая

дисфункция является патогенетически значимым механизмом в поддержании хронического вялотекущего воспалительного процесса в шейке матки и снижении ее репаративных процессов, что является основой для периодических обострений заболевания.

Вероятно, недостаточно высокая эффективность терапии ХНЦ в группе сравнения (68,8%) обусловлена нарушением иммунного реагирования в результате дисфункции цитокинового каскада.

На основании мнения ряда авторов о важной роли генов цитокинов и TLR в раскрытии патогенетических звеньев инициации и течения заболеваний [10,15,18,29,30,41,42,63,64,89,114,193,198,199], а также изучив результаты цитокинового профиля, было решено проанализировать влияние иммуногенетических особенностей пациенток на эффективность лечения.

Оказалось, что в группу сравнения вошли 28 пациенток с ХНЦ из 72 женщин с генотипом Pro/Pro в TLR6 (Ser249Pro). Именно у них проведенная терапия была менее эффективна по сравнению с 36 пациентками с гомозиготным Ser/Ser или гетерозиготным Ser/Pro генотипами в гене TLR6 (Ser249Pro). Гиперемия и отечность экзоцервикса сохранились после лечения у 16 (57,1%) носительниц генотипа Pro/Pro в гене TLR6 и лишь у 4 (11,1%) больных без данной мутации ($p<0,05$). Сравнивая результаты бактериологического исследования можно констатировать отсутствие роста патогенной флоры у всех женщин с генотипами Ser/Ser или Ser/Pro в гене TLR6 и лишь у 12 (42,8%) больных с генотипом Pro/Pro в гене TLR6 ($p<0,05$). В остальных случаях был выявлен дисбиоз влагалища. У больных с генотипами Ser/Ser или Ser/Pro в гене TLR6 нормальная цитологическая картина была определена в 33 (91,6%) случаях, а у пациенток с генотипом Pro/Pro в гене TLR6 лишь в 11 (39,2%) случаях, что также достоверно значимо. Измененная кольпоскопическая картина выявлялась у 16 (57,1%) носительниц мутантной гомозиготы и у 4 (11,1%) пациенток с нормальными генотипами ($p<0,05$).

Назначение этиотропной терапии, восстановление биоценоза влагалища и местная иммунокоррекция человеческим интерфероном альфа-2 с таурином не

привело к нормализации уровней трех из исследованных цитокинов: уровни противовоспалительного Ил-4 и провоспалительных Ил-17а, IFNγ остались повышенными больше чем у половины пациенток. Причем у носительниц генотипа Pro/Pro в гене TLR6 (Ser249Pro) усиленная продукция как про- , так и противовоспалительных цитокинов констатирована в 100% случаев. В тоже время у пациенток с генотипами Ser/ Ser и Ser/Pro в гене TLR6 (Ser249Pro) повышенная активность данных цитокинов наблюдалась лишь у трети пролеченных группы сравнения.

Принципиально важно отметить, что у пациенток с мутацией в гене TLR6 частота рецидива заболевания была в 5 раз выше, чем у пациенток этой группы с другими генотипами (57,1% против 11,1%), а эффективность лечения была в 2 раза ниже, соответственно (42,9% против 88,9%).

Практическая значимость полученных данных состоит в обосновании целесообразности усовершенствования и разработки нового концептуального подхода в лечении ХНЦ на основе иммуногенетических критериев.

4.4. Принципы врачебной тактики у больных с ХНЦ на основе иммуногенетических критериев с применением вагинальной лазеротерапии и бальнеологического средства «Эльтон»

В настоящее время известно, что хроническое воспаление сопровождается гипоксией, нарушением кровоснабжения и энергообмена тканей. Все это приводит к нарушению метаболизма клеток. Следовательно, для улучшения клеточного метаболизма в условиях хронического воспалительного процесса важным является улучшение трофики и регенерации тканей. Для достижения вышеперечисленных эффектов в дополнение к базисной терапии были применены физические факторы, такие как лазеротерапия и бальнеотерапия. Выбор лазеротерапии обусловлен тем, что она оказывает многостороннее влияние, обладая стимулирующим влиянием на молекулярном, субклеточном, тканевом, органном или системном уровнях. Многочисленными научными исследованиями доказаны противовоспалительный, анальгезирующий,

репаративный, иммуномодулирующий и другие эффекты лазеротерапии [20,31,73,78,87,151,173]. Преимущество лазерного воздействия перед другими физиотерапевтическими и медикаментозными методами лечения заключается в быстроте наступления клинического эффекта, атравматичности, асептичности, широте диапазона параметров терапевтического воздействия, низком кумулятивном эффекте, комфортности для пациентов [31,45,60,68,73,84,93,140,151,173]. Данные обстоятельства послужили нам основанием для применения вагинальной лазеротерапии в комплексном лечении больных с ХНЦ в качестве лечебного фактора.

Основанием для выбора бальнеологического средства «Эльтон» явились его особенности воздействия на ткань, поврежденную воспалительным процессом. Средство оказывает обезболивающее, мембраностабилизирующее, противовоспалительное, биостимулирующее (улучшает обменные процессы в органах и тканях), ранозаживляющее и кератопластическое (ускоряет процессы клеточной регенерации при вяло гранулирующих и медленно эпителизирующих ранах), антиоксидантное (за счёт активации ферментов тканевого дыхания и связывания продуктов перекисного окисления липидов в органах и тканях) иммуномодулирующее действия [53,99,148,160].

По нашему мнению, комплексное воздействие бальнеологического средства «Эльтон» и лазерного излучения может способствовать возникновению синергетического эффекта за счет существенного усиления микроциркуляции, повышения проницаемости эпителия и ускорения диффузии лекарственного средства в месте воздействия [53,94].

На основании вышеизложенного, после проведенной стандартной терапии, больные основной группы были разделены на 3 подгруппы. В первой подгруппе проводилась вагинальная лазеротерапия, во второй – использовались тампоны с бальнеологическим средством «Эльтон» (гель), в третьей подгруппе применялся лазерный фотофорез бальнеологического средства «Эльтон» (гель).

В ходе нашего исследования было выявлено, что гомозиготы Pro/Pro аллельного варианта SNP мутации в гене TLR6 (Ser249Pro) встречаются в 9,2

раза чаще ($p<0,01$) среди пациенток с ХНЦ, чем среди женщин, не имеющих данного заболевания. В связи с этим мы предположили, что технология лазерного фотофореза должна быть индивидуальной и зависеть от наличия или отсутствия иммуногенетических нарушений, что может также способствовать повышению эффективности комплексного лечения.

В подгруппе №1 схема была идентичной как для пациенток с генотипом Pro/Pro в гене TLR6 (Ser249Pro) (n=10), так и для пациенток с генотипами Ser/Ser и Ser/Pro (n=22). В подгруппе №2 схема была также одинаковой как для пациенток с генотипом Pro/Pro в гене TLR6 (Ser249Pro) (n=6), так и для пациенток с генотипами Ser/Ser и Ser/Pro (n=26).

Подгруппа № 3 была разделена на 2 подгруппы. В подгруппу №3а (n=18) вошли пациентки с гомозиготным (Ser/Ser) и гетерозиготным (Ser/Pro) вариантами SNP полиморфизма в гене TLR6 (Ser249Pro), которым применялась «короткая» схема лазерного фотофореза бальнеологического средства «Эльтон». Зона поражения обрабатывалась бальнеологическим средством «Эльтон», после чего, использовалось инфракрасное лазерное облучение шейки матки. Время воздействия составило 3 минуты, длина волны 0,9 нм, импульсная мощность 5 Вт, частота следования импульса 600 Гц. Сеансы проводились в течение 10 дней, ежедневно, начиная в первую фазу менструального цикла.

В подгруппе №3б (n=14) пациенткам с гомозиготным вариантом SNP мутации Pro/Pro в гене TLR6 (Ser249Pro) была проведена «удлиненная» схема разработанного метода. Поскольку наличие точеных нуклеотидных мутаций промоторных участков генов цитокинов и TLR может предполагать затяжное течение заболевания и наличие рецидивов, вследствие нарушенного иммунного ответа, что было также подтверждено в ходе нашего исследования. Было решено увеличить время лазерного воздействия и количество процедур для достижения стойкого клинического эффекта у пациенток, несмотря на наличие у них мутантной гомозиготы.

Лазерное излучение осуществлялось по вышеописанной методике, однако было увеличено время воздействия до 10 мин, и курс составил 20 процедур, в течение 2 менструальных циклов по 10 сеансов в каждом.

Практическая значимость полученных данных состоит в обосновании дифференцированного подхода в лечении пациенток с ХНЦ на основе иммуногенетического обследования профиля гена TLR6 в позиции - 249.

4.5. Оценка клинической эффективности разработанного метода лечения

Эффективность проводимой терапии оценивалась по тем же критериям, что и в группе сравнения. Положительная динамика отмечена практически у всех пролеченных основной группы.

После окончания курса лечения лишь у 7,8% больных жалобы на умеренные выделения не исчезли полностью, хотя данные пациентки отмечали значительное улучшение. Жалоба на неприятный запах влагалищного секрета сохранилась только у 3,1% пациенток, что достоверно ниже, чем в группе сравнения – 9,4% ($p<0,05$).

При осмотре шейки матки в зеркалах лишь у 6 (4,7%) пациенток визуально сохранились изменения слизистой шейки матки воспалительного характера, в виде локальной гиперемии экзоцервикса, отека, против 20 (31,2%) больных в группе сравнения ($p<0,05$).

Во всех подгруппах основной группы дисбиоза влагалища и вагинита обнаружено не было. В то время как в группе сравнения в мазках сохранялись патологические изменения, характерные для дисбиоза влагалища у 21,9% пролеченных ($p<0,05$). Картина нормоценоза в группе сравнения была выявлена реже на 17,7%, в подгруппе №1 основной группы реже на 8,3%, а в подгруппе №2 - на 14,6% по сравнению с контрольной группой. Однако в подгруппах №3а и 3б основной группы биоценоз 1 типа превосходил показатели контрольной группы на 2,8% и на 6%, соответственно.

Наиболее значимые результаты были прослежены в подгруппах №3а и № 3б, в связи с чем, акцент сделали на этих подгруппах.

В подгруппах №3а и 3б количество лактобактерий было в пределах нормы и не отличалось от показателей контрольной группы. Между тем количественная нормализация Lactobacillus spp. произошла лишь у четверти пролеченных группы сравнения.

Отчетливо прослеживалась и положительная динамика по результатам цитологического скрининга. Так, нормальная цитологическая картина (I класс мазка) была определена у всех пациенток подгрупп №3а и №3б. Воспалительная цитологическая картина (II класс мазка) сохранилась только у 6 (18,7%) пациенток подгруппы №2 основной группы, что в 1,7 раза ниже по сравнению с показателями группы сравнения ($p<0,05$).

Надо отметить, что при кольпоскопическом исследовании шейки матки явления воспаления, такие как отечность, гиперемия, а также количество закрытых желез значительно снизились. Так, в группе сравнения уменьшение воспалительных явлений произошло в 2,3 раза по сравнению с исходным показателем, в подгруппе №2 - в 5,9 раза, в остальных наблюдениях критерии, характерные для воспалительного процесса после лечения отсутствовали.

У большинства пролеченных в подгруппах 3а и 3б основной группы определялся многослойный плоский эпителий. У 19 (29,6%) из 21 (32,8%) пациенток в основной группе с ранее выявленной эктопией шейки матки отмечалась в зоне трансформации плоскоклеточная метаплазия без атипии, что является физиологическим процессом замещения цилиндрического эпителия многослойным плоским, в результате пролиферации [127]. Особенно активным этот процесс был в подгруппах №1 и №3, что объясняется стимуляцией репаративных механизмов низкоинтенсивным инфракрасным лазерным воздействием в зоне патологического очага. У всех пациенток подгруппы №3а и №3б отмечалось интенсивное окрашивание эпителия в коричневый цвет, что свидетельствовало об отсутствии изменений в структуре многослойного плоского эпителия после проведенного курса комплексной терапии. В подгруппе №1 йоднегативные зоны сохранились у 12,5% пролеченных, а в подгруппе №2 – у 25,0%, что достоверно значимо при сопоставлении с

группой, где была применена стандартная терапия - 31,2% ($p<0,05$). Стоит отметить, что регенеративная активность шейки матки была снижена и в подгруппе №1 и в подгруппе №2 у пациенток носительниц мутантной гомозиготы Pro/Pro в гене TLR6. Именно у этих пациенток описаны воспалительная и аномальная кольпоскопические картины. Данное обстоятельство позволяет сделать заключение о влиянии генетически-обусловленного нарушения иммунного равновесия на регенеративную способность шейки матки.

Применение на втором этапе лечения физиотерапевтических методов лечения позволило достичь более эффективного влияния на воспаление и нормализацию уровней исследованных цитокинов. Так, включение в комплекс лечения инфракрасного низкоинтенсивного лазерного облучения шейки матки позволило уменьшить долю пациенток с высоким уровнем Ил-17а с 59,4% до 6,2% и с повышенным уровнем IFNγ с 59,4% до 12,5% ($p<0,05$). Однако количество пациенток с измененным уровнем противовоспалительного Ил-4 в подгруппе №1 основной группы осталось неизменно большим. Хотя и у 2 пациенток подгруппы №3а была также отмечена увеличенная экспрессия данного цитокина. Учитывая, что активным остался только противовоспалительный Ил-4, можно предположить о благоприятном исходе заболевания в результате продленного действия лазерного воздействия.

Применение в комплексном лечении ХНЦ на втором этапе бальнеологического средства «Эльтон» так же позволило достичь более эффективного восстановления уровней цитокинов. Так, количество женщин с повышенным уровнем Ил-4 снизилось с 59,4% до 12,5%, а количество женщин с другими повышенными цитокинами было ниже, но достоверно не отличалось. Число больных с высокой выработкой Ил-17а в подгруппе №2 было ниже на 15,7%, а с увеличенной концентрацией IFNγ ниже на 9,4% относительно числа пациенток группы сравнения.

Можно заключить, что применение преформированных факторов в комплексном лечении ХНЦ позволяет ликвидировать в большинстве случаев

воспалительный процесс, что отражается в нормализации цитокинового профиля. Причем примененные дополнительные методы терапии нормализуют разные цитокины, что позволяет предположить о влиянии этих методов на разные патогенетические механизмы заболевания.

Тем не менее, сохранившаяся усиленная экспрессия IFNγ у 4 пролеченных больных подгруппы №1 (12,5%) в дальнейшем наблюдении за пациентками выразилась в возникновении рецидива заболевания. Таким образом, эффективность терапии в подгруппе №1 составила 87,5%, что на 16,9% выше относительно пациенток группы сравнения.

В то же время у пациенток с мутацией в гене TLR6 частота рецидива была выше на 20,9%, чем у пациенток этой группы с другими генотипами, что, как и в группе сравнения, говорит о влиянии генетических особенностей на течение заболевания, а эффективность проведенной терапии составила70,0% и 90,9%, соответственно.

Эффективность терапии в подгруппе №2 составила всего 75,0%, что на 6,2% выше относительно пациенток группы сравнения.

Такую незначительную разницу можно объяснить также генетическими особенностями, поскольку у 3 из 6 пациенток с генотипом Pro/Pro в гене TLR6 (Ser249Pro), и лишь у 5 больных с другими генотипами повторно появились клинические симптомы и нарушение эпителиального покрова шейки матки в течение 6 месяцев после лечения. Таким образом, в подгруппе №2 рецидив заболевания возник у каждой второй пациентки с мутацией в гене TLR6 и у каждой пятой с нормальным генотипом, соответственно эффективность проведенной терапии в этой составила 50,0 % и 80,7%.

Сочетанное применение бальнео- и лазеротерапии в комплексном лечении ХНЦ в подгруппах №3а и №3б основной группы, оказало более выраженное положительное влияние на течение патологического процесса, регрессию клинических проявлений болезни. В результате разработанной схемы индивидуального лечения были получены данные о клиническом выздоровлении, элиминации условно-патогенных микроорганизмов,

восстановлении нормобиоценоза влагалища, нормализации иммунологического статуса и полноценной эпителизации шейки матки у пациенток подгруппы №3а.

Частота рецидива заболевания в подгруппе №3 была минимальной. Так, у больных, не имеющих в своем генотипе мутацию гена TLR6, рецидив был отмечен лишь в 2 (5,5%) случаях, когда наблюдалась повышенная продукция Ил-4 и IFNγ, что подтверждает зависимость рецидивирования процесса от иммунологического дисбаланса. Эффективность лечения в подгруппе №3а составила 94,5%, что в 1,4 раза выше, чем у пациенток группы сравнения.

Если проанализировать и сравнить полученные результаты только у пациенток, не имеющих в своем генотипе мутантную гомозиготу гена TLR6, то разница в эффективности терапии была незначительная. Между группой сравнения и подгруппой №3а - 5,6%, среди таких же пациенток подгруппы №1 и подгруппой №3а – 3,6% и между подгруппой №2 и подгруппой №3а – 13,8%, что достоверно не значимо и подтверждает иммуномодулирующие свойства лазеротерапии и бальнеологического средства «Эльтон».

Анализ эффективности проведенного лечения ХНЦ у пациенток носительниц гомозиготы Pro/Pro в гене TLR6 (Ser249Pro) обнаружил достоверно значимые различия. Лишь у 3 (10,7%) больных подгруппы №3б основной группы были отмечены повышенные уровни IFNγ, Ил-10 и Ил-17а, что может быть объяснено измененной реактивностью врожденного иммунитета, за счет генотипа Pro/Pro в гене TLR6, что в дальнейшем проявилось вновь возникшими симптомами, дисбиозом влагалища и изменением эпителиального покрова шейки матки.

Несмотря на это, в подгруппе №3б эффективность проведенной терапии составила 89,3% и была выше относительно женщин с генотипом Pro/Pro в гене TLR6 (Ser249Pro) группы сравнения в 2 раза, подгруппы №1 на 19,3% и подгруппы №2 в 1,7 раза.

Таким образом, определение у пациенток с ХНЦ мутации TLR6 (ген – TLR6, полиморфизм – Ser249Pro) позволяет прогнозировать течение заболевания и его

исход. Разработанная схема лечения с комбинацией преформированных факторов на основе иммуногенетических критериев позволила повысить эффективность терапии ХНЦ в 2 раза.

Разработанный метод лазерного фотофореза бальнеологического средства «Эльтон» прост, не инвазивен, атравматичен, легко переносится пациентками, доступен и может быть осуществлен на уровне амбулаторно-поликлинического звена.

Результаты проведенного нами исследования положены в основу способа лечения подострых и хронических неспецифических цервицитов нерожавшим женщинам, включающий курс лазерного фотофореза с применением бальнеологического средства «Эльтон» - гель (патент на изобретение № 2495689 от 20 октября 2013 года, приоритет изобретения от 8 августа 2011 года).

Научное значение полученных данных заключается в патогенетическом обосновании комплексной индивидуальной терапии у больных с ХНЦ.

Практическая значимость полученных данных заключается в повышении эффективности лечения больных с ХНЦ, учитывающего иммуногенетические особенности пациентки.

Индивидуальный подход в лечении ХНЦ позволил достичь у пациенток, носительниц мутантной гомозиготы Pro/Pro в гене TLR6, элиминации микробного агента, восстановления влагалищной микрофлоры, нормализации иммунологического статуса и активации регенеративной способности шейки матки в 89,3% случаях, что выше относительно женщин с таким же генотипом группы сравнения в 2 раза, подгруппы №1 на 19,3% и подгруппы №2 в 1,7 раза.

ВЫВОДЫ

1. Среди пациенток с ХНЦ мутантные гомозиготы Pro/Pro в гене TLR6 в позиции - 249 встречались у каждой третьей обследованной больной, что в 9,2 раза чаще, чем среди женщин, не имеющих данного заболевания - 37% против 4% ($p< 0,01$). Предиктором ХНЦ является носительство гомозиготы Pro/Pro TLR6, которое ассоциировано с рецидивированием и хронизацией воспаления в шейке матки.

2. Для больных ХНЦ на современном этапе характерны стертые клинические формы, длительное рецидивирующее течение, несмотря на проводимую терапию. Эффективность общепринятой терапии ХНЦ в группе сравнения составила 68,8% и была обусловлена сохранением дисфункции цитокинового каскада, в виде повышения сывороточного уровня Ил-4, Ил-17а, IFNγ у 59,4% пациенток. У больных с генотипом Pro/Pro в гене TLR6 эффективность лечения была в 2 раза ниже, чем у пациенток этой группы с другими генотипами (42,9% против 88,9%).

3. Включение в комплекс лечения вагинальной лазеротерапии позволило уменьшить количество пациенток с высоким уровнем Ил-17а в 9,6 раза, а с повышенным уровнем IFNγ в 4,7 раза ($p<0,05$). Сохранившаяся усиленная экспрессия IFNγ в 12,5% случаях в дальнейшем сопровождалась возникновением рецидива заболевания. Эффективность терапии составила 87,5%. Однако у пациенток с генотипом Pro/Pro в гене TLR6 эффективность лечения была ниже на 20,9%, чем у пациенток этой группы с другими генотипами (70,0% против 90,9%).

4. Эффективность комплексной терапии с использованием бальнеологического средства «Эльтон» составила 75,0%, что на 6,2% выше относительно группы сравнения. У больных с генотипом Pro/Pro в гене TLR6 эффективность лечения была ниже на 29,3%, чем у пациенток этой группы с другими генотипами (50,0 % против 80,7%).

5. В результате применения разработанной «короткой» схемы лазерного фотофореза бальнеологического средства «Эльтон» клиническое

выздоровление имело место в 94,5% случаях, что в 1,4 раза выше, чем у пациенток группы сравнения. У больных, не имеющих в своем генотипе мутантную гомозиготу гена TLR6, разницы в эффективности терапии во всех группах достоверно не отмечалось, что подтверждает иммуномодулирующие свойства лазеротерапии и бальнеологического средства «Эльтон».

6. Включение разработанной «удлиненной» схемы лазерного фотофореза бальнеологического средства «Эльтон» пациенткам с генотипом Pro/Pro в гене TLR6 в позиции - 249 позволило нормализовать биоценоз влагалища, цитокиновый баланс и усилить репаративную активность шейки матки в 89,3% случаях, что выше относительно женщин с таким же генотипом группы сравнения в 2 раза, подгруппы №1 на 19,3% и подгруппы №2 в 1,7 раза.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для оценки риска развития хронизации воспалительного процесса в шейке матки и затяжного течения заболевания рекомендуется женщинам с ХНЦ проводить иммуногенетическое обследование профиля гена TLR6 в позиции - 249. Для оценки Т-клеточного звена иммунитета больных ХНЦ рекомендуется определить содержание в периферической крови Ил-4, Ил-17а, IFNγ.
2. На первом этапе лечения с учетом этиологического фактора и чувствительности к антибиотикам рекомендуется назначать пациентке с ХНЦ антибактериальные препараты последнего поколения в средне – терапевтической дозировке по стандартной схеме. С целью местной санации целесообразно применять комбинированные препараты, обладающие противопротозойным и противогрибковым действием, после которых использовать свечи, восстанавливающие лактофлору влагалища.
3. В качестве лечебного фактора в комплексной терапии больных с ХНЦ на втором этапе лечения рекомендуется использовать лазерный фотофорез бальнеологического средства «Эльтон» в «короткой» или «удлиненной» схемах, в зависимости от наличия у пациентки мутантной гомозиготы гена TLR6. Метод заключается в следующем:
    - Пациенткам с гомозиготным (Ser/Ser) и гетерозиготным (Ser/Pro) генотипами в гене TLR6 (Ser249Pro) применить «короткую» схему, для этого зону поражения обработать бальнеологическим средством «Эльтон», после чего, использовать инфракрасное лазерное облучение шейки матки. Время воздействия - 3 минуты, длина волны - 0,9 нм, импульсная мощность - 5 Вт, частота следования импульса - 600 Гц. Сеансы проводить в течение 10 дней, ежедневно, начиная в первую фазу менструального цикла.
    - Пациенткам с гомозиготным вариантом SNP мутации Pro/Pro в гене TLR6 (Ser249Pro) применить «удлиненную» схему разработанного

метода. Лазерное излучение осуществить по вышеописанной методике, при этом необходимо увеличить время воздействия до 10 мин курсом - 20 процедур, в течение 2 менструальных циклов по 10 сеансов в каждом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамишвили Ю.Г. Хронический экзоцервицит на специализированном приеме по патологии шейки матки / Ю.Г. Абрамишвили, А.Е. Маслюк, Л.А. Топорова // Материалы XI Всероссийского форума «Мать и дитя». - М. 2010. - С. 289.
2. Адаскевич В.П. Инфекции, передаваемые половым путем / В.П. Адаскевич. - М. 2004. - 414 с.
3. Азамова З. Ш. Современная диагностика фоновых и предраковых процессов шейки матки как профилактика малигнизации // Международный конгресс «Практическая гинекология: от новых возможностей к новой стратегии»: тез. - М. 2006. - С. 7.
4. Акабирова Ш.А. Эффективность комплексной терапии цервицитов у беременных и гинекологических больных // Материалы IV Съезда акушеров-гинекологов России. - М. 2008. - С. 8-9.
5. Александров В.В. Учебно-методические рекомендации по восстановительной медицине / В.В. Александров, Т.В. Кулишова, Т.В. Крахмелец и др. – Барнаул. 2005. - 175с.
6. Баггиш М. Кольпоскопия. Атлас-справочник / Пер. с англ. В.М. Нечушкиной. – М.: Практика. 2008. – 340 с.
7. Багирова Х.Г. Использование общесистемной магнитотерапии в комплексной реабилитации больных после гинекологических операций: автореф. дисс. ...канд. мед. наук / Х.Г. Багирова. - Иваново. 2007. - 23с.
8. Байрамова Г.Р. Хроничекий рецидивирующий вульвовагинальный кандидоз и патология шейки матки / Г.Р. Байрамова // Патология шейки матки и генитальные инфекции. - 2007. - Т. 9. № 1. - С. 26 - 28.
9. Байрамова Г.Р. Бактериальный вагиноз / Г.Р. Байрамова // Поликлиническая гинекология / Под ред. В.Н. Прилепской. – 2-е изд. доп. – М.: МЕДпресс-информ. 2005. – 126-135 с.
10. Баранов В.С., Баранов Е.В., Иващенко Т.Э. Геном человека и гены "предрасположенности". СПб.: Интермедика. - 2000.- 95-113 с.

11. Басова Т.А. Клиническая значимость экстрагенитальных жалоб у женщин с хроническими цервицитами / Т.А. Басова, И.Е. Рогожина // Материалы II Регионального научного форума «Мать и дитя». - Сочи. 2008. - С. 125-126.
12. Бауэр Г. Цветной атлас по кольпоскопии / Пер. с нем.: Под. ред. С.И. Роговской. - М.: ГЭОТАР-Медиа. 2007. - 288 с.
13. Белокриницкая Т.Е. Цитокины и экспрессия тканевого фактора моноцитами как критерий прогноза течения заболевания и тромботических осложнений у больных с дисплазией и раком шейки матки / Т.Е. Белокриницкая, Ю.А. Витковский, Ю.Н. Пономарева // Акушерство и гинекология. - 2001. - №6. – С. 36-39.
14. Белокриницкая Т.Е. Роль цитокинов в патогенезе нарушений иммунитета и гемостаза у больных с тяжелыми дисплазиями и раком шейки матки / Т.Е. Белокриницкая, Ю.А. Витковский, Ю.Н. Пономарева // Вопросы онкологии. - 2003. - Т. 49. №1. - С. 51-54.
15. Берлин А.А. Способ прогнозирования развития неопластических заболеваний шейки матки на основе анализа иммуногистохимических показателей пролиферации и апоптоза / А.А. Берлин, В.В. Авруцкая, С.О. Дубровина // Материалы VIII Всероссийского форума «Мать и дитя». – Москва. 2006. - С. 331-332.
16. Бесаева Т.П. Коррекция нарушений интерферонового статуса в комплексной терапии эндоцервицитов: дисс. … канд. мед. наук /Т.П. Бесаева.- Москва. 1999. - 146 с.
17. Биджиева Б. А. Генетическая нестабильность и аллельный полиморфизм у больных с дисплазиями и раком шейки матки, вызванными персистенцией ДНК вируса папилломы человека: автореф. дисс. ...канд. мед. наук / Б.А. Биджиева. - Москва. 2008. - 24 с.
18. Биджиева Б.А., Осташкин А.С., Мазуренко Н.Н. Особенности полиморфизма генов цитокинов у больных раком шейки матки // Вопросы онкологии. - 2007. - 53(1). - С. 7.

19. Бочарова О.А. Роль адгезивных нарушений в патогенезе лейкоплакии и возможности их коррекции иммуномодулятором / О.А. Бочарова и др. // Иммунология. - 2005. - Т. 26. № 2. - С. 36-42.
20. Бриль Г.Е. Молекулярно-клеточные механизмы биологического действие низкоинтенсивного лазерного излучения // Седьмой международной конференции по квантовой медицине: тез. - Москва. 2001. С. 19
21. Бутова Е. Н. Роль некоторых инфекций, передаваемых половым путем, в опухолевой трансформации фоновой и предраковой патологии шейки матки у женщин репродуктивного возраста / Е.Н. Бутова, В.Т. Долгих, Н.А. Михайлова // Российский конгресс «Генитальные инфекции и патология шейки матки»: тез. - М. 2004. - С. 43.
22. Быковская О.В. Иммуномодулирующая терапия при хронических цервицитах, обусловленных уреа- и микоплазменной инфекцией / О.В. Быковская // Патология шейки матки. Генитальные инфекции. - 2007. - Т. 9. №1. - С. 24-49.
23. Ваганова И.Г. Хронический экзоцервицит: морфогенез, клиника, принципы терапии: автореф. дисс. ...д-ра мед. наук / И. Г. Ваганова. – Челябинск. 2000. - 36 с.
24. Василькова Е.В. Использование различных методов лечения хронического неспецифического цервицита / Е.В.Василькова, Ф.К.Тетюлина, И.Г.Жуковская // Материалы X юбилейного Всероссийского форума «Мать и дитя». - М. 2009. - С. 270-271.
25. Вишнякова С.В. Возможности оптимизации лечения патологии шейки матки /С.В. Вишнякова и др. // Гинекология. - 2003. - Т. 5. №3. - С. 115-117.
26. Воспалительные заболевания женских половых органов: Брошюра практического гинеколога / А.Л. Тихомиров, С.И. Сарсания. - М.: ГОУ ВПО МГМСУ Росздрава. 2007. - 39 с.
27. Воропаева Е.А. Микроэкология и показатели гуморального иммунитета влагалища женщин с неспецифическими воспалительными

заболеваниями гениталий / Е.А. Воропаева и др. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2005. - № 5. - С. 65-69.

28. Ганковская Л.В. Экспрессия TLR-9 и выработка цитокинов мононуклеарными клетками больных генитальным герпесом. / Лавров В.Ф., Ганковская О.А. // Медицинская иммунология. - 2006. - Т.8. - №2-3. - С. 255-256.
29. Ганковская Л.В. Экспрессия генов Toll-подобных рецепторов слизистой цервикального канала при нормальной и патологически протекающей беременности / Л.В. Ковальчук, И.В. Бахарева, П.А. Кузнецов и др. // Вестник РГМУ. - 2009. - №4. - С. 34-37.
30. Ганковская О.А. Ассоциация полиморфизма гена сигнального рецептора врожденного иммунитета TLR9 с преждевременными родами инфекционного генеза / Л.В. Ганковская, О.В. Макаров, В.Ф. Лавров, В.В. Зверев // Медицинская иммунология. - 2009. - Т.11. - №4-5. - С. 406.
31. Гапеев А.Б. Фармакологический анализ противовоспалительного действия низкоинтенсивного электромагнитного излучения крайне высоких частот / А.Б. Гапеев, К.В. Лушников, Н.К. Чемерис // Биофизика. - 2006. - Т. 51(6). - С. 1055-1068.
32. Генитальные инфекции и патология шейки матки / Под ред. В.Н. Прилепской, Е.Б. Рудаковой. - Омск. 2004. - 212 с.
33. Гетманенко А.Ю. Исследование иммунотропных свойств некоторых природных и синтетических фенольных соединений / А.Ю. Гетманенко, И.В. Плетнёва, Б.Ю. Гумилевский, А.В. Симонян // Медицинская иммунология. - 2009. - Т. 11. - № 4-5. - С. 308.
34. Гизингер О.А. Система провоспалительных цитокинов в цервикальном секрете у женщин с урогенитальным хламидиозом / О.А. Гизингер, И.И. Долгушин // Цитокины и воспаление. - 2006. - Т.5. №4. - С. 13-16.

35. Гинекология: Руководство для врачей / В.Н. Серов, Е.Ф Кира, И.А. Аполихина и др. / Под ред. В.Н. Серова, Е.Ф. Кира. - М.: Литтерра. – 2008. - 840 с.
36. Гинекология: Национальное руководство / Под ред. В.И. Кулакова, И.Б. Манухина, Г.М. Савельевой. М: ГЭОТАР – Медиа. - 2011. - С. 1072-1088.
37. Гольцфарб В.М. Клинико-иммунологические аспекты хронических эндоцервицитов: автореф. дисс. ...канд. мед. наук / В.М. Гольцфарб. – Челябинск. 2005 - 20-21 с.
38. Голубкова О.В. Роль и место озонотерапии в лечении доброкачественных заболевания шейки матки у женщин репродуктивного возраста / О.В. Голубкова, Т.А. Федорова // Гинекология. - 2001. - Т.4. №6. - С. 42
39. Грибова С.Н. Определение уровня провоспалительных цитокинов при неопухолевых заболеваниях шейки матки / С.Н. Грибова, Г.И. Хрипунова // Современные аспекты практической медицины: Материалы научно - практической конференции врачей-интернов. - Саратов. 2008. - С. 75-76.
40. Грибова С. Н. Усовершенствование диагностики и лечения хронического неспецифического цервицита у женщин репродуктивного возраста: автореф. дисс. ...канд. мед. наук / С.Н. Грибова. - Волгоград. 2010. -133-135 с.
41. Гумилевская О.П., Гумилевский Б.Ю. Полиморфизм генов интерлейкина 10 у реципиентов почечного трансплантата // Аллергология и иммунология. - 2008. - Т.9. - №3. - С. 313-314.
42. Гумилевский Б.Ю., Гумилевская О.П. Аллельный полиморфизм генов цитокинов при хроническом отторжении ренального трансплантата // Вестник ВолгГМУ. - 2010. - №3 - С. 62-65.
43. Демьянов А.В. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике / А.В. Демьянов, А.Ю. Котов, А.С. Симбирцев // Цитокины и воспаление. - 2003. - №3. - С. 82-85.

44. Довлетханова Э.Р., Абакарова П.Р. Возможности комплексного лечения хронических цервицитов // Акушерство и гинекология. - 2012. - № 4/1. - С. 83-86.
45. Долгушин И.И. Иммунологические и микробиологические аспекты действия низкоинтенсивного лазера на факторы местного иммунитета репродуктивного тракта женщин с хламидийной инфекцией / И.И. Долгушин, О.А. Гизингер, Л. Ф. Телешева // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2006. - №4. - С. 105-109.
46. Долгушина В.Ф. Иммунологические показатели в дифференциальной диагностике хронических активных и неактивных эндоцервицитов / В.Ф. Долгушина и др. // Журн. Микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2006. - №4. - С. 100-113.
47. Дуб Н.В. Опыт лечения хронического экзоцервицита / Н.В. Дуб и др. // Российская научно-практическая конференция «Патология шейки матки и генитальные инфекции - от теории к практике». - М. 2007. - С. 26.
48. Евтушенко В.П. Клинико-морфологическая характеристика хронических эндоцервицитов: дисс. … канд. мед. наук / В.П. Евтушенко. – Челябинск. 2003. - 181 с.
49. Евтушенко В.П. Состояние клеточного компонента местного иммунитета шейки матки при нормальном и нарушенном слизеобразовании в цервикальном канале у пациенток с хроническим цервицитом /В.П. Евтушенко, В.Ф. Долгушина, В.М. Гольцфарб и др. // Материалы VIII Всероссийского форума «Мать и дитя». - М. 2006. - С. 383.
50. Ежов В.В. Лечение воспалительных заболеваний шейки матки с применением диодного инфракрасного лазера / В.В. Ежов, А.М. Торчинов, А.В. Гейниц и др. // Материалы XI Всероссийского форума «Мать и дитя». - М. 2010. - С. 366-367.
51. Ежова Л.С. Значение цитологического метода исследования в диагностике заболеваний шейки матки // Практическая гинекология.

Клинические лекции / Под ред. В.И. Кулакова, В.Н. Прилепской. – 3-е изд. доп. – М.: МЕДпресс-информ. 2006. - 52-56 с.

52. Жаркин А.Ф., Жаркин Н.А. Вводный курс лекций по нелекарственным методам профилактики и лечения в акушерстве и гинекологии. Учебное пособие. - Волгоград. 2001. - 112 с.
53. Жаркин Н.А. Эффективность влагалищной лазеротерапии и бальнеологического средства «Эльтон» в комплексном лечении больных с эктопией шейки матки / Н.А.Жаркин, А.В.Симонян, Н.А.Бурова и др. // Материалы XI Всероссийского форума «Мать и дитя». - М. 2007. - С. 400-401.
54. Жаркин Н.А. Влагалищная лазеропунктура при гинекологических заболеваниях / Н.А. Жаркин, В.П. Гончаренко, И.В. Захаров. // Сборник тезисов и докладов Трудов II научно-практической конференции Традиционные методы лечения в акушерско-гинекологической практике. М. 2003. - С. 56-58.
55. Жуковская И.Г. Использование титансодержащих препаратов в комплексной терапии хронических цервицитов: автореф. дисс. ...канд. мед. наук / И.Г.Жуковская – Пермь. 2007. - 23с.
56. Заболевания шейки матки, влагалища и вульвы / Под ред. В.Н. Прилепской. - М.: МЕДпресс-информ. 2005. - 432 с.
57. Захарова Н.Б. Диагностическое значение исследования цитокинового профиля слизистой шейки матки при неопухолевых заболеваниях / Н.Б. Захарова, С.Н. Грибова, Г.И. Хрипунова // Клиническая лабораторная диагностика. - 2008. - №9. - С. 34-35.
58. Зуев В.М. Применение лазерного излучения для лечения патологии шейки матки // Заболевания шейки матки, влагалища и вульвы: Клинические лекции / Под. ред. проф. В.Н. Прилепской. - 4-е изд. - М.: МЕДпресс-информ. 2005. - 183-200 с.

59. Иванов А.М. Полиморфизм рецепторов врожденного иммунитета / А.М. Иванов, А.В. Апчел, Т.А. Камилова и др. // Вестник Рос. Воен. - мед. акад.- 2009. - № 1 (25). - С. 172-184.
60. Исаев А.К. Роль магнитно-лазерной терапии в восстановлении репродуктивной функции больных с острыми воспалительными заболеваниями придатков матки // Проблемы репродукции. - Т.8. - 2002 - №6 - С. 34-36.
61. Инфекции в акушерстве и гинекологии: Руководство для врачей / Под ред. О.В. Макарова, В.А. Алешкина, Т.Н. Савченко. - М.: МЕДпрессинформ. 2007. - 420 с.
62. Инфекции, передающиеся половым путем / Под ред. Н.Г. Короткого, В.Ю. Уджуху. - М. 2006. - 86 с.
63. Кабурнеева О. Г. Состояние иммунной системы и полиморфизм генов цитокинов при диализных перитонитах: автореф. дисс. ...канд. мед. наук /О.Г. Кабурнеева - Волгоград. 2012. - 5-6 с.
64. Кабурнеева О. Г. Особенности иммунологических нарушений у пациентов перитонеального диализа с разной степенью риска к развитию перитонита / О.Г. Кабурнеева, Б.Ю. Гумилевский, О.П. Гумилевская // Вестник ВолгГМУ - 2011. - №3. - С. 88-92.
65. Казачков Е.Л. Структурный анализ процессов обновления эпителия шейки матки при хроническом цервиците / Е.Л. Казачков, Э.А. Казачкова, О.В. Чигринец // Актуальные проблемы морфологии: Сб. науч. тр. / Под ред. Н.С. Горбунова. - Красноярск. 2004. - С. 126-128.
66. Казачкова Э.А. Этиология, патогенетические аспекты, оптимизация диагностики и терапии хронических цервицитов / Э.А. Казачкова, Е.Л. Казачков, Б.И. Медведев // Материалы VI Всероссийского форума «Мать и дитя». - Москва. 2004. - С. 367-368.
67. Казачкова Э.А. Локальная иммунореабилитация при хроническом цервиците / Э.А. Казачкова, Е.Л. Казачков, О.В. Чигринец // Российский

конгресс «Генитальные инфекции и патология шейки матки». - М. 2004. - С. 50.

68. Калинина И.Ю. Лечение послеродовых гнойных ран промежности применением низкоэнергетического лазера: автореф. дисс. …канд. мед. наук / И.Ю. Калинина - Ростов-на-Дону. 2003. - 21 с.
69. Качалина Т.С. Алгоритм обследования пациенток с патологией шейки матки / Т.С. Качалина и др. // Международный конгресс «Практическая гинекология: от новых возможностей к новой стратегии». - М. 2006. - С. 78.
70. Кетлинский С.А. Цитокины. - М.: Фолиант. 2008. - 552 с.
71. Кира Е.Ф. Инфекционно-воспалительные заболевания женских половых органов / Е.Ф. Кира // Гинекология: руководство для врачей.- М.: «Литтерра». 2008. - С. 418-475.
72. Кожемятова И.В. Диагностическая значимость маркеров структуропостроения цервикальной слизи и показателей местного иммунитета при заболеваниях шейки матки: автореф. дисс. ...канд. мед. наук / И.В. Кожемятова - Волгоград. 2010. - 21-24 с.
73. Козель А.И., Попов Г.К. Механизм действия лазерного облучения на тканевом и клеточном уровнях // Вестник РАМН. - 2000. - №2. - С. 41-43
74. Клиническая иммунология и аллергология / Под ред. А. В. Караулова. – М.: 2002. - 650 с.
75. Ковалев М.И. Низкоинтенсивное и высокоэнергетическое лазерное излучение в акушерстве и гинекологии. М: Техника. 2000. - 170 с.
76. Ковальчук Л.В. Иммунология. Практикум. / Г.А. Игнатьева, Л.В. Ганковская, М.В. Хорева и др. // М.: «ГЭОТАР-Медиа». - 2010. – 174 с.
77. Кондратьева Е.А. Алгоритм диагностики и ведения больных с патологией шейки матки // Гинекология. - 2003. - Т. 5. - №4. - С. 166-168.
78. Кондратьева Е. А. Низкоинтенсивная лазерная терапия в комбинированном лечении фоновых и предраковых заболеваний шейки

матки: автореферат дисс. ...канд. мед. наук / Е.А. Кондратьева - Обнинск. 2004. - 19-20 с.

79. Кондриков Н.И. Экзо- и эндоцервицит: морфологические аспекты // Поликлиническая гинекология / Под ред. В.Н. Прилепской. - 2-е изд. доп. – М.: МЕДпресс-информ. 2005. - 47-56 с.
80. Кононов А.В. Инфекции, передаваемые половым путем и экзоцервикс /А.В. Кононов, Н.И. Новиков, И.Г. Ваганова. - М.: Медицина. 2002. - 176 с.
81. Кореева Н.В. Оптимизация комплексного лечения фоновых заболеваний шейки матки у женщин репродуктивного возраста: автореф. дисс. … канд. мед. наук / Н.В. Кореева - Москва. 2007. - 21 с.
82. Костава М.Н. Роль воспаления в диагностике и лечении патологии шейки матки // Гинеколог. - 2005. - №12. - С. 27-30.
83. Костава М.Н. Иммуномакс в комплексной терапии пациенток с хроническим экзоцервицитом и папилломавирусной инфекцией / М.Н. Костава, О.В. Быковская // Международный конгресс «Практическая гинекология: от новых возможностей к новой стратегии». - М. 2006. - С. 88-89.
84. Кузьмина И.Ю., Краузе Т.М. Современные аспекты лазеротерапии // Международный медицинский журнал. - 2006. - №2. - С. 106-110.
85. Кустаров В.Н. Патология шейки матки / В.Н. Кустаров, В.А. Линде. – СПб.: Изд-во «Гиппократ». 2002. - 144 с.
86. Лавров В.Ф. Изучение экспрессии генов Toll-подобных рецепторов и цитокинов при инфекции, вызванной Candida albicans in vitro / Л.П. Блинкова, Л.В. Ковальчук, О.А. Ганковская // Российский иммунологический журнал. - 2008. - Т.2(11). - №2-3. - С. 148.
87. Лазеры в клинической медицине: Руководство для врачей / Под ред. С. Д. Плетнева. М.: Медицина. 2005. - 362 с.

88. Майборода В.С. Эффективность лечения заболеваний шейки матки в женской консультации / В.С. Майборода, Е.С. Свердлова // Материалы IV Съезда акушеров-гинекологов России. - М. 2008. - С. 406-407.
89. Малежик Л.П. Состояние врождённого иммунитета при острой респираторной вирусной инфекции у детей-носителей полиморфизма генов TOLL-4 (Asp299Gly) и TOLL-6 (Ser249Pro) рецепторов / Л.П. Малежик, Н.И. Карпова, М.С. Малежик // Забайкальский медицинский вестник. - 2012. - № 2. - С. 4-8.
90. Манухин И.Б. Лазерная терапия в комплексном лечении герпетического цервицита /И.Б. Манухин и др. // Акушерство и гинекология. - 2000. - № 2. - С. 38-41.
91. Манухин И.Б. Проблемы, и перспективы цервикального скрининга / И.Б. Манухин, Г.Н. Минкина // Акушерство и гинекология. - 2006. - №2. - С. 51 -54.
92. Меджитов Р.А., Джаневей Ч. И. Врожденный иммунитет // Казанский медицинский журнал. - 2004. - 85(3). - С. 161-167.
93. Москвин С.В. К вопросу о механизмах терапевтического действия низкоинтенсивного лазерного излучения (нили) // Вестник новых медицинских технологий. - 2008. - № 1. - С. 42-45.
94. Москвин С.В. и др. Лазерофорез гиалуроновой кислоты и лазерные косметологические программы (технология ЛАЗМИК). – М. Тверь: Триада. 2010. - 96 с.
95. Мураков С.В. Иммунологический гомеостаз шейки матки и целостность её архитектоники / С.В. Мураков, Ю.А. Иванова, Д.А. Пустовалов и др. // Материалы XI междунар. конгресса «Здоровье и образование в XXI веке». - М. 2010. - С. 128-129.
96. Мусаева К.М. Генетические аспекты фоновых заболеваний шейки матки / К.М. Мусаева, И.М. Ордиянц // 10-я Поволжская научно- практическая конференция «Современные пути решения актуальных проблем акушерства и гинекологии»: тез. - Саратов. 2005. - С. 167-168.

97. Никитина Е.В. Применение комплекса эфферентных методов лечения (ультрафиолетовое облучение крови в сочетании с внутривенным лазерным облучением крови и аутоиммунизацией) в терапии хронических врспалительных заболеваний герпетической этиологии / Е.В.Никитина, И.Н.Алексеева // Материалы XI Всероссийского форума «Мать и дитя». - М. 2010. - С. 460-461.

98. Новиков Е.И. Особенности местного иммунитета шейки матки у женщин с невынашиванием беременности инфекционного генеза / Е.И. Новиков, А.И. Федорова, Е.И. Сурминов // Материалы XIII всероссийского научного форума «Мать и дитя». - М. 2012. - С. 123-124.

99. Новый комплексный метод лечения цервицитов с использованием бальнеологического средства «Эльтон» / Жаркин Н.А., Щетинина Т.А., Симонян А.В. // Вестник ВолГМУ. - 2007. - №4. - С. 15-17.

100. Олина А.А. Изменение колонизационной резистентности при нарушении микробиоценоза влагалища //Материалы IV Съезда акушеров-гинекологов России. - М. 2008. - С. 406-407.

101. Особенности иммунного статуса у больных хроническим рецидивирующим хламидийным цервицитом на фоне деформации шейки матки / Э.А. Баткаев, С.В. Мураков, Л.И. Глебова и др. // Материалы XVII междисциплинарного симпозиума "Новое в дерматовенерологии и косметологии, андрологии, акушерстве и гинекологии: наука и практика". - М. 2011. - С. 61.

102. Пат. №2385460 РФ, МПК G01N 33/53 Способ оценки активности локального воспаления при фоновых заболеваниях шейки матки / С.Н. Грибова, Н.Б. Захарова, Г.И. Хрипунова (РФ). - №2009109179/15. Заявл. 16.03.2009. Опубл. 27.03.2010. - http://www.fips.ru.

103. Пат. 2134535 РФ. A61B5/04 Способ диагностики воспалительных заболеваний шейки матки и влагалища / В.А. Япеев. - №97120011/14. Заявл. 24.11.1997. Опубл. 20.08.1999. - http://www.fips.ru.

104. Пат. 2232027 РФ. A61K38/19, A61K38/20, A61P37/02 Способ лечения псевдоэрозии шейки матки с использованием локорегионарной цитокинотерапии / С.В. Вишнякова, О.Г. Пекарев, А.В. Ефремов, В.С. Ширинский, Е.Р. Черных (НГМА). - №2002126840/14. Заявл. 07.10.2002. Опубл. 10.07.2004. - http://www.fips.ru.

105. Пат. 2240041 РФ. A61B8/00 Способ диагностики воспалительных заболеваний шейки матки / В.И. Краснопольский, Н.В. Дуб, С.Н. Буянова, М.А. Чечнева, Е.Ю. Алексеева (МОНИИАГ). - №2003105520/14. Заявл. 27.02.2003. Опубл. 20.11.2004. - http://www.fips.ru.

106. Пат. 2327485 РФ. A61K38/20, A61K38/21, A61B18/22, A61P15/00 Способ лечения эктопии шейки матки / М.М. Падруль, А.А. Олина, В.М. Падруль (ГОУ ВПО ПГМА им. акад. Е.А. Вагнера). - №2006145491/14. Заявл. 20.12.2006. Опубл. 27.06.2008. - http://www.fips.ru.

107. Патология влагалища и шейки матки / Под. ред. В.И. Краснопольского. - М.: Медицина. 2001. - 266 с.

108. Патология шейки матки и генитальные инфекции / Под ред. В. Н. Прилепской. – М.: МЕДпресс-информ. - 2008. - 384 с.

109. Патофизиология: учебник: в 2 т. / Под ред. В.В. Новицкого, Е.Д. Гольдберга, О.И. Уразовой. - 4-е изд., перераб. и доп. – ГЭОТАР – Медиа. 2009. - Т. 2. - 640 с.

110. Пауков В.С. Роль макрофагов в патогенезе ограниченного воспаления / В.С. Пауков, С.А. Даабуль, Н.Ю. Беляева // Архив патологии. - 2005. - Т. 67. - №4.- С. 3-10.

111. Пигарева Л.Н. Факторы риска и цервикальная патология у молодых / Л.Н. Пигарева и др. // Материалы X юбилейного Всероссийского форума «Мать и дитя». - М. 2009. - С. 382-383.

112. Плескановская С.А. Иммуногематологические критерии диагностики хронического эндоцервицита / С.А. Плескановская, М.Р. Оразов // Материалы X юбилейного Всероссийского форума «Мать и дитя». - М. 2009. - С. 378-379.

113. Поликлиническая гинекология / Под ред. В. Н. Прилепской. - М.: МЕДпресс-информ. 2005. - 640 с.

114. Полиморфизм в локусе гена TNF-α у больных с дисплазиями и раком шейки матки / Б.А. Биджиева, А.С. Осташкин, И.В. Цыганова, Н.В. Снигур, Е.Б. Савинова, Н.Н. Мазуренко // Молекулярная медицина. - 2008. - 5(1). - С. 45-50.

115. Практическая гинекология / Под ред. В.И. Кулакова, В.Н. Прилепской. - М.: МЕДпресс-информ. 2006. - 736 с.

116. Прилепская В.Н. Профилактика рака шейки матки: методы ранней диагностики и новые скрининговые технологии // Патология шейки матки и генитальные инфекции. - 2007. - Т. 9. №1. - С. 12-14.

117. Прилепская В.Н. Экзо- и эндоцервициты. Возможности терапии препаратом для локального применения // Российский конгресс «Генитальные инфекции и патология шейки матки». - М. - 2004. - С. 71.

118. Прилепская В.Н. Эпидемиология, этиология и факторы риска заболеваний шейки матки // Поликлиническая гинекология / Под ред. В.Н. Прилепской. – 2-е изд. доп. – М.: МЕДпресс-информ. 2005. – 9-20 с.

119. Прилепская В.Н. Патология шейки матки / В.Н. Прилепская, Н.И. Кондриков, Е.В. Гогаева // Практическая гинекология. Клинические лекции / Под ред. В.И. Кулакова, В.Н. Прилепской. - 3-е изд. доп. - М.: МЕДпресс-информ. 2006. - 9-39 с.

120. Прилепская В.Н. Профилактика рака шейки матки. Методы ранней диагностики и новые скрининговые технологии // Клиническая гинекология: Избранные лекции / Под. ред. В.Н. Прилепской. - М.: МЕДпресс-информ. 2007. - 128-136 с.

121. Протасов О. В. Информативность факторов врожденного иммунитета в прогнозе течения инфекционных заболеваний: автореф. дисс. ...канд. мед. наук / О.В. Протасов - Санкт- Петербург. 2012. - 18 с.

122. Протасов О.В. Значение анализа генетических полиморфизмов факторов иммунитета в профилактике и диагностике инфекционных

заболеваний / О.В. Протасов, М.В. Сердюцкая, А.М. Иванов и др. // Вестн. Рос. Воен. - мед. акад. - 2009. - прил. №1 (25). часть I. - С. 246.

123. Провоспалительные цитокины цервикального секрета при цервикальных эпителиальных дисплазиях / Т.Е. Белокриницкая, Ю.Н. Пономарева, Ю.А. Витковский и др. // Материалы VIII Всероссийского форума «Мать и дитя». - Москва. 2006. - С. 331.

124. Рациональная фармакотерапия в акушерстве и гинекологии: Рук. для практикующих врачей / Под общ. ред В.И. Кулакова, В.Н. Серова. М.: Литтерра. 2007. - 603-654 с.

125. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica. - М.: Медиасфера. - 2002. - 84 с.

126. Регистр лекарственных средств России: Энциклопедия лекарств. – 16-й вып. / Под ред Г.Л. Вышковского. - М.: РЛС - 2008. - 718-720 с.

127. Роговская С.И. Практическая кольпоскопия // М.: ГЭОТАР – Медиа. 2011. - 232 с.

128. Роговская С.И. Роль кольпоскопии в диагностике заболеваний шейки матки // Практическая гинекология. Клинические лекции / Под ред. В.И. Кулакова, В.Н. Прилепской. - 3-е изд. доп. - М.: МЕДпресс-информ. 2006. - 57-68 с.

129. Рудакова Е.Б. Влагалищный дисбиоз и патология шейки матки / Е.Б. Рудакова, О.В. Лазарева // Клиническая гинекология: Избранные лекции / Под ред. В.Н. Прилепской.- М.: МЕДпресс-информ. 2007. - 120-128 с.

130. Руденко И.Е. Клинико-иммунологические особенности течения неспецифических кольпитов и цервицитов и эффективность иммунокорригирующей терапии: автореф. дисс. …канд. мед. наук / И.Е. Руденко - Ростов-на-Дону. 2004. - 25 с.

131. Руководство по амбулаторно-поликлинической помощи в акушерстве и гинекологии / Под ред. В.И. Кулакова, В.Н. Прилепской, В.Е. Радзинского. - М.: ГЭОТАР-Медиа. 2006. - 633-653 с.

132. Савочкина А.Ю. Иммунологические показатели в диагностике хронического цервицита и при его сочетании с эндометритом: автореф. дисс. …канд. мед. наук / А.Ю. Савочкина - Челябинск. 2006. - 18 с.

133. Садекова О.Н., Никитина Л.А., Демидова Е.М. и др. Роль генетической предрасположенности в развитии невынашивания беременности // Сборник тезисов конференции «Фундаментальная медицина». М. - 2006. - С. 57-59.

134. Сашкина А.Е. Использование рефлексотерапии и лазеротерапии в лечении хронического неспецифического эндоцервицита на фоне деформации шейки матки // Материалы IX Всероссийского форума «Мать и дитя». - Москва. - 2007. - С. 514-515.

135. Сенников С.В. Методы определения цитокинов / С.В. Сенников, А.Н. Силков // Цитокины и воспаление.- 2005.- №1.- С. 31-36.

136. Сенчук А.Я. Показатели местного гуморального иммунитета до и после лечения воспалительных заболеваний шейки матки и влагалища // Особенности инфекционных процессов нижнего отдела половых путей. Материалы науч.-практ. конф. - Киев. - 2004. - С. 64-66.

137. Сердюков С.В. Хронический цервицит в прерывании беременности 1 триместра / С.В. Сердюков, Е.И. Новиков, Б.И. Глуховец // Материалы X юбилейного Всероссийского форума «Мать и дитя». - М. 2009. - С. 185-186.

138. Серебренникова С.Н. Роль цитокинов в воспалительном процессе / С.Н. Серебренникова, И.Ж. Семинский // Сибирский медицинский журнал. - 2008. - № 8. - С. 5-8.

139. Серов В.Н., Тихомиров А.Л., Лубнин Д.М. Современные принципы терапии воспалительных заболеваний женских половых органов

(методическое пособие для врачей акушеров–гинекологов). - М. 2003. - 19 с.

140. Сикирина О.И. Реабилитация гинекологических больных с воспалительными заболеваниями органов малого таза и спаечной болезнью при помощи магнитно-инфракрасной лазерной терапии. // Медико-социальная экспертиза и реабилитация. - 2000. - №1. - С. 39-41.

141. Симбирцев А.С. Толл-белки: специфические рецепторы неспецифического иммунитета. // Иммунология. - 2005. - №26 (6). - С. 368-376.

142. Симбирцев А.С. Цитокины - новая система регуляции защитных функций организма // Цитокины и воспаление. - 2002. - Т. 1. № 1 .- С. 9-16.

143. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции // Цитокины и воспаление. - 2004. - Т. 1. № 1.- С. 9-16.

144. Симонян А.В. Разработка и исследование геля на основе бальнеологического средства «Эльтон» / А.В. Симонян, И.В. Плетнёва, Туй Конг Файхт // Материалы XIV международной фармацевтической выставки «Аптека 2007». - Москва. - 2007. - С. 155-157.

145. Соколова Е.А. Особенности иммунного ответа у подростков с эктопией шейки матки и оптимизация тактики ее лечения: автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е.А. Соколова - Иваново. - 2006. - 19с.

146. Сравнительная характеристика показателей местного иммунитета как метод оценки эффективности нового комплексного метода лечения цервицитов / Жаркин Н.А., Щетинина Т.А. // Материалы научно-практической конференции «Актуальные проблемы акушерства, гинекологии и перинатологии». - Ростов-на-Дону. 2007. - С. 19.

147. Сухих Г.Т. Механизмы иммунной защиты при острых и хронических заболеваниях органов репродуктивной системы / Г.Т. Сухих, Л.В. Ванько // Акушерство и гинекология. - 2006. - Приложение. - С. 17-24.

148. Толмачёва С.В., Титова А.А. Клиническая оценка эффективности средства «Эльтон» в лечении остеоартроза // Сборник научных работ НИИ ревматологии РАМН «Актуальные проблемы ревматологии». - Волгоград. - 2006.- С. 141-142.

149. Угай И.Ю. Иммунологическая оценка эффективности лечения бестимом женщин с хроническими цервицитами // Международный конгресс «Практическая гинекология: от новых возможностей к новой стратегии». - М. 2006. - С. 191.

150. Уланян А.Л. Коссович Ю.М. Хронический цервицит: особенности этиологии, патогенеза, диагностики и лечения // Российский вестник акушера - гинеколога. - 2012. - № 6. - С. 40-45.

151. Улащик В.С Низкоинтенсивная лазерная терапия: основные технологии и показания к применению / В. С. Улащик // Здравоохранение. - 2007. - № 12. - С. 24-311.

152. Фаталиева Г. Г. Общая магнитотерапия в комплексном лечении обострения хронического цервицита: автореф. дисс. …канд. мед. наук / Г.Г. Фаталиева - Иваново. 2011. - 18-19 с.

153. Федорова Т.А. Современные технологии в лечении больных с хроническим цервицитом // Российский конгресс «Генитальные инфекции и патология шейки матки». - М. 2004. - С. 83.

154. Хаитов Р.М. Иммунология - М.: Медицина. 2002. - 432 с.

155. Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. Норма и патология: Учебник. 3-е изд., перераб. и доп. - М.: ОАО «Издательство «Медицина». - 2010 - 415 с.

156. Хронический цервицит и ВПЧ - инфекция в репродуктивном возрасте. Пути снижения диагностической и лечебной агрессии / Т.С. Качалина, Н.М. Шахова, О.В. Качалина и др. // Акушерство, гинекология и репродукция. - 2012. - № 4. - С. 6-12.

157. Хронический цервицит: этиология, патогенетические аспекты, диагностика и лечение в современных условиях: Методические

рекомендации / Э.А. Казачкова, И.М. Каточкова, Е.Л. Казачков и др. – Челябинск. 2009. - 17 с.

158. Чигринец О.В. Клинико-микробиологические особенности хронических инфекционно-воспалительных заболеваний шейки матки на современном этапе / О. В. Чигринец и др. // Международный конгресс «Профилактика, диагностика и лечение гинекологических заболеваний»: тез. - М. 2003. - С. 83.

159. Шабалова И.П. Цитологический атлас. Цитологическая диагностика заболеваний шейки матки / И.П. Шабалова, К.Т. Касоян. – М. Тверь: Триада. 2006. – 162 с.

160. Щетинина Т. А. Значение бальнеологического средства «эльтон» в комплексном противовоспалительном лечении острых и хронических воспалительных заболеваний шейки матки и влагалища: автореф. дисс. …канд. мед. наук / Т.А. Щетинина - Волгоград. 2008. - 13-25 с.

161. Ярилин А.А. Основы иммунологии / А.А. Ярилин. - М.: Медицина. 2000. - 610 с.

162. Bidzhieva B., Snigur N., Mazurenko N. Genetic polymorphism in the promoters of IL-6 and IL-10 in CIN and cervical cancer patients // EACR-20. - 2008. Lyon. France. P. 176.

163. Bidzhieva B., Tsiganova I., Mazurenko N. Genetic polymorphism within the Human Leukocyte Antigen class III region in patients with cervical intraepithelial neoplasia ans cervical cancer from Russia // Proceedings of the 19 Congress of EACR. - 2006. Budapest. Hungary. P. 245.

164. Bidzhieva B., Snigur N., Mazurenko N. Genetic polymorphisms of TNF-alpha and IL10 in Russian CIN and cervical cancer patients // ECCO-14. – 2007. Barcelona. Spain. European Journal of Cancer. Suppl. 5(4). - P. 316.

165. Carp H. Cytokines in recurrent miscarriage. / Carp H. // Lupus. - 2004. - Vol. 13. - №9. - P. 630-634.

166. CDC. Update to CDC's sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2010: oral cephalosporins no longer a recommended treatment for gonococcal infections. MMWR. -2012. - 61(31). - P. 590-594.

167. Chen J. A comparison between ultrasound therapy and laser therapy for symptomatic cervical ectopy / J.Chen et al. // Ultrasound in Med. & Biol. – 2008. - Vol. 34. - № 11. - P. 1770-1774.

168. Crucial role for human Toll-like receptor 4 in the development of contact allergy to nickel / M. Schmidt, B. Raghavan, V. Müller et al. //Nature Immunol. - 2010. - P. 14-19.

169. Cuzick J. Chapter 10: New dimensions in cervical cancer screening / J. Cuzick, M. Mayarand, G. Ronco // Vaccine. - 2006. - 24 S3. - P. 90-97.

170. Cytokine expression in squamous intraepithelial lesions of the uterine cervix: implications for the generation of local immunosupression / S.L. Giannini, W. Al-Salen, H. Piron et al. // Clin. Exp. Immunol. - 1998. - Vol. 113. №2. - P. 183-189.

171. Cytokines in cervicovaginal washing fluid from patients with cervical neoplasia / M.Y. Tjiong, N. van der Vange, J. S. ter Schegget et al. // Cytokine. - 2001. - Vol. 21. - P. 357-360.

172. Daher S. Genetic polymorphisms and recurrent spontaneous abortions: an overview of current knowledge / Daher S., Mattar R., Gueuvoghlanian-Silva B. Y., Torloni M. R. // Am. J. Reprod Immunol. - 2012. - V. 67. - P. 341-347.

173. Dalgik H., Kusku N.K. Lazer therapi in chronic cervicitis // Arh Gynecol Obstet. - 2001. 265 (2) - P. 124-127

174. Iwasaki A., Medzhitov R. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses // Nat. Immunol. - 2004. - №5. - P. 87-95.

175. Jones N. M., Holzman C., Friderici K. H., Jernigan K., Chung H., Wirth J., Fisher R. Interplay of cytokine polymorphisms and bacterial vaginosis in the etiology of preterm delivery // Journal of reproductive immunology. - 2010. - № 87 (1-2) - P. 82-89.

176. Gankovskaya O.A. Analyze of TLR genes expression and cytokines production during prenatal herpes virus infection / L.V. Koval'chuk, V.F. Lavrov // 8th John Humphrey advanced summer programme in immunology: Immunology and viral infection. - 2007. - P.16.

177. Karu T. Elementary processes in cells after light absorption do not depend on the polarization degree: implication for the mechanisms of laser phototherapy / T. Karu, L. Pyatibrat, S. Moskvin et al. // Photomedicine and Laser Surgery. - 2008. - Vol. 26. N 3. - P. 76-80.

178. Kocjan G. Terminology in cervical cytology European panel discussion / G. Kocjan, B. Priollet, M. Desair // Cytopathology. – 2005. - № 16. – P. 113-119.

179. Ledger W.J. Vulvovaginal infections / W.J. Ledger, S.S. Witkin // Washington : Asm-Press. 2007. - P. 9-35.

180. Marrazzo J. M. Risk factors for cervicitis among women with bacterial vaginosis / J. M. Marrazzo et al. // J. Infect. Dis. - 2006. -Mar. - Vol. 193 (5). - P. 617-624.

181. Mendling W. Vaginose, vaginitis, zervizitis und salpingitis // B.: Springer. - 2006. - P. 11-12.

182. Mitchell C. Associations between genital tract infections, genital tract inflammation, and cervical cytobrush HIV-1 DNA in US versus kenyan women / C. Mitchell et al. // AIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes. - 2013. - V. 62 (2). - P. 143-148.

183. Morré S.A. Chlamydia trachomatis: identification of susceptibility markers for ocularand sexually transmitted infection by immunogenetics / S.A. Morré et al. // FEMS Immunol Med Microbiol. - 2009. - № 55. - P. 140-153.

184. Nyirjesy P. Nongonococcal and Nonchlamydial Cervicitis // Curr Infect Dis Rep. - 2001. - Dec. - Vol. 3 (6). - P. 540-545.

185. Oriss T. Crossregulation between T helper cell Thl and Th2: Inhibition of Th2 proliferation by IFN-y involves interference with IL-1 /T. Oriss, S.

McCarthy, B. Morel et al. // J. Immunol. - 1997. - Vol. 158. №8.- P. 3666-3672.

186. Pichler WJ. Regulation der immunantwort: das Thl/Th2 konzept // Schweiz. Med. Wochenschr. - 1997. - Bd. 127. №. 9.- P. 341-348.

187. Poppe W.A. Tobacco smoking impairs the local immunosurneillance in the uterine cervix. An immunohistochemical study /W.A. Poppe, P.S. Ide, M.P. Drijkoningen et al. //Gynecol. Obstet. Invest. - 1995. - Vol. 39/ №1. - P. 34-38.

188. Recognition of commensal microflora by TLRs is required for intestinal homeostasis / S. Rakoff-Nahoum, J. Paglino, F. Eslami-Varzaneh et al. // Cell - 2004. - №118. - P. 229-241.

189. Reddy B.S. Cytokine expression-pattern in the genital tract of Chlamidia trachomatis positive infertile women - implication for T-cell responses / Reddy B.S. et al. // Clin. Exp. Immunol. - 2004. - Sep. - Vol. 137 (3) - P. 552-558.

190. Russomano F. Efficiency in treatment of subclinical cervical HPV infections without CIN / Russomano F. et al. // San Paulo Mtd J. - 2000. - Vol 118 (4). - P. 109-115.

191. Smith W.J., Drew R.H., Perfect J.R. Posaconazole's impact on prophylaxis and treatment of invasive fungal infections: an update // Expert Review of AntiInfective Therapy. 7(2). - 2009. - P. 165-181.

192. Sherman M. Future directions in cervical pathology // Oxford: Oxford University Press. - 2003. - P. 80-88.

193. Takeda K., Kaisho T., Akira S. Toll-like receptors. //Annu Rev Immunol. - 2003. - P. 35-76.

194. Tamiolakis D. Cytologic differential diagnostic problems in ulcerative cervicitis // Acta Medica. - 2004. - Vol. 47 (1). - P. 43 - 46.

195. White C.A. Effect of interleukin-10 null mutation on maternal immune response and reproductive outcome in mice. / C.A. White, M. Johansson // Biol. Reprod. 2004. - Vol. 70. - № 1. - P. 123-131.

196. Wright T. 2001 consensus guidelines for the management of women with cervical cytological abnormalities / T. Wright, J. Cox, L. Massad // JAMA. - 2002. - Vol. 287. - P. 2120-2129.

197. Wul W., Clark E. A., Stoddard G. J., Watkins W. S., Esplin M. S., Manuck T. A. et al. Effect of interleukin-6 polymorphism on risk of preterm birth within population strata: a meta-analysis // BMC Genetics. - 2013. - № 14. - P. 9-10.

198. Zarember K., Godowski P. Tissue expression of human Toll-like receptors and differential regulation of Toll-like receptor mRNAs in leucocytes in response to microbes, their products, and cytokines // J. Immunology. - 2002. - №168. - P. 554-561.

199. Yasui H. Combination of tumor necrosis factor-alpha with sulindag in human carcinoma cells in vivo // H. Yasui, M. Adachi, K. Imai // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2003. - Vol. 10. №10. - P. 273-277.

ПРИЛОЖЕНИЕ

2014

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2495689

СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ПОДОСТРЫХ И ХРОНИЧЕСКИХ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ЦЕРВИЦИТОВ НЕРОЖАВШИМ ЖЕНЩИНАМ, ВКЛЮЧАЮЩИЙ КУРС ЛАЗЕРНОГО ФОТОФОРЕЗА С ПРИМЕНЕНИЕМ БАЛЬНЕОЛОГИЧЕСКОГО СРЕДСТВА "ЭЛЬТОН"-ГЕЛЬ

Патентообладатель(ли): ***Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Волгоградский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию" (RU)***

Автор(ы): ***см. на обороте***

Заявка № **2011133262**

Приоритет изобретения **08 августа 2011 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации ***20 октября 2013 г.***

Срок действия патента истекает **08 августа 2031 г.**

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Б.П. Симонов

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 495 689** (13) **C2**

(51) МПК
A61N 5/067 (2006.01)
A61M 31/00 (2006.01)
A61K 35/02 (2006.01)
A61K 35/10 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: **2011133262/14, 08.08.2011**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
08.08.2011

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: **08.08.2011**

(43) Дата публикации заявки: **20.02.2013 Бюл. № 5**

(45) Опубликовано: **20.10.2013 Бюл. № 29**

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **RU 2185861 C1, 27.07.2002. RU 2278672 C2, 27.06.2006. RU 2233187 C1, 27.07.2004. RU 2207170 C1, 27.06.2003. CN 201279218 Y, 29.07.2009, реферат. ЖАРКИН Н.А. и др. Новый комплексный метод лечения цервицитов с использованием бальнеологического средства "Эльтон" Вестник Волгоградского государственного медицинского университета, 2007, №4(1), с.15-17**

Адрес для переписки:
400131, г.Волгоград, пл. Павших борцов, 1, Волгоградский государственный медицинский университет, научный отдел

(72) Автор(ы):
Лемякина Елена Викторовна (RU),
Жаркин Николай Александрович (RU),
Бурова Наталья Александровна (RU)

(73) Патентообладатель(и):
Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Волгоградский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию" (RU)

RU 2495689 C2

RU 2495689 C2

(54) СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ПОДОСТРЫХ И ХРОНИЧЕСКИХ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ЦЕРВИЦИТОВ НЕРОЖАВШИМ ЖЕНЩИНАМ, ВКЛЮЧАЮЩИЙ КУРС ЛАЗЕРНОГО ФОТОФОРЕЗА С ПРИМЕНЕНИЕМ БАЛЬНЕОЛОГИЧЕСКОГО СРЕДСТВА "ЭЛЬТОН"-ГЕЛЬ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, гинекологии, и касается лечения неспецифических цервицитов нерожавших женщин. Проводят этиотропную терапию согласно результатам микроскопии и бактериоскопии и 10-дневный курс лазерного фотофореза, ежедневно, начиная в первую фазу менструального цикла, в течение двух менструальных циклов. Для этого зону поражения обрабатывают бальнеологическим средством «Эльтон-гель» с последующим инфракрасным лазерным облучением шейки матки с длиной волны 0,9 нм, импульсной мощностью 5 Вт, частотой следования импульсов 600 Гц. Время воздействия на каждый локус составляет: при впервые возникшем цервиците - 2 минуты, при существовании процесса до 1 года или при длительности заболевания больше года и наличии более двух случаев рецидивов - по 3 минуты. Способ обеспечивает сокращение сроков лечения подострых и хронических неспецифических цервицитов (ПОНЦ и ХНЦ) у данной категории пациенток с 6-9 мес до 2-3 мес, уменьшение частоты рецидивов заболевания, неинвазивность, безопасность и доступность лечения. 3 пр., 2 табл.

«УТВЕРЖДАЮ»
Главный врач ГУЗ «Клинический родильный дом № 2», д.м.н.
профессор _____ Н.А. Жаркин
«19» ноября 2013г.

АКТ О ВНЕДРЕНИИ

Предмет внедрения: новый метод лечения пациенток с хроническим неспецифическим цервицитом.
Кем предложен: ассистентом кафедры акушерства и гинекологии Волгоградского государственного медицинского университета, Е.В. Лемякиной.
Источник информации: патент РФ № 2495689 «Способ лечения подострых и хронических неспецифических цервицитов нерожавшим женщинам, включающий курс лазерного фотофореза с применением бальнеологического средства "Эльтон" - гель» (от 20 октября 2013 г.), разработанный на кафедре акушерства и гинекологии Волгоградского государственного медицинского университета.
Где и кем внедрено: женская консультация ГУЗ «Клинический родильный дом № 2»
Цель внедрения: использование данных патента РФ № 2495689 в женской консультации ГУЗ «Клинический родильный дом №2» с целью лечения пациенток с хроническим неспецифическим цервицитом.
Ответственные за внедрение: заведующая женской консультации ГУЗ «Клинический родильный дом № 2» И.А. Остапенко.
Результаты внедрения: материалы, предоставленные кафедрой акушерства и гинекологии ВолГМУ, оптимизировали процесс лечения пациенток с хроническим неспецифическим цервицитом, привели к полноценной эпидермизации измененного эпителия шейки матки и нормализации иммунного ответа.
Эффективность внедрения: разработанный метод лечения с применением лазерного фотофореза бальнеологического средства «Эльтон» оказался безопасным, позволил повысить эффективность проводимой терапии у пациенток с хроническим неспецифическим цервицитом.

Заведующая женской консультации
ГУЗ «Клинический родильный дом № 2» _____ И.А. Остапенко

государственное
учреждение здравоохранения
«Родильный дом № 4»
ул. им. Городовикоза 10а
«14» мая 2014 г.
№ 83

«УТВЕРЖДАЮ»
Главный врач ГУЗ «Родильный дом № 4» _____ В.В. Манченко
«14» мая 2014 г.

АКТ О ВНЕДРЕНИИ

Предмет внедрения: новый метод лечения пациенток с хроническим неспецифическим цервицитом.

Кем предложен: ассистентом кафедры акушерства и гинекологии Волгоградского государственного медицинского университета, Е.В. Лемякиной.

Источник информации: патент РФ № 2495689 «Способ лечения подострых и хронических неспецифических цервицитов нерожавшим женщинам, включающий курс лазерного фотофореза с применением бальнеологического средства "Эльтон" - гель» (от 20 октября 2013 г.), разработанный на кафедре акушерства и гинекологии Волгоградского государственного медицинского университета.

Где и кем внедрено: женская консультация ГУЗ «Родильный дом № 4»

Цель внедрения: использование данных патента РФ № 2495689 в женской консультации ГУЗ «Родильный дом №4» с целью лечения пациенток с хроническим неспецифическим цервицитом.

Ответственные за внедрение: заведующая женской консультации ГУЗ «Родильный дом № 4» Е.В. Медведева.

Результаты внедрения: материалы, предоставленные кафедрой акушерства и гинекологии ВолГМУ, оптимизировали процесс лечения пациенток с хроническим неспецифическим цервицитом, привели к полноценной эпидермизации измененного эпителия шейки матки и нормализации иммунного ответа.

Эффективность внедрения: разработанный метод лечения с применением лазерного фотофореза бальнеологического средства «Эльтон» оказался безопасным, позволил повысить эффективность проводимой терапии у пациенток с хроническим неспецифическим цервицитом.

Заведующая женской консультации
ГУЗ «Родильный дом № 4» Е.В. Медведева