

## **ИЗМЕНЕНИЕ ЛИПИДНОГО СОСТАВА ТКАНИ ВЛАГАЛИЩА И МИКРОФЛОРЫ ПРИ АТРОФИЧЕСКОМ КОЛЬПИТЕ У ЖЕНЩИН, НАХОДЯЩИХСЯ В ПРЕМЕНОПАУЗАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ**

**Микашинович З.И.<sup>1</sup>, Саркисян О.Г.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*ГОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет Министерства Здравоохранения России», Ростов-на-Дону, Россия (344022, Ростов-на-Дону, Нахичеванский пер., 29), e-mail: kbunpk-rostov@yandex.ru*

**Проведен анализ липидного состава ткани влагалища, морфометрических показателей клеток и микрофлоры при атрофическом кольпите у женщин, находящихся в пременопаузальном периоде. Результаты исследования показали, что в ткани влагалища женщин, больных атрофическим кольпитом, отмечается увеличение количества ненасыщенных высших жирных кислот. Морфометрическими исследованиями было установлено, что клетки поверхностного слоя влагалищной ткани при атрофии изменяют свою форму в сторону увеличения ширины и длины, по сравнению с контролем. При атрофическом кольпите наблюдалось изменение качественного и количественного состава микробиоценоза. По данным исследования было показано, что при атрофическом кольпите формируется патогенетическая цепь, связанная с изменением жирнокислотного состава ткани, изменением морфометрических показателей клетки, нарушение микробиоценоза, что, очевидно, приводит к нарушению гормонально-рецепторной передачи различных сигнальных систем.**

**Ключевые слова:** атрофия, жирные кислоты, микрофлора.

## **CHANGES IN LIPID COMPOSITION OF VAGINA TISSUE AND MICROFLORA AT PREMENOPAUSE WOMEN WITH ATROPHIC COLPITIS**

**Mikashinowich Z.I. <sup>1</sup>, Sarkisjan O.G. <sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*SBEI HPE «Rostov State Medical University Ministry of Health Protection of Russia», Rostov-on-Don, Russia (29, Nakhichevanskyst., Rostov-on-Don, 344022), e-mail: kbunpk-rostov@yandex.ru*

**It was made the analysis of lipid composition of vagina tissue, morphometric cell index and vagina flora at premenopause women with atrophic colpitis. The results of investigation have shown that vaginal tissue of women with atrophic colpitis had increased quantity of unsaturated high fatty acids. Morphometric investigations have established that cells of surface layer of vaginal tissue at atrophy had increasing width and length conformation in compare with control group. It was found changes in qualitative and quantitative structure of microbiocenosis at atrophic colpitis. The results of the investigation have revealed pathogenetic pathway at atrophic colpitis characterized by changes in fatty acid composition of tissue, changes in morphometric cell indices, disorder of microbiocenosis that evidently lead to disturbance in hormone-receptor sending of different signal systems.**

**Keywords:** atrophy, fatty acids, microflora.

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

Патогенез атрофического кольпита чаще всего связывают с эстрогенным дефицитом [6]. В результате эстрогенный дефицит в пременопаузе сопровождается снижением кровообращения во влагалище до уровня ишемии различной степени [6], вследствие чего

формируются процессы, которые могут быть предикторами атрофических изменений ткани влагалища.

Особый интерес представляют данные о том, что начальные проявления атрофии ткани влагалища в пременопаузальном периоде могут возникать и у женщин, больных миомой матки. Установлено, что патогенез лейомиомы связан с гиперэстрогенией [2, 7]. Таким образом, процесс формирования атрофического кольпита может возникать как на фоне гипоэстрогении, так и на фоне гиперэстрогении. В связи с чем, причина атрофического процесса во влагалищной ткани может быть связана с проблемой передачи гормонального сигнала к тканям-мишеням.

Обменные процессы, которые протекают во влагалищной ткани, находятся под сложным нейрогуморальным контролем, а превращение гликогена в молочную кислоту зависит от состояния микрофлоры влагалища [6]. Однако главная роль, определяющая физико-химические свойства мембран, отводится высшим жирным кислотам и холестерину. Установлено, что фосфолипиды клеточных мембран (фосфолипиды и гликолипиды) содержат ненасыщенные жирные кислоты (ЖК), которые играют важную роль в обеспечении текучести мембран [8]. В свою очередь текучесть мембран влияет на передачу различных сигналов на клетки-мишени (Марри Р., и др., 2009.) и состояния мембранных рецепторов [9]. Нарушение функционального единства этих составляющих может явиться одной из причин дезинтеграции метаболизма влагалищной ткани и развития атрофического процесса вне зависимости от состояния гормонального фона.

В связи с чем, целью данной работы явилось изучение жирнокислотного состава влагалищной ткани, морфометрических показателей клеток влагалища и микробиологического пейзажа у женщин, больных атрофическим кольпитом, в пременопаузальном периоде.

#### **Методика исследования**

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

Группа сравнения (контрольная группа) представлена 35 пациентками (средний возраст  $48 \pm 3,6$  лет) без патологической урогенитальной симптоматики и признаков атрофии, проходившими оперативное лечение в гинекологической клинике. Из обследования методом УЗИ-сканирования были исключены пациентки с органической патологией (миома матки, эндометриоз, киста яичника и др.). Все исследования проводились у пациенток в пременопаузальном периоде.

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

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

Для выявления тяжести атрофических процессов во влагалище мы использовали кольпоцитологические методы исследования: определение значения зрелости вагинального эпителия [6], подсчета индекса вагинального здоровья [6], изучение вагинального микроценоза.

Изучение спектра жирных кислот липидов проводили по методике Вигдельгауз М.С., (1991). Для работы использовали хроматограф «Цвет-800».

Идентификацию жирных кислот осуществляли с использованием внутренних стандартов и меток-свидетелей. Полученные результаты выражали в процентном соотношении отдельных жирных кислот к их общему количеству.

Бактериологическое исследование влагалища проводили с соблюдением правил забора материала в соответствии с Методическими указаниями 4.2.2039-05(2006).

Качественное и количественное изучение микрофлоры влагалища проводили по методике Меньшикова В.В. (2009) с использованием аэробной и анаэробной техники культивирования.

Оценку результатов осуществляли в сравнении с показателями нормоценоза данного биотопа.

Идентификацию выделенных микроорганизмов проводили по морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим признакам с помощью энтеро-, стафило-, анаэротестов (Lachema, Чехия).

Морфометрические исследования проводились с применением цифровой камеры NikondigitalsightDS-U3, пакета прикладных программ, персонального компьютера в комплекте с цифровой камерой под управлением Windows 7.

Обработку полученных данных проводили общепринятыми методами медицинской статистики с использованием U-критерия Манна-Уитни с применением пакета прикладных программ Statistica 6.1. Статистически достоверными считали отличия, соответствующие оценке ошибки вероятности  $p < 0.05$  [4].

### **Результаты и их обсуждение**

Результаты исследования показали. В ткани влагалища здоровых женщин было определено 18 высших жирных кислот: лауриновая (12:0), миристиновая (14:0), миристинолленовая (14:1), пентадекановая (15:0), пентадекаеновая (15:1), пальмитиновая (16:0), стеариновая (18:0), олеиновая (18:1), линолевая (18:2), линоленовая (18:3), арахидиновая (20:0), эйкозаеновая (20:1), эйкозодиеновая (20:3), эйкозатриеновая (20:3), арахидоновая (20:4).

Обращает на себя внимание, что жирнокислотный состав ткани влагалища при атрофическом кольпите, имеет достоверные отличия, касающиеся следующих жирных кислот: миристиновая (14:0), миристинолленовая (14:1), пентадекановая (15:0), пальмитиновая (16:0), гептадекановая (17:0), гептадекаеновая (17:1), линолевая (18:2), линоленовая (18:3), арахидиновая (20:0). Установлено, что количество миристиновой (14:0), миристинолленовой (14:1), пентадекановой (15:0), пальмитиновой (16:0), гептадекановой (17:0), гептадекаеновой (17:1), линоленовой (18:3), арахидиновой (20:0) увеличивается соответственно на 43 %, 22 %, 239 %, 27 %, 456 %, 203 %, 486 % и 131 % в слизистой влагалища женщин, больных атрофическим кольпитом, достоверно увеличивается. При этом, снижается количество пентадекаеновой (15:1) и линолевой (18:2) жирных кислот соответственно на 47 % и 30 %. Такое изменение содержания жирных кислот в атрофичной ткани относительно группы сравнения (контрольной группы), с одной стороны, может свидетельствовать о воздействии микроорганизмов на обмен клеток влагалища, а с другой стороны, может рассматриваться как адаптация клеток в связи с нарушением их метаболических функций и свойств мембраны. Изменение состава жирных кислот в атрофичной ткани, очевидно, приводит к изменению физико-химических характеристик клеточных, ядерных, митохондриальных и других мембран. Это может сопровождаться, прежде всего, нарушением работы сигнальных систем, изменением соотношения оттока и притока среди продуктов клеточного метаболизма, изменением работы транспортных систем. Такие нарушения на молекулярном уровне могут являться одним из предикторов формирования атрофических изменений в нижних отделах урогенитального тракта.

Согласно полученным нами ранее данным, в слизистой влагалища женщин, больных атрофическим кольпитом, содержание холестерина увеличивается на 45,8 % [4], что указывает на уменьшение текучести мембран, изменение их свойств и нарушение работы транспортных и сигнальных систем.

Известно, что жирные кислоты входят в состав фосфолипидов биологических мембран и влияют на их микровязкость. С одной стороны, повышение уровня ПНЖК на фоне повышения шиффовых оснований (ШО) на 60,86 % [4] позволяет думать о том, что клетка адаптивно «пытается» сохранить текучесть биологической мембраны для облегчения

работы транспортных систем и рецепторного аппарата. Однако наличие большого количества ПНЖК может приводить к изменению структуры мембраны и даже формы клетки, а также служить субстратом для протекания перекисного окисления липидов (ПОЛ). С другой стороны, изменение жирнокислотного состава приводит к нарушению транспортной и сигнальной функции кислотных мембран. Известно, что одним из этапов механизма передачи гормонального сигнала в клетку происходит при участии гормон связывающего гликопротеина крови – транспортин и альбумина специализированными участками клеточной мембраны. Можно предположить, что такой комплекс альбумин-транспортин-стероидный гормон содержит оптимальное для клетки соотношение гормонов и его биологическое значение заключается в обеспечении дублирующего механизма доставки гормонов за счет клеточных рецепторов к транспортным белкам. Очевидно, такие изменения в структуре мембран приводят к нарушению осуществления отбора регуляторных молекул из крови, в частности – эстрогенов. В такой ситуации процесс атрофии влагалищной ткани может не зависеть от складывающегося гормонального фона. При морфометрическом исследовании было установлено, что клетки поверхностного слоя влагалищной ткани при атрофии изменяют свою форму по сравнению с контролем. При этом, их длина увеличивается на 24,03 % ( $p < 0,02$ ), соотношение длина/ширина на 32,77 % ( $p < 0,01$ ), площадь, соответственно, на 32,24 % ( $p < 0,05$ ) относительно группы сравнения. Установлено, что число ядрышек в базальном слое эпителия влагалищной ткани при атрофии снижено по сравнению с контролем на 34,57 %, также снижено число ядрышек в промежуточном и поверхностном слоях, соответственно, на 53,41 % и 67,9 %. Достоверно установлено, что площадь ядрышек в базальном, промежуточном и поверхностном слоях при атрофическом кольпите по сравнению с контрольной группой снижена, соответственно, на 32,04%, 61,93% и 48,79%. На этом фоне уменьшается площадь ядер эпителия влагалищной ткани при атрофии во всех трёх слоях: базальном на 21,5%, промежуточном на 56,54%, поверхностном на 52,77%. В такой ситуации клетки изменяются в размерах и приобретают более плоские очертания. Мембрана теряет четкие очертания и становится «размытой». По этому же принципу, идут изменения в ядерной мембране, на которой располагаются рецепторы к эстрогенам. Изменение ядерных мембран приводит к нарушению функции рецепторов к эстрогенам. Известно, что размеры клеток закономерно обусловлены физико-химическими параметрами процессов, протекающих в клетках и их свойствами. Поэтому «растяжение» мембраны клеток поверхностного слоя влагалищной ткани при атрофии, возможно, приводит к изменению скорости диффузии ионов  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ , а также к перераспределению этих ионов в клетке, следствием чего будет являться изменение активности внутриклеточных ферментов и изменение скорости различных метаболических

путей. Это подтверждается полученными нами результатами со стороны изменения активности  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ -зависимых АТФ-аз в ткани влагалища женщин, больных атрофическим кольпитом.

«Растяжение» мембраны приводит к изменению ее физико-химических свойств. Известно, что при растяжении мембраны происходит стимуляция  $\text{Ca}^{2+}$ -активируемых  $\text{K}^{+}$ -каналов. Таким образом, мембрана теряет свои барьерные свойства и становится проницаемой, что приводит к изменению внутриклеточного ионного состава.

Появление «неспецифических пор», вызванных активацией процессов ПОЛ и стимуляция  $\text{Ca}^{2+}$ -активируемых  $\text{K}^{+}$ -каналов ведет к перемене ионного состава внутри клетки, приводящего к зависимости от рН. Изменение рН сопровождается активацией  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимых гидралаз, вызывающих протеолиз клеточных белков и ферментных систем, приводящих к нарушению архитектоники клеточных структур.

Атрофия влагалищной ткани связана также с нарушением микроциркуляции [6], сопровождающейся гипоксией ткани. Очевидно процесс нарушения кровообращения, приводящий к гипоксии, ведет к перестройке жирнокислотного состава эндогенных липидов, характеризующейся изменением соотношения  $\omega$ -3 к  $\omega$ -6 ВЖК и продуктами их метаболизма. В состоянии гипоксии существенно снижается функция эндотелия и, как следствие, падает продукция ПГ  $\text{I}_3$  – самого сильного ингибитора агрегации тромбоцитов. Т. е. происходит локальное нарушение реологических свойств крови и запускается патологический круг, усиливающий процесс атрофии.

Известно, что микроорганизмы, населяющие кожу и слизистые, не только участвуют в обеспечении организма хозяина необходимыми для удовлетворения энергетических и пластических потребностей соединениями, но и продуцируют значительное количество разнообразных физиологически активных субстанций, различных гормоно-подобных соединений, медиаторов, контролирующих пищеварительные и эндокринные функции, обмен веществ в целом. В связи с чем, нам представлялось интересным изучить роль микроорганизмов в патогенезе формирования атрофического кольпита.

В результате проведенного микробиологического исследования установлено, что у женщин, с атрофическим кольпитом, полностью отсутствует молочнокислая флора: бифидобактерии и лактобактерии. Вместе с тем, у 77,14 % женщин, больных атрофическим кольпитом, во влагалище присутствовали стафилококки в количестве от  $10^2$  до  $10^6$  КОЕ/мл. У 62,86 % женщин с атрофией в исследуемом материале присутствовали стрептококки, а энтеробактерии обнаружены в этой же группе у 40 %. Стрептококки, в основном, были представлены энтерококками с интенсивностью колонизации от  $10^3$  до  $10^6$  КОЕ/мл, а энтеробактерии – эшерихиями, клебсиеллами, энтеробактерами в количестве от  $10^1$  до

10<sup>7</sup>КОЕ/мл. Неклостридиальные анаэробы выявлены у всех обследованных и были представлены пептострептококками (65,71 %), эубактериями (65,7 %), пропионибактериями (20 %) в количестве от 10<sup>2</sup> до 10<sup>8</sup> КОЕ/мл. Пептококки, бактероиды, превотеллы, мобилионкусы, гарднереллы выявлены в незначительном проценте и низких концентрациях. Спорообразующие микроорганизмы и дрожжеподобные грибы рода *Candida* не были выделены ни в одном случае. Следует отметить, что пептострептококки продуцируют фосфолипазу А<sup>2</sup>, которая, в свою очередь, с одной стороны, активирует продукцию простагландинов, а с другой – усиливает механизм вторичного повреждающего действия ПОЛ на мембраны клеток. Несомненно, эта группа микроорганизмов может влиять на состояние рецепторного аппарата влажной слизистой оболочки эпителия, нарушая передачу биологически активных молекул к тканям-мишеням. Снижение основного питательного субстрата для нормофлоры – гликогена, также вызывает изменение видового микробиологического пейзажа. Возможно, основным питательным субстратом при атрофии становится жирные кислоты слущенного эпителия, которые, очевидно, приводят к смене нормофлоры на условно-патогенную и патогенную бактериальную флору. То есть смена питательного субстрата приводит к нарушению симбиотического равновесия человеческого организма, его микробиологического статуса и физиологических функций. Таким образом, условно-патогенная и патогенная микрофлора также может вносить свой вклад в процесс формирования атрофических изменений во влажной слизистой ткани. Данный механизм запускает патогенетический круг, вовлекающий различные молекулярные звенья, которые собираются в единую цепь. Составными частями последней, видимо является: нарушение соотношений резидентной и транзитной микрофлоры; анаэробная экспрессия; нарушение в системе местного иммунитета; гормональные изменения; снижение уровня перекись-продуцируемых лактобацилл вагинального секрета; нарушение передачи гормонального сигнала к клеткам-мишеням.

Полученные данные углубляют имеющиеся представления о патогенезе атрофического кольпита и показывают, что основной причиной атрофии слизистой влагалища не всегда является гипоэстрогения. Как показали наши исследования, при атрофическом кольпите формируется патогенетическая цепь, связанная как с изменением жирнокислотного состава ткани, изменением морфометрических показателей клетки, нарушением микробиоценоза, что, очевидно, приводит к нарушению гормонально-рецепторной передачи различных сигнальных систем.

### **Заключение**

Резюмируя представленные результаты, можно отметить, что причиной атрофии слизистой влагалища могут являться различные системные многопрофильные изменения на

клеточном уровне, связанные не только с нарушением метаболизма эстрогенов, но и с нарушением работы ферментов углеводно-энергетического обмена, дисбалансом в соотношении различных фракций воды в ткани влагалища, который приводит к изменению активности в работе клеточных транспортных систем. Такие многопрофильные внутриклеточные изменения метаболизма приводят к нарушению работы различных сигнальных систем. В пременопаузальном периоде наблюдается системная перестройка обменных процессов, запускающая различные механизмы, приводящие к атрофии ткани влагалища, как на фоне гипоэстрогении, так и при повышении уровня синтеза эстрогенов на фоне лейомиомы матки. Эти нарушения влияют на различное состояние эстроген-зависимых рецепторов тканей влагалища, что запускает порочный круг, приводящий, с одной стороны, к локальной ишемизации ткани влагалища, а с другой – к снижению пролиферации влагалищного эпителия, нарушению эластичности влагалищной стенки, и как следствие развитие атрофического процесса во влагалищной ткани.

### Список литературы

1. Вигдергауз М.С., Кирш С.И., Кабанов Н.Т. Хроматография в системе газ – коллоид. – Нижний Новгород, 199. – С. 126-130.
2. Вихляева Е.М. Руководство по диагностике и лечению лейомиомы матки. – М., 2004. – 400 с.
3. Меньшиков В.В. Методики клинических лабораторных исследований: Справочное пособие / В.В. Меньшиков. – М.: Лабора, 2009. – Т. 3. – 880 с.
4. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М., 2002. – 312 с.
5. Саркисян О.Г. Особенности изменения метаболических процессов при атрофических кольпитах и их коррекция: дис. – 2000. – 126 с.
6. Сметник В.П. Медицина климактерии. – Ярославль. – 2006. – 848 с.
7. Тихомиров Н.Л., Лубнин Д.М. Миома матки. – М., 2006. – 176 С.
8. De Wilde, M.C., Hogyes, E., Kiliaan, A.J., Farkas, N., Luiten, P.G., Farkas, E. Dietary fatty acids alter blood pressure, behavior and brain membrane composition of hypertensive rats. *Brain Res.* – 2003. – P. 9-19
9. Dyall, S.C., Michael, G.J., whelpton, R., Scott, A.G., Michael-Titus, A.T., 2007. Dietary enrichment with omega-3 polyunsaturated fatty acids reverses age-related decreases in the GluR2 and NR2B glutamate receptor subunits in rat forebrain. *Neurobiol Aging* 28, 424-439.

**Рецензенты:**

Авруцкая В.В., д.м.н., главный научный сотрудник акушерско-гинекологического отдела «Ростовского научно-исследовательского института акушерства и педиатрии» Минздрава РФ, г. Ростов-на-Дону.

Горошинская И.А., д.б.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава РФ, г. Ростов-на-Дону.