

Характеристика біоценозу генітального тракту у жінок з патологією шийки матки

С.І. Жук¹, О.А. Таран², А.М. Кошмеринська³, В.С. Лаврентюк⁴, О.В. Шамрай⁵

¹Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, м. Київ

²Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова

³Житомирський обласний онкологічний диспансер

⁴Вінницький клінічний пологовий будинок № 1

⁵Вінницький обласний онкологічний диспансер

При дослідженні 95 пацієнток з фоновими та передраковими процесами шийки матки виявлена кореляція між дисбіотичними змінами піхви (пригнічення молочнокислих бактерій на тлі підвищення вмісту представників умовно-та безумовно-патогенної флори) і цервікальною патологією за допомогою полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі «Фемофлор скрин». Дисбаланс мікробіоти генітального тракту може робити значний внесок у розвиток і прогресування цервікальної патології.

Ключові слова: патологія шийки матки, дисбіоз, мікробіота, полімеразна ланцюгова реакція в реальному режимі часу.

Однією з найбільш актуальних проблем сучасної онкологічної гінекології є злякисні захворювання шийки матки. Разом із тим встановлено, що рак шийки матки не виникає на незміненому епітелії, його виникненню передують фонові і передракові захворювання шийки матки. Патологія шийки матки є одним з найбільш поширених гінекологічних захворювань, особливо в умовах жіночої консультації – 25–45%. Слід зазначити, що незважаючи на реальну можливість раннього виявлення та профілактики злякисних процесів шийки матки, уявлення про етіологію і патогенез процесів, що передують раку шийки матки, продовжують залишатися дискусійними, а число жінок з патологією шийки матки не має тенденції до зниження.

З позиції морфології багаточаровий епітелій вагінальної частини шийки матки в процесі малігнізації проходить стадії епітеліальних неоплазій і преінвазивного раку, а вони, в свою чергу, формуються на ґрунті фонових захворювань. Поряд з доведеною етіологічною роллю вірусу папіломи людини (ВПЛ) в розвитку цервікальної неоплазії, триває обговорення зв'язку між патологією шийки матки та іншими вагінальними інфекціями, в тому числі спричиненими умовно-патогенною флорою, що завжди призводить до порушення мікробіоценозу піхви. В останніх дослідженнях як іноземних, так вітчизняних вчених, дисбіоз піхви розглядається як потенційний патогенетичний кофактор цервікального раку. Також, підвищення ефективності вторинної та третинної профілактики злякисних захворювань шийки матки, пов'язують із впровадженням нових лабораторних технологій для морфологічної та молекулярної діагностики передракових змін.

Нормалізація вагінального мікробіоценозу є важливим етапом лікування будь-якої патології нижнього відділу генітального тракту. Широке використання в комплексному лікуванні захворювань шийки матки хіміотерапевтичних та антибактеріальних засобів може чинити негативний вплив на нормальну флору генітального тракту, спричиняти або посилювати дисбіотичні порушення та знижувати ефективність лікування. Це важливо враховувати при ви-

борі засобів санації перед деструкцією і ексцизією атипового епітелію, а також під час підбору препаратів для профілактики ускладнень після інвазивних втручань.

На сьогодні ефективним методом оцінювання мікробіоти генітального тракту у жінок вважають полімеразну ланцюгову реакцію в реальному часі (ПЛР-РЧ). ПЛР-РЧ система «Фемофлор» дозволяє оцінити якісний і кількісний склад мікрофлори статевих шляхів [2, 3].

Мета дослідження: характеристика біоценозу генітального тракту шляхом комплексного оцінювання балансу нормальної, умовно-патогенної та безумовно-патогенної мікробіоти у жінок з фоновими та передраковими процесами на шийці матки із застосуванням набору реагентів «Фемофлор скрин».

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Обстежено 95 жінок, які звернулися до кабінету патології шийки матки на базі жіночої консультації

Таблиця 1

Спектр умовно-патогенних та безумовно-патогенних мікроорганізмів для визначення в тест-системі ПЛР-РЧ «Фемофлор скрин»

Показники	Фемофлор скрин
Контроль взяття матеріалу	+
ЗБМ	+
НОРМОФЛОРА	
Lactobacillus spp.	+
АНАЕРОБНІ МІКРООРГАНІЗМИ	
Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/ < Porphyromonas spp.	+
МІКОПЛАЗМИ	
Mycoplasma hominis	+
Mycoplasma genitalium	
Ureaplasma (urealyticum + parvum)	+
ГРИБИ	
Candida spp.	+
БЕЗУМОВНО-ПАТОГЕННІ МІКРООРГАНІЗМИ	
Trichomonas vaginalis/ Neisseria gonorrhoeae/ Chlamydia trachomatis/	+
Herpes simplex virus 2/ Cytomegalovirus/ Herpes simplex virus 1	+

Вінницького міського клінічного пологового будинку №1 з приводу захворювань шийки матки проліферативного генезу. Вік хворих з фоновими та передраковими захворюваннями шийки матки: до 20 років – 2 (2,2%) пацієнтки, 21–30 років – 35 (36,8%), 31–40 – 38 (40%), 41–50 – 14 (14,7%) та більше 51 року – 6 (6,3%) пацієнток.

Перша група – 53 (55,8%) жінки з фоновими захворюваннями шийки матки (ендоцервіцит, ектропіон, лейкоплакія, поліп каналу шийки матки); друга – 20 (21,05%) осіб з цервікальною інтраепітеліальною неоплазією I ступеня (ЦІН I), третя – 14 пацієнток (14,7%) з ЦІН II; четверта – 8,4% з ЦІН III (рак in situ).

Критерії виключення з дослідження: вагітність або лактація, системне застосування гормональних контрацептивних засобів або гормональної замісної терапії, а також антибактеріальних препаратів в останні 2 міс, використання місцевих лікарських препаратів протягом 3 тиж, що передують обстеженню; захворювання, що передаються статевим шляхом (сифіліс, гонорея).

У всіх випадках проводили лабораторне обстеження з допомогою методів рідинної цитології, тесту Папаніколау і ПЛР-РЧ. Матеріал для дослідження збирали з каналу шийки матки та задньобочкової стінки піхви в пробірку Ешпендорф, що містила 1 мл фізіологічного розчину; зберігання і транспортування матеріалу проводили згідно з діючими нормативним документам. ДНК виділяли з використанням комплекту реагентів «ПРОБА-ГС» (ТОВ «НВО ДНК-Технологія», м. Москва). Дослідження біоценозу піхви проводили з використанням реагентів «Фемофлор скрин» в ампліфікаторі ДТ-96 згідно з інструкцією виробника. Кількість епітеліальних клітин у взятому матеріалі оцінювали за результатами аналізу геномної ДНК людини в кожному зразку. За допомогою спеціалізованого програмного забезпечення розраховували кількість [в генном-еквівалентах на мілілітр (ге/мл)] загальної бактеріальної маси (ЗБМ), лактобацил і різних груп умовно-патогенних та безумовно-патогенних мікроорганізмів (анаеробних мікроорганізмів, мікоплазм, трихомонад, хламідій цитомегаловірусу та ін.) (табл. 1).

Також визначали частку нормофлори, анаеробних мікроорганізмів та безумовно-патогенних мікроорганізмів у відсотках серед усіх виявлених бактерій [2]. Оцінювання нормобіоти (основний представник – лактобактерії) проводили як в абсолютних показниках (ге/мл), так і у відносних, тобто в порівнянні з ЗБМ. Відповідно до даних клінічної апробації тесту «Фемофлор» була запропонована наступна класифікація видів біоценозу: дисбаланс I, помірний – варіант біоценозу, при якому частка лактобактерій складає 10–90% стосовно ЗБМ та збільше-

на частка анаеробів. Дисбаланс II, виражений варіант біоценозу, при якому частка анаеробів досягає 90% відносно ЗБМ, а частка лактобактерій знижується до рівня менше 10% щодо ЗБМ [13].

Оцінювали такі статистичні показники: розподіл емпіричних статистичних сукупностей і параметрів цього розподілу, проміжні підсумки у вигляді абсолютних величин, відносні величини.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати проведеного клінічного дослідження свідчать, що більшість жінок – 78 пацієнток (82,1%) звернулися зі скаргами на виділення зі статевих шляхів або відчуття печіння і дискомфорту в області зовнішніх статевих органів; 17 осіб (17,9%) пред'являли скарги на «незначні» або «помірні» виділення, що розцінювалося ними як варіант фізіологічної норми. «Виражені» виділення з піхви, що стало причиною звернення пацієнток в лікувальний заклад, спостерігалися тільки у 21 жінки (22,1%). З метою профілактичного огляду звернулися 24 пацієнтки (25,3%).

Під час аналізу супутньої екстрагенітальної патології у спостережуваних нами пацієнток був констатований високий інфекційний індекс. Найбільш часто виявляли хронічні запальні захворювання органів дихання та сечовивідних шляхів, а також вірусні респіраторні інфекції. Захворювання травного тракту в 47,4% випадків були представлені дисбактеріозом кишечника. У структурі гінекологічної патології відзначено високий рівень запальних захворювань нижнього відділу генітального тракту та органів малого таза, що може бути свідченням як зниженої резистентності макроорганізму в цілому, так і порушенням місцевих захисних факторів вагінального мікробіоценозу.

У першій групі (фонова патологія) у 10 жінок з 53 абсолютне число лактобактерій практично не відрізнялося від ЗБМ (тобто склало 10^6 – 10^8 Іг), що відповідало нормативним показникам. У групах з різним ступенем вираженості патології шийки матки проліферативного генезу число пацієнток з переважанням лактобактерій в мікробіоті було менше.

Нормоценоз в першій групі зареєстрований у 10 жінок (10,5%), в групах ЦІН I та ЦІН II у 6 та 2 пацієнток відповідно, що становить 6,3% та 2,1% від загальної кількості жінок у групі (табл. 2).

У першій групі виражений дисбаланс мікробіоти відзначений у 24 (25,3%), у той час як у групах ЦІН II і ЦІН III (рак in situ) – у 10 (10,5%) та 5 (5,3%) відповідно, у групі жінок з ЦІН I – у 11 жінок (11,6%).

Таблиця 2

Показники урогенітальної біоти у жінок з патологією шийки матки (n=95)

Показники	Фонова патологія (n=53)		ЦІН I (n=20)		ЦІН II (n=14)		ЦІН III (n=8)	
	Абс. число	%	Абс. число	%	Абс. число	%	Абс. число	%
Нормоценоз	10	10,5	6	6,3	2	2,1	0	-
Помірний дисбіоз	19	20,0	5	5,3	2	2,1	3	3,2
Виражений дисбіоз	24	25,3	11	11,6	10	10,5	5	5,3
Кандидоз	18	18,9	14	14,7	10	10,5	7	7,4
Мікоплазмоз (мікоплазми, уреоплазми)	10	10,5	5	5,3	6	6,3	4	4,2
Хламідіоз	0	-	0	-	1	1,05	2	2,1

Проте в разі внутрішньогрупового розподілу ці показники становили відповідно 71,4%, 62,5% та 55,0%.

З використанням тесту «Фемофлор скрин» також визначали анаеробні умовно-патогенні мікроорганізми. У всіх клінічних групах найбільш часто реєстрували анаеробний дисбіоз – 38 випадків (40,0%). У першій групі у 8 (8,4%) жінок виявлено анаеробний дисбіоз, в інших групах у міру збільшення вираженості патології зростала частка пацієнток з анаеробним дисбіозом. У групах пацієнток з ЦІН I, ЦІН II та ЦІН III (рак in situ) число жінок з анаеробним дисбіозом складало 13 (13,7%), 10 (10,5%) та 7 (7,4%) відповідно, що при розподілі в групі становило відповідно 65,0%, 71,4% та 87,5%.

У структурі порушень біоценозів урогенітального тракту важливу роль відіграють гриби роду *Candida* і уреоплазми. Останні виявляли у всіх групах досліджуваних, частка пацієнток, у яких кількість уреоплазм перевищила 10^4 ге/мл, була значною (26,3%). Гриби роду *Candida* були присутні у більшості обстежених жінок в кількості більше 10^3 ге/мл, що, ймовірно, було віддзеркаленням місцевого імунodefіциту. У 12,6% пацієнток грибкову флору виявляли і в більш значних кількостях: 10^4 – 10^5 ге/мл. Відносно безумовно-патогенної флори, то найчастіше виявляли мікроорганізми *Chlamydia trachomatis* – 3 (3,2%) випадки.

Оцінка бактеріальних і грибкових патогенів, виділених в окремі групи (уреоплазми, мікоплазми, *Candida* та безумовно-патогенних мікроорганізмів), свідчить про відсутність будь-якого зв'язку між даними мікроорганізмами та диспластичними процесами шийки матки.

Наведені дані свідчать про те, що в групах жінок із захворюваннями шийки матки проліферативного генезу відбувається значне витіснення лактобактерій із заміною їх переважно на анаеробні мікроорганізми. Значну роль у формуванні та підтримці дисбалансу біоти відіграють анаеробні мікробні асоціації.

ВИСНОВКИ

1. Використання ПЛР в реальному часі для оцінювання біоценозу генітального тракту у жінок дозволило встановити, що 78,9% пацієнток з фоновими та передраковими процесами шийки матки мали ті чи інші порушення біоценозу піхви, а саме пригнічення молочнокислих бактерій

на тлі підвищення вмісту представників умовно- та безумовно-патогенної флори. Дисбаланс відповідного епітоту генітального тракту може здійснювати значний внесок у розвиток і прогресування цервікальних уражень.

2. Набір реагентів «Фемофлор скрин» дозволяє визначити, які групи мікроорганізмів переважно спричинюють дисбіоз. Лабораторний тест «Фемофлор скрин» пропонує принципово новий підхід з оцінювання фізіологічної рівноваги і дисбалансу біоти, що дає можливість вибрати адекватну терапію і контролювати її проведення.

3. Впровадження інноваційних лабораторних технологій разом з превентивною вакцинацією відкривають нові перспективи профілактики раку шийки матки та збереження здоров'я жінок.

Характеристика біоценоза генітального тракту у жінок з патологією шийки матки С.И. Жук, О.А. Таран, А.М. Кошмеринская, В.С. Лаврентюк, О.В. Шамрай

При обстеженні 95 пацієнток с фоновими і передраковими процесами шийки матки виявлена кореляція між дисбіотическими изменениями влагалища (угнетение молочнокислых бактерий на фоне повышения содержания представителей условно- и безусловно-патогенной флоры) и цервикальной патологией при помощи ПЦР-РВ «Фемофлор скрин». Дисбаланс микробиоты генитального тракта может вносить существенный вклад в развитие и прогрессирование цервикальной патологии.
Ключевые слова: патология шейки матки, дисбиоз, микробиота, полимеразная цепная реакция в реальном режиме времени.

Characteristics of ecological community of the genital tract in women with abnormal cervical S.I. Zhuck, O.A. Taran, A.M. Koshmerinska, V.S. Lavrentyuk, O.V. Shamrai

In a study of 92 patients with precancerous cervical conditions the correlation between dysbiotic changes in the vagina (inhibition of lactic acid bacteria on the background of higher content of representatives of conditional- and unconditionally pathogens) and cervical pathology was detected after using RT-PCR «Femoflor screen.» The imbalance of the genital tract microbiota can make a significant contribution to the development and progression of cervical disease.

Key words: pathology of the cervix, dysbiosis, microbiota, polymerase chain reaction in real time.

Сведения об авторах

Жук Светлана Ивановна – Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9. E-mail: zhuksvitlana@ukr.net

Таран Оксана Анатольевна – Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова, 21018, г. Винница, ул. Пирогова, 56; тел.: (0423) 51-12-56. E-mail: taranoa@ukr.net

Кошмеринская Алина Николаевна – Житомирский областной онкологический диспансер, 10000, г. Житомир, ул. Фещенко-Чопивского, 24/4. E-mail: alina.koshmerinskaya@mail.ru

Лаврентюк Вита Станиславовна – Винницкий клинический родильный дом № 1, 21000, г. Винница, Хмельницкое шоссе, 96

Шамрай Елена Владимировна – Винницкий областной онкологический диспансер, г. Винница, Хмельницкое шоссе 92

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Сидорова И.С. Фоновые и предраковые процессы шейки матки/ Сидорова И.С., Леваков С.А. – М.: Медицинское информационное агентство. – 2006. – 92 с.
2. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной ПЦР: что есть норма? / Ворошилина Е.С., Тумбинская Л.В., Донников А.Е. и др. // Акушерство и гинекология, № 1. – 2011. – С. 57–65.
3. Применение теста Фемофлор для оценки микробиоценоза влагалища / Шипицына Е.В., Мартикайнен З.М., Воробьева Н.Е. и др. // Журнал акушерства и женских болезней. – 2009. – Т. LVIII, № 3. – С. 44–50.
4. Landis J.R. The measurement of observer agreement for categorical data / Landis J.R. and Koch G.G. – Biometrics 33, 1977. – P. 159–174.
5. Особенности биоценоза влагали-

ща у женщин с нормальным и промежуточным типом мазка по результатам полимеразной цепной реакции в режиме реального времени / Тумбинская Л.В., Ворошилина Е.С., Донников А.Е. и др. // Акушерство и гинекология, № 1. – 2011. – С. 66–70.

6. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной ПЦР: состояние во время беременности / Вороши-

на Е.С., Тумбинская Л.В., Донников А.Е. и др. // Уральский медицинский журнал, № 3 (68). – 2010. – С. 103–107.

7. Female genital-tract HIV load correlates inversely with Lactobacillus species but positively with bacterial vaginosis and Mycoplasma hominis / Sha B.E., Zariffard M.R., Wang Q.J. [et al.] // J Infect Dis. – 2005. – Vol. 191 (1). – P. 25–32.

Статья поступила в редакцию 19.07.2013