

Особенности коррекции вагинального микробиома при неоплазии шейки матки

С.И. Жук, О.А. Таран, Т.В. Лобастова

Национальная медицинская академия последиипломного образования имени П.Л. Шупика, г. Киев
Винницкий национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова

Целью исследования было повышение эффективности коррекции вагинального микробиома в комплексной терапии неоплазии шейки матки. В амбулаторных условиях проведено обследование и комплексное лечение 66 женщин с цервикальной интраэпителиальной неоплазией (ЦИН) I. В результате бактериологического и бактериоскопического методов исследования была установлена достоверная клиническая эффективность пробиотика Вагисан в коррекции вагинального дисбиоза после лазерной вапоризации шейки матки. При назначении Вагисана количество лактобактерий увеличилось до 10^8 – 10^9 КОЕ/г, снижалась частота выделения представителей условно-патогенной флоры и уменьшалось их содержание.

Ключевые слова: вагинальный микробиом, ЦИН, лазерная вапоризация, Вагисан.

Анатомическое и функциональное благополучие репродуктивной системы женщины обеспечивает многоступенчатая система, защищающая половые органы от инфекций. Уровень pH влагалища (3,8–4,2) обеспечивает создание колонизационной резистентности, продукция перекиси водорода, выработка ингибиторов метаболизма патогенной и условно-патогенной флоры – эндобиотиков – бактериоцина (bacteriocin) и лизоцима препятствуют микробной вегетации. Роль барьера также выполняет шейка матки при условии ее анатомической целостности, которая создает предпосылки к высокой концентрации факторов местного иммунитета в цервикальной слизи [6, 7].

«Биоценоз влагалища» – это термин, который используется преимущественно в отечественной практике. В последние годы влагалищную экосистему начали называть «вагинальным микробиомом/микробиотой». Под этим термином понимают динамичную среду, подверженную резким колебаниям видового состава и численности бактерий в зависимости от возраста женщины, фазы цикла и других факторов [8].

Необходимо понимать, что микробиом влагалища является не только нестабильной, но и неоднородной средой. В то время как одни микробные сообщества, входящие в его состав, меняются быстро, другие характеризуются относительным постоянством. Необходимым условием создания и поддержания физиологического состояния является зрелый эпителий, который играет важную роль в колонизации влагалища лактобактериями и поддержании их жизнедеятельности. Эстрогены индуцируют накопление в вагинальном эпителии гликогена, являющегося метаболическим субстратом для лактобактерий, а также стимулируют формирование рецепторов к лактобактериям на эпителиальных клетках. В свою очередь лактобактерии расщепляют гликоген с образованием молочной кислоты. Кроме того, лактобактерии активно конкурируют с другими микроорганизмами за возможность адгезии к клеткам влагалищного эпителия, тем самым стимулируя иммунную систему макроорганизма [4, 5, 9]. Уровень иммунного ответа регулируется сте-

пенью интенсивности антигенного раздражения слизистых оболочек ацидофильной микрофлорой. Лактобактерии активируют TLR-рецепторы эпителиальных клеток, распознающие различные микроорганизмы, что приводит к выработке провоспалительных цитокинов в количествах, достаточных для контроля над размножением нежелательной микрофлоры [8].

В литературе имеется немало данных о взаимосвязи между цервикальной неоплазией и нарушениями бактериальной микробиоты [1, 10]. Бактериальные полиамины, продуцируемые факультативно-анаэробной флорой, обладают канцерогенными свойствами и могут синергично взаимодействовать с ВПЧ [11]. Вместе с тем, другими исследователями взаимосвязь между заболеваниями шейки матки и состоянием микроэкологии влагалища не подтверждается [6]. В этой связи остается актуальным изучение характера изменений в составе микробиоценоза влагалища у пациенток с цервикальной интраэпителиальной неоплазией (ЦИН).

Кроме того, наиболее физиологичным, безопасным и перспективным на сегодняшний день представляется использование для восстановления влагалищного микробиома пробиотиков – препаратов, состоящих из микроорганизмов, «оказывающих благотворное влияние на здоровье носителя» [12]. В настоящее время в гинекологической практике с этой целью используют такие препараты, как Ацилакт, Лактобактерин и т.д. Общий недостаток данных средств заключается в том, что они обладают низкой адгезивной активностью по отношению к вагинальным эпителиоцитам и не позволяют добиться стойкого терапевтического эффекта [2, 3, 8]. Следовательно, необходим поиск новых, более микробиологически обоснованных, биотерапевтических препаратов.

В связи с изложенным выше, адекватная оценка и эффективная коррекция влагалищного микробиоценоза являются необходимыми составляющими лечения заболеваний шейки матки и определяют актуальность настоящей работы.

Цель исследования: повышение эффективности коррекции вагинального микробиома в комплексной терапии неоплазии шейки матки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом для изучения состояния микробиоты влагалища стали 66 женщин репродуктивного возраста с ЦИН I, подтвержденной гистологическим исследованием. Исследование было проведено на базе кафедры акушерства, гинекологии и медицины плода НМАПО им. П.Л. Шупика и кафедры акушерства и гинекологии № 1 ВНМУ им. Н.И. Пирогова за период февраль 2013 – октябрь 2013 года.

Всем обратившимся проводили обследование, включавшее кольпоскопию, цитологическое, гистологическое и микробиологическое исследования. Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) было подтверждено отсутствие ДНК вируса папилломы человека (ВПЧ) высокоонкогенных типов в соскобах из канала шейки матки. Комплексное лечение заключалось в проведении лазерной вапоризации шейки

матки с последующим назначением препаратов для коррекции вагинальной микрофлоры.

Лазерная вапоризация осуществлялась при применении диодного лазера «Лица-хирург» (далее ЛХ), работающего в инфракрасном диапазоне, с длиной волны 940 нм, терапевтической выходной мощностью 18 Вт (свидетельство о государственной регистрации № 4710/2006). При обработке с помощью лазера патологического участка применяли воздействие расфокусированным лазером в бесконтактном режиме.

В зависимости от условий исследования больные были разделены на две группы. Основная группа (n=36), в которой пациенткам был рекомендован препарат Вагисан по 1 капсуле 2 раза в день в течение 15 дней. Группу сравнения составили 30 пациенток, которым после лазерной деструкции шейки матки не была проведена коррекция вагинального микробиота. Всем женщинам было рекомендовано не применять спринцеваний, интравагинальных или системных противомикробных препаратов, кроме назначенной терапии, а также обязательно воздерживаться от половой жизни.

Контрольную группу составили 20 практически здоровых женщин репродуктивного возраста, которым было проведено микроскопическое и бактериологическое обследование.

Материалом для бактериоскопического и бактериологического исследований являлось вагинальное отделяемое, сбор которого осуществляли из заднего свода влагалища, а транспортировку проводили в строго анаэробных условиях.

Для культурального исследования из исследуемого материала готовили 10-кратные серийные разведения в растворе Хенкса (рН 6,8–7,0). По 0,1 мл соответствующих разведений вагинального содержимого засеивали на различные питательные среды [2].

Оценивали следующие статистические показатели: распределение эмпирических статистических совокупностей и параметров этого распределения, промежуточные итоги в виде абсолютных величин, относительные величины. Статистическую обработку полученных данных проводили по общепринятому методу вариационной статистики. Значимость расхождения между сравниваемыми данными оценивали по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Средний возраст изучаемых больных с ЦИН I составил 26,5 года. При анализе сопутствующей экстрагенитальной патологии у наблюдаемых пациенток был выявлен высокий инфекционный индекс. Чаще всего встречались хронические воспалительные заболевания органов дыхания и мочевыводящих путей, а также вирусные респираторные инфекции. Заболевания пищеварительного тракта в 36,4% были представлены дисбактериозом кишечника.

Средний возраст наступления менархе в группах обследованных женщин составил 12,8 года. При обращении у 21,2% пациенток отмечались жалобы на нерегулярные менструации. Для 30,3% больных характерным являлось раннее начало половой жизни. Обращал на себя внимание и тот факт, что 40,9% обследуемых имели более двух половых партнеров.

Как показали данные акушерского анамнеза, большинство обследованных (62,1%) пациенток имели беременности, закончившиеся родами. Наиболее часто в анамнезе у пациенток отмечалось искусственное прерывание беременности, уровень которого достигал 72,7% случаев. Обращала на себя внимание сравнительно высокая частота у больных с ЦИН I в анамнезе самопроизвольного прерывания беременности (22,7%).

При изучении структуры гинекологических заболеваний у обследованных пациенток отмечен высокий уровень воспалительных заболеваний органов малого таза, что может быть свидетельством сниженной резистентности как макро-

организма в целом, так и нарушением местных защитных факторов – вагинального микробиота.

Развернутое микробиологическое исследование отделяемого из заднего свода влагалища осуществлялось перед проведением деструктивного лечения, а затем через 3 нед и по прошествии 2 мес после лазерной вапоризации.

На момент проведения лазерной вапоризации, при взятии материала для первого исследования вагинальной микрофлоры у больных с ЦИН I, отсутствовали результаты, которые свидетельствовали о нарушении влагалищной микрофлоры. Однако 24 пациентки (36,4% случаев) предъявляли жалобы на обильные слизистые выделения, не сопровождаемые зудом, а 28,8% (19 женщин) – на чувство дискомфорта в области наружных половых органов. В 48,5% случаев указанные жалобы отмечались на протяжении 12 мес. У 31,8% наблюдаемых женщин (21 пациентка) в анамнезе отмечено деструктивное лечение шейки матки, а 10,6% (7 случаев) были подвергнуты ему дважды.

При кольпоскопии площадь поражения шейки матки у пациенток в нашем исследовании варьировала от 15% до 75%, наиболее часто встречалось поражение шейки матки, занимающее от 25% до 50% площади эктоцервикса.

В результате проведения исследования было установлено, что у 19 из 20 здоровых женщин (95%) в микробном пейзаже влагалища преобладали молочнокислые палочки, среднее количество которых составило в исследуемом материале $7,5 \pm 0,5$ КОЕ/г. Бифидобактерии выявляли в 30% случаев в количестве $4,7 \pm 0,3$ КОЕ/г. Среди других анаэробных микроорганизмов наиболее часто встречались такие представители, как пептострептококки и бактероиды (5,0% случаев), а их содержание составило соответственно $2,4 \pm 0,1$ КОЕ/г и $2,2 \pm 0,1$ КОЕ/г.

Факультативно-анаэробная флора преимущественно была представлена стафилококками – 35% случаев при количественном уровне $4,2 \pm 0,1$ КОЕ/г в вагинальном отделяемом. Энтеробактерии у наших пациенток были представлены E.coli и обнаруживались в 25,0% случаев в количестве $3,4 \pm 0,2$ КОЕ/г. Грибы рода Candida были выявлены у 5% пациенток в количестве $3,1 \pm 0,2$ КОЕ/г при полном отсутствии жалоб и клинических проявлений.

Полученные данные свидетельствуют, что у 89,4% больных с ЦИН I отмечались дисбиотические отклонения различной степени выраженности. Наиболее показательным было снижение количества и частоты обнаружения лактобактерий, которое выявлялось у 80,3% наблюдаемых. При анализе состава условно-патогенной микрофлоры у пациенток с ЦИН I наиболее часто обнаруживались такие грамположительные факультативно-анаэробные бактерии, как стафилококки. Кроме того, увеличение частоты обнаружения факультативно-анаэробных микроорганизмов наблюдалось за счет роста энтерококков (33,3%) в количестве $4,3 \pm 0,1$ КОЕ/г у пациенток с ЦИН I, что было достоверно выше показателей здоровых женщин ($p < 0,05$). Грамотрицательные энтеробактерии определялись в 21,2%. У пациенток с ЦИН I также наблюдался высокий уровень контаминации влагалища дрожжеподобными грибами рода Candida. В группе с патологией шейки матки частота выявления этого микроорганизма превысила показатели у здоровых женщин почти в 4 раза (19,7%). Частота обнаружения пептострептококков почти в 3 раза превысила показатели здоровых женщин и их количество было достоверно выше показателей нормоценоза.

Таким образом, анализ состояния микрофлоры влагалища у пациенток с ЦИН I свидетельствовал как о качественных, так и о количественных изменениях в составе бактерий. Прежде всего, обращает на себя внимание снижение содержания основных представителей лактофлоры. Подобная супрессия собственной индигенной флоры послужила причиной увеличения роста таких условно-патогенных микроор-

ганизмов, как стафилококки, энтерококки, энтеробактерии, дрожжеподобные грибы рода *Candida*. Повышение содержания представителей условно-патогенной флоры одновременно с выраженным угнетением молочнокислых бактерий позволило расценить характер вагинальной микрофлоры как дисбиотический.

У пациенток группы сравнения на 18-е сутки после проведения лазерной вапоризации шейки матки, по результатам культурального исследования наблюдался рост дефицита основных представителей микрофлоры. Лактобациллы в количестве $3,8 \pm 0,4$ КОЕ/г были выявлены только у 26,7% пациенток. Снизился количественный уровень таких аэробных бактерий, как стафилококки. Кроме того, частота обнаружения кишечной палочки после проведенного лечения составила 30%, а количественный уровень соответствовал $3,0 \pm 0,2$ КОЕ/г. Достоверно снизился уровень энтерококков ($p < 0,05$), которые после лазерной вапоризации определялись только у трех пациенток (10%) в количестве $3,2 \pm 0,3$ КОЕ/г. Однако количественный уровень выявленных у пяти пациенток дрожжеподобных грибов рода *Candida* после терапии вырос и составлял $4,6 \pm 0,3$ КОЕ/г.

Повторное бактериологическое исследование через два месяца после окончания терапии выявило реколонизацию влагалища условно-патогенной микрофлорой при сохранившемся дефиците лактобактерий (определялись у пятирх больных (16,6% случаев) в количестве $3,4 \pm 0,3$ КОЕ/г), что было достоверно ниже показателей до лечения. Содержание дрожжеподобных грибов рода *Candida*, выявленных у 40% больных, составило $4,8 \pm 0,2$ КОЕ/г, что также было достоверно выше показателей до проведения терапии ($p < 0,01$).

Таким образом, через два месяца после лазерной вапоризации у пациенток группы сравнения возобновилась колонизация влагалища условно-патогенными штаммами микроорганизмов. Количественный уровень как аэробных, так и анаэробных бактерий, достиг и даже несколько превысил их показатели до лечения. Наряду с этим, к моменту повторного исследования усугубился дефицит основных представителей микробиоценоза влагалища – лактобацилл.

По данным бактериологического исследования, проведенного на третий день после отмены пробиотика Вагисан, количество лактобактерий увеличилось до 10^8 – 10^9 КОЕ/г в изучаемом материале у пациенток основной группы, что было достоверно выше показателей в группе с ЦИН I до лечения ($p < 0,05$). Следует отметить, что содержание кишечной палочки после терапии Вагисаном стало достоверно более низким ($p < 0,05$), чем у больных с ЦИН I до терапии. Анализируя изменения состояния вагинального микробиоценоза на фоне применения Вагисана, следует также отметить уменьшение содержания таких анаэробных микроорганизмов, как бактероиды и пептострептококки.

Повторное бактериологическое исследование состояния вагинального микробиоценоза было проведено через два месяца после коррекции Вагисаном. Исследование показало, что основную массу микроорганизмов составляли лактобациллы, количественный уровень которых по-прежнему соответствовал 10^8 – 10^9 КОЕ/г. Результативность проведенного лечения также подтверждалась дальнейшим снижением частоты выделения представителей условно-патогенной флоры и уменьшением их содержания. Наиболее показательными были изменения, наблюдаемые в составе представителей анаэробной микрофлоры влагалища. Так, бактероиды были выявлены только у половины пациенток основной группы, их количество не превышало $2,4 \pm 0,2$ КОЕ/г. Другие представители анаэробной флоры, пептострептококки, в основной группе вообще не обнаруживались.

Таким образом, результаты микробиологического изучения коррекции дисбиотических отклонений после деструктивного лечения ЦИН I подтвердили эффективность пробиотика Вагисан. Антагонистически активные и обладающие выраженной способностью к адгезии в отношении вагинальных эпителиоцитов штаммы лактобацилл, входящие в состав этого пробиотика, эффективно восстанавливали микробиоту влагалища, способствуя повышению колонизационной резистентности, что позволило подавить рост условно-патогенных микроорганизмов и пролонгировало терапевтический эффект.

Жалобы через два месяца после лазерной вапоризации сохранились у 50% пациенток 1-й группы: у 30% на умеренные слизистые выделения из половых путей, у 20% – в сочетании с зудом или жжением. В основной группе умеренные бели сохранились у 11,1% больных, жалобы на выделения с зудом предъявляла одна пациентка (2,8%).

Результаты кольпоскопического исследования, которое было проведено всем пациенткам через два месяца после лазерной вапоризации, показали, что у 88,9% больных основной группы и 66,7% – группы сравнения на эктоцервиксе до наружного зева визуализировался типичный многослойный плоский эпителий. Наличие аномальной кольпоскопической картины было диагностировано у 1 пациентки основной группы (тонкий ацетобелый эпителий с неровными четкими краями) и в 1 случае в группе сравнения (плотный ацетобелый эпителий с четкими контурами).

ВЫВОДЫ

Результаты исследования свидетельствовали о том, что вагинальная микробиота у здоровых женщин характеризуется видовым многообразием на фоне преобладания лактобактерий. Содержание пероксид-продуцирующих лактобацилл в высоких концентрациях формирует во влагалище естественный барьер бактериальной защиты.

Цервикальные интраэпителиальные неоплазии (ЦИН) сочетаются с дисбиотическими отклонениями вагинальной микрофлоры, которые проявляются в повышении количества и частоты выделения как анаэробных, так и аэробных условно-патогенных бактерий на фоне снижения уровня лактобактерий.

Капсулы Вагисан способствуют восстановлению и поддержанию нормальной микрофлоры, повышают уровень лактобактерий во влагалище, указанный препарат не обладает побочными действиями и обеспечивает длительный терапевтический эффект.

Использование после лазерной вапоризации препарата Вагисан обеспечивает эффективное и длительное восстановление вагинального биоценоза, что позволяет считать его назначение на этапе репарации оптимальным способом коррекции дисбиотических нарушений в лечении ЦИН I.

Особливості корекції вагінального мікробіома при неоплазії шийки матки

С.І. Жук, О.А. Таран, Т.В. Лобастова

Метою дослідження було підвищення ефективності корекції вагінального мікробіома у комплексній терапії неоплазії шийки матки. В амбулаторних умовах проведено обстеження та комплексне лікування 66 жінок із цервікальною інтраепітеліальною неоплазією (ЦІН) I. У результаті бактеріологічного та бактеріоскопічного методів дослідження була встановлена достовірна клінічна ефективність пробиотика Вагисан® у корекції вагінального дисбіозу після лазерної вапоризації шийки матки. У разі призначення Вагисану® кількість лактобактерій збільшилася до 10^8 – 10^9 КУО/г, знижувалася частота виділення представників умовно-патогенної флори та зменшувалася їхня кількість.

Ключові слова: вагінальний мікробіом, ЦІН, лазерна вапоризація, Вагисан®.

The features of correction of vaginal microbiome in cervical neoplasia

S.I. Zuk, O.A. Taran, T.V. Lobastova

The aim of the study was to improve the efficiency of correction of vaginal microbiome in the treatment of cervical neoplasia. Outpatient examined and combined treatment 66 women with CIN I. As a result

of bacteriological and bacterioscopic research methods was established reliable clinically efficiency of Vagisan in the correction of vaginal dysbiosis after laser vaporization of the cervix. With the appointment of Vagisan number of lactobacilli was increased to 10^8 – 10^9 CFU/g, was reduced the frequency of selection of representatives pathogenic flora and decreased their amount.

Key words: vaginal microbiome, CIN, laser vaporization, Vagisan®.

Сведения об авторах

Жук Светлана Ивановна – Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л. Шупика, 04112, г. Киев, ул. Дорогожицкая, 9

Таран Оксана Анатольевна – Винницкий национальный медицинский университет им. Н. И. Пирогова; 21018, г. Винница, ул. Пирогова, 56; тел.: (097) 538-12-06. E-mail: taranoa@ukr.net

Лобастова Татьяна Валерьевна – Винницкий национальный медицинский университет им. Н. И. Пирогова; 21018, г. Винница, ул. Пирогова, 56

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамшвили Ю.Г. Хронический экзоцервицит на специализированном приеме по патологии шейки матки / Ю.Г. Абрамшвили, А.Е. Маслюк, Л.А. Топорова // *Мать и дитя: материалы XI Всерос. науч. форума.* – М., 2010. – С. 289.
2. Буданов П.В. Новое в терапии нарушений микроценоза влагалища / П.В. Буданов // *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.* – 2006. – № 1. – С. 104–108.
3. Высоцких Т.С. Коррекция нарушений биоценоза влагалища при лечении гестационного пиелонефрита / Автореф. дис. ... канд. мед. наук / Т.С. Высоцких. – Самара, 2008. – 24 с.
4. Иммунологические аспекты бактериального вагиноза у женщин репродуктивного возраста / К.Р. Бондаренко, А.Н. Еникеев, Ю.Р. Гайсина, А.Р. Мавзютов // *Мать и дитя: материалы XI Всерос. науч. форума.* – М., 2010. – С. 317–318.
5. Кореева Н.В. Оптимизация комплексного лечения фоновых заболеваний шейки матки у женщин репродуктивного возраста / Автореф. дис. ... канд. мед. наук / Н.В. Кореева. – М., 2007. – 21 с.
6. Манухин И.Б. Микробиоценоз влагалища и патология шейки матки. Возможности коррекции дисбиотических состояний / И.Б. Манухин, Г.Н. Минкина, В.С. Калинина // *Поли-клиническая гинекология (клинические лекции)* под редакцией проф. В.Н. Прилепской. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – С. 37–46.
7. Молчанов О.Л. О роли модуляции кислотности влагалищной жидкости в терапии бактериального вагиноза / О.Л. Молчанов, Ю.Л. Тимошенко, В.Г. Абаши // *Гинекология.* – 2010. – Т. 12, № 1. – С. 33–36.
8. Радзинский В.Е., Ордянец И.М. Двухэтапная терапия вагинальных инфекций / В.Е. Радзинский, И.М. Ордянец // *StatusPraesens.* – 2012. – 16 с.
9. Disruption of urogenital biofilms by lactobacilli / McMillan A., Dell M., Zellar M.P. et al. // *Colloids Surf. B. Biointerfaces.* – 2011. – Vol. 86, № 1. – P. 58–64.
10. Evtash E, Hill EC, Pernoll ML. Benign disorders of the uterine cervix. In DeCherney AH, eds: *Current Obstetric & Gynecologic, Diagnosis & Treatment.* 9th ed. Beijing: The McGraw-Hill Companies. – 2003. – P. 677–692.
11. Evidence for benefits from treating cervical ectopy: literature review / Luns Carlos Machado, Ana Shlvia Whitaker Dalmaso, Herbcilto Barbosa de Carvalho // *Sao Paulo Med J.* – 2008. – Vol. 126 (2). – P. 132–139.
12. Falagas M. Probiotics for the treatment of women with bacterial vaginosis / M. Falagas, G.I. Betsi, S. Athanasiou // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2007. – Vol. 13, № 7. – P. 657–664.

Статья поступила в редакцию 17.10.2014