

# Особливості мікробіому піхви та функціональної активності епітеліальних клітин при цервікальній інтраепітеліальній неоплазії шийки матки у жінок перименопаузального віку

**В. О. Бенюк, В. М. Гончаренко, Т. Г. Ласкава, О. А. Щерба, Л. Д. Ластовецька, Т. Р. Никонюк, І. В. Майданник, Я. І. Веретельник**

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

За даними Національного канцер-реєстру України за 2021 р., захворюваність на рак шийки матки становила 17,9 та летальність – 7,9 на 100 тис. жіночого населення. Тому в сучасних умовах своєчасна діагностика, ефективне лікування і профілактика передракових процесів, до яких належать цервікальна інтраепітеліальна неоплазія (ЦІН) шийки матки, є одним із важливих завдань гінеколога. Особливої уваги заслуговують жінки перименопаузального віку, яких традиційно відносять до групи ризику.

На сьогодні у літературі є відомості про те, що захворювання мультифакторної природи становлять 90–95% всіх захворювань, до яких належить і ЦІН шийки матки. Добре відомі епідеміологічні фактори, пов'язані з поширеністю вірусу папіломи людини (ВПЛ). Активно досліджується роль мікробно-протозойно-вірусних асоціацій у сприянні виникненню інтраепітеліальних уражень та раку шийки матки.

**Мета дослідження:** оцінювання стану мікробіоценозу та функціональної активності епітеліальних клітин у жінок перименопаузального віку з рецидивною ЦІН шийки матки.

**Матеріали та методи.** Обстежено 60 жінок перименопаузального віку з рецидивною ЦІН шийки матки, що виникла після лікування хірургічними методами (основна група) і 38 здорових жінок відповідного віку (контрольна група). Усім хворим проводили обстеження згідно з регламентними наказами МОЗ України, імунологічні дослідження, а також визначення електрокінетичної активності епітеліальних клітин піхви та шийки матки – за методикою В. І. Шахбазова у модифікації В. О. Бенюка та співавторів.

**Результати.** Оцінено дані анамнезу та клінічного обстеження хворих, що дозволяє виділити групу ризику серед жінок перименопаузального віку за розвитком рецидивної ЦІН шийки матки. Під час дослідження видового складу вагінального мікробіому у пацієнок основної групи було встановлено зниження кількості чи повна відсутність лактобактерій, переважання умовно-патогенної флори піхви на фоні інфікування ВПЛ. Пептострептококи виявлено у 46,7%, коринебактерії – у 61,7%, стафілокок епідермальний – у 66,7%, гарднерели – у 53,3%, *Candida spp.* – у 46,7% випадків та деякі специфічні збудники проти контрольної групи (7,9%, 23,7%, 10,5%, 15,8%, 5,3% відповідно). Також в основній групі виявлено достовірне зниження рівня інтерферону- $\alpha$  (ІФН) в 1,6 та ІФН- $\gamma$  в 1,9 раза у сироватці крові.

Дослідження електрокінетичної активності епітеліальних клітин піхви та шийки матки виявили зниження більше ніж у 2 рази відповідних показників в основній групі порівняно з контрольною.

**Висновки.** У жінок перименопаузального віку з рецидивною ЦІН шийки матки відзначено глибокі порушення мікробіоценозу піхви з переважанням умовно-патогенної флори, а також недостатність інтерферогенезу, зниження функціональної активності епітеліальних клітин.

У цілому, ґрунтуючись на результатах цього дослідження та сучасних наукових даних, можна заключити, що асоціація ВПЛ з порушенням мікробіому піхви в умовах фізіологічних менопаузальних змін істотно збільшує ризик розвитку та рецидивування цервікальних інтраепітеліальних уражень у жінок. Тому існуючі скринінгові методи і сучасний менеджмент діагностики ЦІН шийки матки є важливими для надання якісної медичної допомоги.

**Ключові слова:** перименопаузальний період, цервікальна інтраепітеліальна неоплазія шийки матки, мікробіом піхви.

## Peculiarities of the vagina microbiome and functional activity of epithelial cells in cervical intraepithelial neoplasia of the cervix in women of perimenopausal age

**V. O. Beniuk, V. M. Goncharenko, T. G. Laskava, O. A. Shcherba, L. D. Lastovetska, T. R. Nykoniuk, I. V. Maidannyk, Ya. I. Veretelnyk**

According to the data of the National Cancer Registry of Ukraine for 2021, the incidence of cervical cancer was 17.9 and the mortality rate was 7.9 per 100,000 female population. Therefore, in modern conditions, timely diagnosis, effective treatment and prevention of precancerous processes, which include cervical intraepithelial neoplasia (CIN) of the cervix, is one of the important tasks of a gynecologist. Women in perimenopause, who are traditionally considered to be at risk, deserve special attention.

Today, there is information in the literature that multifactorial diseases account for 90–95% of all diseases, including cervical cancer. Epidemiological factors associated with human papillomavirus (HPV) prevalence are well known. The role of

microbial-protozoan-viral associations in contributing to the occurrence of intraepithelial lesions and cervical cancer is being actively investigated.

**The objective:** to assess the state of microbiocenosis and the functional activity of epithelial cells in perimenopausal women with recurrent CIN of the cervix.

**Materials and methods.** 60 women of perimenopausal age with recurrent CIN of the cervix, which occurred after treatment with surgical methods (main group) and 38 healthy women of the appropriate age (control group) were examined. All patients were examined in accordance with the regulatory orders of the Ministry of Health of Ukraine, immunological studies, as well as determination of the electrokinetic activity of epithelial cells of the vagina and cervix according to the method of V. I. Shakhbazov in modification of V. O. Beniuk and co-authors.

**Results.** The data of the anamnesis and clinical examination of the patients were evaluated, which allows to identify a risk group among women of perimenopausal age, according to the development of recurrent CIN of the cervix. During the study of the species composition of the vaginal microbiome in patients of the main group, a decrease in the number or complete absence of lactobacilli, a predominance of opportunistic vaginal flora in the cases with HPV infection was established. Peptostreptococci were found in 46.7%, corynebacterial – in 61.7%, epidermal staphylococcus – in 66.7%, gardnerella – in 53.3%, Candida spp. – in 46.7% of cases and some specific pathogens versus the control group (7.9%, 23.7%, 10.5%, 15.8%, 5.3%, respectively). Also, in the main group, a significant decrease in the level of interferon- (IFN) by 1.6 and IFN- by 1.9 times in blood serum was found.

Studies of the electrokinetic activity of the epithelial cells of the vagina and cervix revealed a decrease of more than 2 times the corresponding indicators in the main group compared to the control group.

**Conclusions.** In perimenopausal women with recurrent CIN of the cervix, profound violations of the vaginal microbiocenosis with the predominance of opportunistic flora, as well as insufficiency of interferonogenesis, decreased functional activity of epithelial cells, were determined.

In general, based on the results of this study and modern scientific data, it can be concluded that the association of HPV with a violation of the vaginal microbiome in the conditions of physiological menopausal changes significantly increases the risk of development and recurrence of cervical intraepithelial lesions in women. Therefore, the existing screening methods and modern management of diagnosis of CIN of the cervix are important for the provision of high-quality medical care.

**Keywords:** perimenopausal period, cervical intraepithelial neoplasia, vaginal microbiome.

Незважаючи на значні успіхи у діагностиці і лікуванні, рак шийки матки продовжує займати лідируючу позицію, посідаючи третє місце у гінекологічній і п'яте – у загальній структурі онкопатології. В Україні, згідно з даними Національного канцер-реєстру України за 2021 р., захворюваність на рак шийки матки становила 17,9 на 100 тис. жіночого населення, летальність – 7,9 на 100 тис. населення [1, 2]. Тому одним із ключових завдань гінеколога на сучасному етапі є своєчасна профілактика передракових процесів шийки матки, їхня діагностика і ефективне лікування [1–4].

Термін «цервікальна інтраепітеліальна неоплазія» (ЦІН), або «дисплазія», поєднує групу епітеліальних уражень шийки матки і займає проміжне положення між нормальним епітелієм шийки матки та раком *in situ* і належить до передракових станів [5]. ЦІН характеризується порушенням дозрівання та диференціювання клітин багат шарового плоского епітелію і є найчастішою формою морфологічного передраку шийки матки. До 90% ЦІН локалізуються на межі одношарового циліндричного та багат шарового плоского епітелію (зона трансформації). ЦІН різного ступеня є передраковим захворюванням, у якого індекс малігнізації (онкологічної трансформації) може сягати 50% [5].

Клінічний перебіг диспластичних змін безсимптомний та специфічні скарги пацієнок відсутні. При інфекційному процесі у піхві ЦІН може супроводжуватися збільшенням кількості вагінальних виділень у вигляді слизу або сукроватих виділень [5].

Найбільш поширеним методом діагностики ЦІН є цитологічний метод та ПаП-тест, або мазок за Папаніколу. Слід зазначити, що дотепер клініцистами широко використовується термінологія за класифікацією ВООЗ (1982 р.), у якій розрізняють три ступеня CIN (cervical intraepithelial neoplasia):

- CIN I – легкий ступінь дисплазії, характеризується мінімальними порушеннями диференцію-

вання епітелію з помірною проліферацією клітин базального шару, зміни охоплюють менше 1/3 товщі епітеліального шару;

- CIN II – при помірному ступені дисплазії ураження поширюється на 1/2 товщі епітеліального шару, починаючи від базальної мембрани;
- CIN III – у випадках тяжкої дисплазії вона уражує більше 2/3 епітеліального шару.

Сучасне об'єднання тяжкої дисплазії та раку *in situ* в одну категорію виправдане через складність їхнього цитологічного диференціювання [6, 7].

Сучасним стандартом результату цитологічного дослідження є класифікація Національного інституту раку США за системою Bethesda (TBS) (2001, 2014, США), згідно з якою стан плоского епітелію оцінюється так:

- ASCUS (atypical squamous cells of undetermined significance) – атипові клітини плоского епітелію невизначеного значення;
- ASC-H (atypical squamous cells can not exclude HSIL) – атипові клітини плоского епітелію, не виключене ураження тяжкого ступеня;
- LSIL (Low-grade Intraepithelial Lesion) – ураження епітелію низького ступеня (зазвичай належить до CIN I);
- HSIL (High-grade Intraepithelial Lesion) – ураження епітелію високого ступеня (термін об'єднує дисплазію помірного ступеня, тяжкого ступеня і внутрішньо епітеліальну карциному, CIN II та CIN III відповідно);
- Плоскоклітинна карцинома [6, 8].

Серед етіопатогенетичних факторів ризику виникнення диспластичних процесів шийки матки не викликає сумнівів зв'язок із папіломавірусною інфекцією (ПВІ), а саме – її високоонкогенними штамами – 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 та 82 [5, 8, 9]. Послідовності дезоксирибонуклеїнових кислот (ДНК)

вірусу папіломи людини (ВПЛ) виявлені у 99,7% хворих з ЦІН та раком шийки матки по всьому світу. Згідно з даними ICO Infirmary Centre on HPV and Cancer, ПВІ статевих органів належить до захворювань, що передаються статевим шляхом, має високу контагіозність: кількість інфікованих жінок у світі за останнє десятиріччя збільшилася більше ніж у 10 разів [10–12].

Добре відомі епідеміологічні фактори, пов'язані з більшою поширеністю ПВІ: молодий вік жінок, ранній початок статевого життя, велика кількість статевих партнерів, паління, відсутність бар'єрної контрацепції. Однак існує також думка про взаємозв'язок між контамінацією ВПЛ та іншими генітальними мікроорганізмами, які значно підвищують ймовірність трансмісії ВПЛ і здатність призвести до плоскоклітинних інтраепітеліальних уражень шийки матки (squamous intraepithelial lesion – SIL) [5, 13–16].

Крім описаних вище чинників ризику розвитку ЦІН обговорюється значущість дисгормональних станів з перевагою ановуляторних циклів, порушення мікробіому піхви, травми шийки матки під час пологів та абортів, генетична схильність [5, 17–22].

Разом з цим жінки перименопаузального віку також традиційно належать до групи ризику розвитку ЦІН і раку шийки матки [1–4]. Це пояснюється зменшенням з віком продукування статевих гормонів, внаслідок чого у жінок відбувається зниження тургору шкірних покривів, маніфестація генітоуринарного менопаузального синдрому. Такі вікові зміни зумовлюють частий розвиток атрофічних вагінітів, вульвовагінального свербежу, диспареунії, дизуричних розладів, циститу [23–32].

В останні роки дані щодо вагінальної мікрофлори у різні вікові періоди, у тому числі у менопаузі, значно поповнились. Відомо, що мікробіом піхви і домінування у ньому *Lactobacillus*, а також змінення рН піхви має суттєвий вплив на її гомеостаз, здоров'я та якість життя у жінок не тільки репродуктивного віку, але і в період перименопаузи.

У жінок у період постменопаузи, особливо за наявності симптомів вульвовагінальної атрофії, диспареунії, вагінальний мікробіом втрачає домінування *Lactobacillus* і колонізується анаеробними бактеріями, які порушують гомеостаз піхви. У результаті підвищується схильність до гінекологічних інфекцій, у тому числі до інфекцій, що передаються статевим шляхом [31–33]. Тому порушення вагінальної мікрофлори може бути коморбідним фоном розвитку низки захворювань як до, так і після менопаузи.

Отже, вивчення вагінальної мікрофлори при ЦІН є важливим для розуміння механізму пухлинної трансформації цервікального епітелію та шляхів її лікування у жінок перименопаузального віку.

**Мета дослідження:** оцінювання стану мікробіоценозу та функціональної активності епітеліальних клітин у жінок перименопаузального віку з рецидивною ЦІН шийки матки.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Проведено комплексне проспективне дослідження у 98 жінок у перименопаузальний період. До основної групи увійшли 60 жінок, які не народжували, з рецидивною ЦІН епітелію шийки матки, що виникла після лікування хірургічними методами; до контрольної гру-

пи – 38 жінок перименопаузального віку без гінекологічної і тяжкої соматичної патології.

Критеріями включення пацієнок у дослідження були: клініко-лабораторне підтвердження діагнозу (наявність лабораторно підтвердженої ЦІН, що рецидивує, LSIL (CIN I) або HSIL (CIN II) тривалістю від 3 до 12 міс) після лікування хірургічними методами; вік пацієнок 45–55 років; наявність менструального циклу; відсутність пологів в анамнезі; поінформована згода на участь у дослідженні.

Критерії виключення пацієнок із дослідження: інфікування вірусом імунодефіциту людини та іншими венеричними інфекціями; ожиріння (індекс маси тіла понад 30 кг/м<sup>2</sup>); лейоміома матки або фіброаденома грудної залози; інші гострі та хронічні захворювання у стадії декомпенсації, що впливають на загальний стан пацієнтки у період дослідження, а також на результати інструментальних і лабораторних досліджень.

Перед початком дослідження всім хворим проводили загальноклінічне, інструментальне та лабораторне обстеження відповідно до регламентованих наказів МОЗ України [7], стандартів EFC (European Federation for Colposcopy). Проводили комплексний аналіз соматичного здоров'я, результатів цитологічного дослідження, кольпоскопії, біопсії з подальшим патоморфологічним дослідженням, а також спеціальні дослідження, спрямовані на виявлення інфекційного агента, – бактеріоскопічне, бактеріологічне визначення вмісту піхви й шийки матки, виявлення збудників інфекцій, що передаються статевим шляхом, імуноферментний аналіз сироватки крові для визначення антитіл та полімеразну ланцюгову реакцію цервікального слизу.

Бактеріоскопічне дослідження вмісту піхви, сечівника та каналу шийки матки проводили згідно з Наказами МОЗ України № 13 від 1999 р., № 234 від 2007 р. Забір матеріалу з поверхні сечівника, ектоцервіксу й каналу шийки матки виконували за допомогою шпателя Ейра. Досліджуваний матеріал наносили на скельця, зафарбовували за Грамом і проводили мікроскопічне дослідження.

Бактеріологічне дослідження вмісту із сечівника, каналу шийки матки і піхви проводили для ідентифікації збудників та їхньої чутливості до антибіотиків (згідно з Наказами МОЗ України № 13 від 1999 р., № 234 від 2007 р). Ступінь мікробного обміненія визначали методом секреторного посіву на диференціально-діагностичні поживні середовища, які дозволяють виявити максимально можливий спектр аеробних та анаеробних мікроорганізмів, а саме: жовтково-сольовий агар, Сабуро, кров'яний агар, тіогліколеве середовище.

Під час бактеріологічного дослідження кількість молочнокислих бактерій визначали через 24–48 год інкубації за температури 37±1 °С. У мазках, які фарбували за Грамом, лактобацили мали вигляд грампозитивних паличок.

Для визначення вмісту стафілококів використовували жовтково-сольовий агар, на якому стафілококи виростили у формі жовтих або білих опуклих колоній. Під час дослідження урахували пігментацію колоній і наявність лецитиназної активності.

Подальшу ідентифікацію мікроорганізмів проводили на автоматичному мікробіологічному аналізаторі BDBBI, Crystal (США).

Для ідентифікації дріжджоподібних грибів застосовували середовище Сабуро. Чашки з просівами піддавали інкубації у термостаті за температури  $37 \pm 1$  °C протягом трьох днів. Характерні за морфологією колонії (щільні, непрозорі, молочного кольору) мікроскопіювали у 40% розчині ідкого натрію. У мазках дріжджоподібні гриби у формі великих овальних грам-позитивних клітин, що розташовані поодинокі, у скупченнях або ланцюжками.

Визначення вмісту анаеробних мікроорганізмів здійснювали із суворим дотриманням анаеробної техніки й відповідно до методичних рекомендацій «Лабораторна діагностика гнійно-запальних захворювань, що обумовлені аспорогенними анаеробними мікроорганізмами» (Харків, 1985). Матеріал, отриманий без доступу кисню, засівали на щільні поживні середовища з наступним розсівом, потім матеріал занурювали на дно пробірки з середовищем для накопичування. Для дослідження використовували тверді й рідкі поживні середовища (тіогліколеве, кров'яний агар із глюкозою, печінковий бульйон та ін.).

Усі посіви вміщували в анаеростат на сім діб за температури 37 °C. Паралельно їх вирощували в aerobicних умовах. Для створення анаеробних умов використовували систему Anaerocult (Merck, Німеччина). Якщо з'являлися ознаки росту бактерій, робили мазки, фарбували їх за Грамом та мікроскопіювали. Для подальшої ідентифікації виявлених анаеробних мікроорганізмів використовували набори MicroLaTest «Анаеротест 23» (Erba Lachemas, Чехія).

Цитологічне дослідження зскрібка епітелію вагінальної та цервікальної частин шийки матки проводили за стандартною методикою. Зскрібок отримували за допомогою шпателя Ейра шляхом легкого натискання на слизову оболонку або за допомогою шпательки, яку вводили у зовнішній зів, обережно направляючи центральну її частину по осі каналу шийки матки. Шітку-наконечник повертали на  $360^\circ$  за годинниковою стрілкою від 3 до 5 разів. Шийку матки нічим не обробляли, жодних маніпуляцій не проводили, слиз не видаляли. Мазки фарбували азур-еозином за методом Романовського-Гімзи протягом 5–7 хв.

Під час ВПЛ-скринінгу використано ПЛР-тести «Сі Джин» (Корея) для ампліфікації ділянок ДНК 28 збудників інфекції. Метод передбачає багаторазові повторювані цикли синтезу специфічної ділянки ДНК-мішені за наявності термостабільної ДНК-полімерази, дезоксинуклеозидтрифосфатів, відповідного сольового буфера та олігонуклеозидних затравок – полімерів, які визначають межі ампліфікованої ділянки ДНК-мішені.

Кожний цикл складався з трьох стадій з різними температурними режимами. На першій стадії за температури 94 °C відбувалося розділення ланцюгів ДНК, на другій – за температури 50–65 °C – приєднання (відпал) праймерів до гомологічних послідовностей на ДНК-мішені й на третій – за температури 72 °C – синтез ланцюгів ДНК за допомогою подовження праймера у напрямку від 5'-кінця до 3'-кінця нитки ДНК. У

кожному циклі відбувалося подвоєння кількості копій ампліфікованої ділянки, що дозволило за 25–40 циклів напрацювати фрагмент ДНК, обмежений парою відібраних праймерів у кількості, достатній для її детекції за допомогою електрофорезу.

Патоморфологічне дослідження слизової оболонки шийки матки проводили на парафінових зрізах при збільшенні у 400 разів за допомогою комп'ютерної програми «Leica QWin V3». У кожному зрізі досліджували не менше 5 полів зору. Визначали товщину багатшарового плоского незроговілого епітелію (мкм), число профілів мікросудин у тестовій площі ( $61\ 171,56$  мкм<sup>2</sup>), діаметр кровоносних капілярів (мкм), об'ємну щільність капілярів підепітеліальної кровоносної мережі (у відсотках до загальної площі підепітеліальної стріми). Підраховували загальну кількість фібробластів і кількість синтетично активних фібробластів на площі 10 000 мкм<sup>2</sup>.

Імунологічне обстеження включало визначення кількісних показників неспецифічних факторів захисту організму у сироватці крові, а саме – рівнів інтерлейкіну-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), інтерферону альфа (ІФН- $\alpha$ ), гамма-інтерферону (ІФН- $\gamma$ ), фактора некрозу пухлини альфа (ФНП- $\alpha$ ). Дослідження проводили твердофазним імуоферментним методом, використовуючи набори реагентів ТОВ «Укрмедсервіс» (Донецьк) на автоматичному аналізаторі «Chemwell-2910» (Awarenes Tech., США).

Діагностику функціонального стану клітин слизової оболонки піхви та шийки матки проводили методом оцінювання їхньої електрокінетичної активності за методикою В. І. Шахбазова (1986) у модифікації В. О. Бенюка та співавторів (Деклараційні патенти України № 41338 «Спосіб діагностики інфекційно-запальних захворювань слизових оболонок статевих органів» та № 41950 «Пристрій для мікроелектрофорезу»).

Просту та розширену кольпоскопію виконували на кольпоскопі «Leisegang» (Берлін, Німеччина).

Дослідження проведені на клінічній базі КНП «КМПБ №3», в імунологічній лабораторії кафедри клінічної імунології та алергології з курсом дитячої імунології НМУ імені О. О. Богомольця (проф. А. І. Кучеренко) та не містять підвищеного ризику для суб'єктів дослідження. Виконані з урахуванням існуючих біоетичних норм і наукових стандартів щодо проведення клінічних досліджень із залученням пацієнтів (Протокол № 151 від 25.10.2021 р.). Інформовану згоду пацієнток на участь у дослідженні отримано.

Статистичне оброблення отриманих результатів проводили за допомогою програм Ліцензійного статистичного пакета IBM SPSS Statistics 23, програма MedStat.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вік жінок у середньому становив в основній групі  $50,7 \pm 2,3$  року, у контрольній групі –  $48,2 \pm 3,2$  року.

Діагноз ЦПН, що рецидивує, у всіх випадках підтверджений даними клінічних і лабораторних досліджень. LSIL (CIN I) виявлено у 34 (56,7%), HSIL (CIN II) – у 26 (43,3%) спостереженнях. Кольпоско-



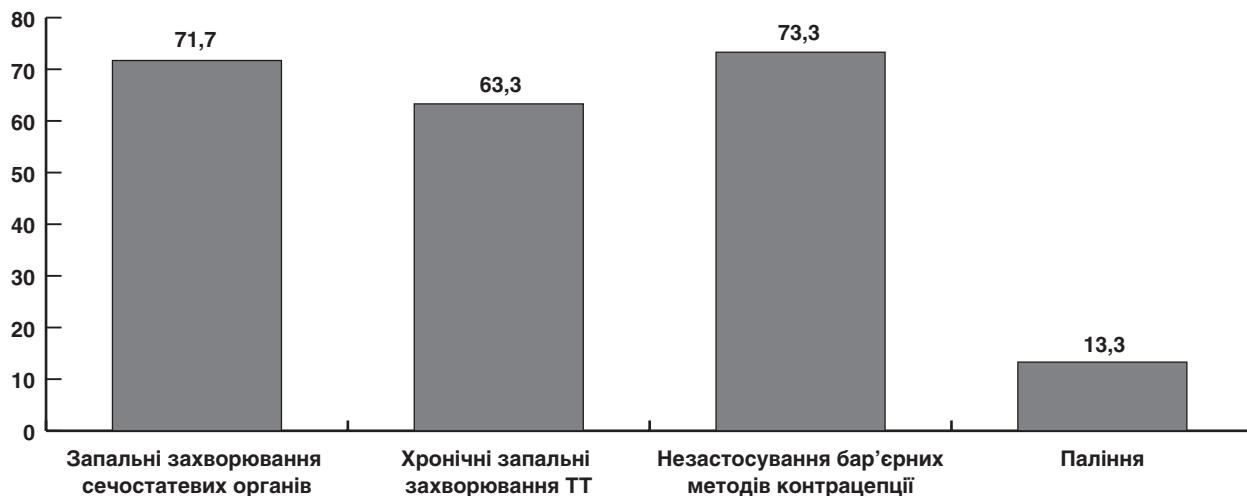


Рис. 1. Коморбідні фактори ризику обстежених жінок з рецидивною ЦІН, %

пічне дослідження у пацієток виявило слабо виражені ураження у вигляді тонкого ацето-білого епітелію, ніжної мозаїки, пунктації або їхнього поєднання. У 38 (100%) жінок контрольної групи встановлено цитологічний тип мазка NILM, при кольпоскопічному обстеженні уражень шийки матки виявлено не було.

Результати вивчення скарг хворих основної групи продемонстрували, що усі хворі відзначали дискомфорт з боку статевих органів. Порушення менструального циклу за типом ановуляції відзначено у 14 (23,3%) жінок, диспареунію – у 20 (33,3%), патологічні виділення із піхви – у 25 (41,7%), вульводинію – у 22 (36,7%) випадках.

Слід зазначити, що у жінок в основній групі було виявлено тенденцію до спадкової схильності до злоякісних захворювань шийки матки – 13 (21,7%) випадків, а також грудної залози – 26 (43,3%) випадків.

Ураховуючи тривалість неопластичного процесу, вивчення даних анамнезу за останні 10 років зафіксувало високий відсоток хронічної соматичної патології у жінок основної групи. Жіночий фактор безпліддя спостерігався у 16 (26,7%) хворих. Серед хронічних запальних захворювань найчастіше виявляли патологію сечостатевої системи – у 43 (71,7%) пацієток, а також захворювання травного тракту (ТТ) – у 38 (63,3%) пацієток (рис. 1).

Тільки 16 (26,7%) жінок основної групи дослідження підтвердили регулярне використання бар'єрних методів контрацепції. Переважна більшість обстежуваних заперечували використання даного методу, віддаючи перевагу іншим методам (комбіновані оральні контрацептиви тощо), або використовували його епізодично – 44 (73,3%) випадки. Активними курцями виявилися 8 (13,3%) обстежуваних із переважанням стажу паління більше 3 років і кількістю випалюваних цигарок більше 10 за добу (див. рис. 1).

Під час проведення бактеріологічного дослідження встановлено, що серед умовно-патогенної флори у жінок основної групи превалювали пептострептококи – у 28 (46,7%), *Corinebacterium vaginalis* – у 37 (61,7%), стафілокок епідермальний – у 40 (66,7%), а також

гاردнерели – у 32 (53,3%) і *Candida spp.* – у 28 (46,7%) випадках (табл. 1).

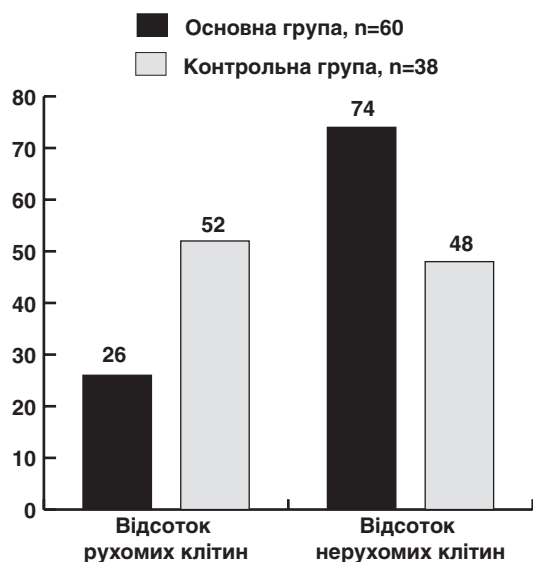
Серед специфічних збудників привертає увагу виявлення *Trichomonas vaginalis* у 10 (16,7%) хворих основної групи, *Mycoplasma hominis* – у 16 (26,7%), *Ureaplasma urealiticum* – у 14 (23,3%), *Chlamydia trachomatis* – у 22 (36,7%), HSV 1-го та 2-го типів – у 14 (23,3%) жінок (див. табл. 1).

Таблиця 1

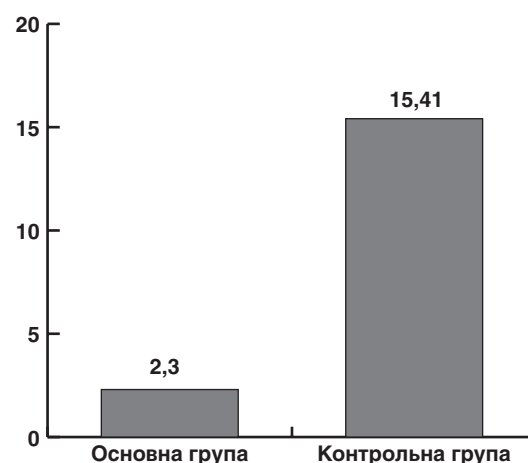
Стан біотопу піхви у жінок з рецидивною ЦІН, абс. число (%)

Показник	Основна група, n=60	Контрольна група, n=38
	≥10 <sup>4</sup> К/УО	≥10 <sup>4</sup> К/УО
<i>Lactobacillus spp.</i>	8 (13,3) *	29 (76,3)
<i>Enterococcus</i>	25 (41,7) *	6 (15,8)
<i>Peptocostreptococcus spp.</i>	28 (46,7) *	3 (7,9)
<i>St. Aureus</i>	7 (11,7) *	2 (5,3)
<i>St. Epidermalis</i>	40 (66,7) *	4 (10,5)
<i>Echerichia coli</i>	41 (68,3) *	5 (13,2)
<i>Proteus</i>	14 (23,3) *	0
<i>Enterobacter</i>	16 (26,7) *	0
<i>Corinebacterium</i>	37 (61,7) *	9 (23,7)
<i>Gardnerella vaginalis</i>	32 (53,3) *	6 (15,8)
<i>Mobiluncus spp.</i>	17 (28,3) *	3(7,9)
<i>Candida spp.</i>	28 (46,7) *	2 (5,3)
<i>Mycoplasma hominis</i>	16 (26,7) *	1 (2,6)
<i>Ureaplasma urealiticum</i>	14 (23,3) *	2 (5,3)
<i>Chlamydia trachomatis</i>	22 (36,7) *	0
<i>Trichomonas vaginalis</i>	10 (16,6) *	0
HSV 1,2	14 (23,3) *	1 (2,6)
HPV 16,18	44 (73,3) *	0

Примітка. \* – Різниця достовірна щодо показників контролю; p<0,05.



**Рис. 2** Співвідношення рухомих і нерухомих клітин в обстежених жінок, %



**Рис. 3.** Середня швидкість пробігу ядра клітини епітелію піхви у групах дослідження (всіх Y-мкм/с)

У жінок контрольної групи виявлено пептострептококи лише у 3 (7,9%), *Corinebacterium vaginalis* – у 9 (23,7%), стафілокок епідермальний – у 4 (10,5%), а також гарднерели – у 6 (15,8%), *Candida spp.* – у 2 (5,3%), *Mycoplasma hominis* – в 1 (2,6%), *Ureaplasma urealiticum* – у 2 (5,3%), HSV 1-го та 2-го типів – в 1 (2,6%) випадку (див. табл. 1).

Вивчення показників фагоцитозу має значення у комплексному аналізі діагностики імунodefіцитних станів, тому проведені імунологічні дослідження з визначення рівнів α- і γ-фракцій інтерферону у жінок обох груп обстеження (табл. 2).

Порівняльний аналіз рівнів ІФН-α та ІФН-γ встановив зниження в 1,6 та 1,9 раза відповідно у пацієток основної групи стосовно показників контрольної групи.

З метою оптимізації діагностики та вивчення ступеня ураження і функціональної спроможності епітеліальних клітин при ЦІН, що рецидує в умовах порушеного мікробіоценозу піхви, був використаний метод визначення електрокінетичної активності клітин плоского епітелію піхви та шийки матки. Проведені дослідження виявили, що в основній групі середнє значення відсотку рухомих клітин було знижено – 26% проти показника контрольної групи – 52% (рис. 2).

Таблиця 2

**Особливості інтерференового статусу обстежених жінок, ОД/мл**

Показник	Основна група, n=60	Контрольна група, n=38
ІФН-α	51,43±5,1*	82,3 ± 1,36
ІФН-γ	22,94±4,8*	43,6±1,72
ІЛ-1β	49,4±3,7*	32,2±2,8
ФНП-α	64,3±1,4*	71,3±0,6

Примітка. \* – Статистично достовірні відмінності (p<0,05).

Аналіз середньої швидкості пробігу ядра клітини також засвідчив зниження даного показника у жінок основної групи, що становило 2,3±0,034 мкм/с, порівняно з контрольною групою – 15,41±0,012 мкм/с (рис. 3).

Отже, проведене комплексне обстеження жінок перименопаузального віку з рецидивною ЦІН демонструє глибокі порушення стану біотопу та захисних властивостей слизової оболонки піхви та шийки матки.

Бактеріологічні дослідження у пацієток із ЦІН свідчать, що у більшості обстежених жінок діагностовано стан дисбактеріозу піхви, за якого спостерігалось різке зниження рівня або повна відсутність лактобактерій, рясна поліморфна грампозитивна і грамнегативна паличкова і кокова флора. Серед специфічних збудників привертає увагу виявлення *Trichomonas vaginalis* у 10 (16,7%) хворих, що може свідчити про певну роль даного збудника в етіології ЦІН.

Нітрозаміни, продукти метаболізму облігатно-анаеробних бактерій, є коферментами канцерогенезу і вірогідно є однією з причин розвитку передракового процесу та раку шийки матки. Також у достатньо високому відсотку випадків виявлено такі специфічні збудники, як *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealiticum*, *Chlamydia trachomatis*, HSV 1-го та 2-го типів, у жінок основної групи порівняно з жінками контрольної групи.

Частота колонізації генітального тракту умовно-патогенними та патогенними мікроорганізмами значно вища у носительок високоонкогенних типів ВПЛ порівняно з неінфікованими ВПЛ жінками. Коінфекція ВПЛ 16, 18, трихомонадами і хламідіями є конфундінг-фактором розвитку плоскоклітинних інтраепітеліальних уражень шийки матки високого ступеня. Тому якісна діагностика з використанням сучасних технологій має принципове значення в обстеженні хворих із ЦІН.

Для пригнічення вірусної реплікації, бактеріальної інвазії, впливу онкобілків на епітеліальні клітини важ-

ливий інтерфероновий гомеостаз, що робить ці клітини несприйнятливими до цих агентів. ІФН- $\alpha$  (лейкоцитарний) та ІФН- $\beta$  (фібробластний) чинять протівірнусну дію, а ІФН- $\gamma$  – основний активатор лімфоцитів – посилює бактерицидну активність фагоцитів, має протипухлинний, імуномодулювальний вплив.

Проведені імунологічні дослідження свідчать про недостатність системи інтерфероногенезу у хворих основної групи із рецидивною ЦІН, що демонструє виснаження резервних можливостей інтерферонпродукувальних клітин у даної категорії хворих. Це може бути підґрунтям зниження захисних властивостей слизової оболонки піхви, проникнення збудників у більш глибокі її шари, формування патологічних біоплівки, що зумовлює рецидивування інфекції та перехресне інфікування з формуванням різноманітних асоціацій.

Вивчення електрокінетичної активності епітеліальних клітин піхви та шийки матки, які є характеристикою заряду ядра клітини і її метаболічного стану, встановило зменшення відсотка рухомих клітин майже у 2 рази, зниження середньої швидкості пробігу ядер клітин у 6,7 рази у жінок основної групи порівняно з контролем, що свідчить про зменшення інтенсивності метаболізму у клітинах слизових оболонок в умовах ЦІН.

Отже, порушення мікробіому піхви, хронічний запальний процес шийки матки зумовлюють ексцес регенераторних процесів в епітеліальних клітинах, зниження їхніх захисних властивостей, розлад процесів апоптозу. Це спричинює інвазію ВПЛ у клітину, його

реплікацію, що створює умови для швидкого розвитку ЦІН та її рецидивування.

## ВИСНОВКИ

Отримані дані свідчать, що у жінок перименопаузального віку з рецидивною первіальною інтраепітеліальною неоплазією (ЦІН) шийки матки спостерігаються глибокі порушення мікробіоценозу піхви з превалюванням умовно-патогенної флори (пептострептококів – у 46,7%, коринебактерій – у 61,7%, епідермального стафілокока – у 66,7%, а також гарднерел – у 53,3%, *Candida* – у 46,7%), а також недостатність інтерфероногенезу (зниження вмісту інтерферону- $\alpha$  в 1,6 та інтерферону- $\gamma$  в 1,9 рази).

Запропонований нами метод оцінювання електрокінетичної активності епітеліальних клітин піхви та шийки матки дозволяє розраховувати та оцінювати інформацію клітинного метаболізму в умовах ЦІН, що рецидивує, шляхом розрахунку співвідношення відсотку рухомих та нерухомих клітин, швидкості руху ядра епітеліальної клітини.

У цілому, ґрунтуючись на результатах даного дослідження та сучасних наукових даних, можна заключити, що асоціація вірусу папіломи людини з порушенням мікробіому піхви в умовах фізіологічних менопаузальних змін істотно збільшує ризик розвитку та рецидивування цервікальних плоскоклітинних інтраепітеліальних уражень у жінок. Тому існуючі скринінгові методи і сучасний менеджмент діагностики ЦІН є важливими для надання якісної медичної допомоги.

## Відомості про авторів

**Бенюк Василь Олексійович** – д-р мед. наук, проф., завідувач, кафедра акушерства і гінекології № 3, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ; тел. (044) 405-60-33

ORCID: 0000-0002-5984-3307

**Гончаренко Вадим Миколайович** – д-р мед. наук, проф., кафедра акушерства і гінекології № 3, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ; тел. (044) 405-60-33

ORCID: 0000-0002-8317-3737

**Ласкава Тетяна Григорівна** – аспірантка, кафедра акушерства і гінекології № 3, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ; тел. (044) 405-60-33

**Щербя Олена Анатоліївна** – канд. мед. наук, асистентка, кафедра акушерства і гінекології № 3, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ; тел. (044) 405-60-33

ORCID: 0000-0002-8776-4403

**Ластовецька Лілія Дмитрівна** – канд. мед. наук, доц., кафедра акушерства і гінекології № 3, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ; тел. (044) 405-60-33

ORCID: 0000-0002-1085-6457

**Никоноук Тетяна Робертівна** – канд. мед. наук, доц., кафедра акушерства і гінекології № 3, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ; тел. (044) 405-60-33

ORCID: 0000-0001-5813-3808

**Майданик Ігор Віталійович** – канд. мед. наук, доц., кафедра акушерства і гінекології № 3, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ; тел. (044) 405-60-33

ORCID: 0000-0003-0849-0406

**Веретельник Ярина Ігорівна** – студентка, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ

ORCID: 0000-0003-1246-0568

## Information about the authors

**Beniuk Vasyi O.** – MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology N 3, Bogomolets National Medical University, Kyiv; tel. (044) 405-60-33

ORCID: 0000-0002-5984-3307

**Goncharenko Vadym M.** – MD, PhD, DSc, Professor, Department of Obstetrics and Gynecology N 3, Bogomolets National Medical University, Kyiv; tel. (044) 405-60-33

ORCID: 0000-0002-8317-3737

- Laskava Tetiana G.** – MD, PhD-student, Department of Obstetrics and Gynecology N 3, Bogomolets National Medical University, Kyiv; tel.: (044) 405-60-33
- Shcherba Olena A.** – MD, PhD, Assistant of Professor, Department of Obstetrics and Gynecology N 3, Bogomolets National Medical University, Kyiv; tel.: (044) 405-60-33  
ORCID: 0000-0002-8776-4403
- Lastovetska Lilia D.** – MD, PhD, Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology N 3, Bogomolets National Medical University, Kyiv; tel.: (044) 405-60-33  
ORCID: 0000-0002-1085-6457
- Nykoniuk Tetiana R.** – MD, PhD, Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology N 3, Bogomolets National Medical University, Kyiv; tel.: (044) 405-60-33  
ORCID: 0000-0001-5813-3808
- Maidannyk Igor V.** – MD, PhD, Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology N 3, Bogomolets National Medical University, Kyiv; tel.: (044) 405-60-33  
ORCID: 0000-0003-0849-0406
- Veretelnyk Yaryna I.** – Student, Bogomolets National Medical University, Kyiv  
ORCID: 0000-0003-1246-0568

## ПОСИЛАННЯ

1. Svintsitsky VS, Priymak W, Renkas OP. Modern approaches to the diagnosis and treatment of cervical cancer. // Ukrainian medical journal. 2020;3(2) (137):Vol.2(VI):1-7. doi: 10.32471/umj.1680-3051.137.17806.
2. Fedorenko Z, Michailovich Y, Goulak L. Cancer in Ukraine, 2020–2021. Bull Nat Cancer Registry Ukr. 2022;23:44-4.
3. Aghili M, Andalib B, Karimi Moghaddam Z, Maddah Safaie A, Amoozgar Hashemi F, Mousavi Darzikolaie N. Concurrent Chemo-Radiobrachytherapy with Cisplatin and Medium Dose Rate Intra-Cavitary Brachytherapy for Locally Advanced Uterine Cervical Cancer. Asian Pac J Cancer Prev. 2018;19(10):2745-50. doi: 10.22034/APJCP.2018.19.10.2745.
4. Cibula D, Pötter R, Planchamp F, Avall-Lundqvist E, Fischerova D, Haie-Meder C, et al. The European Society of Gynaecological Oncology/European Society for Radiotherapy and Oncology/European Society of Pathology Guidelines for the Management of Patients with Cervical Cancer. Virchows Arch. 2018;472(6):919-36. doi: 10.1007/s00428-018-2362-9.
5. Podolskiy W. Cervical dysplasia: modern treatment options. Health Ukr. 2019;35(3):21.
6. Rogovskoy SI, Lipovoy EV. Cervix, vagina, vulva: physiology, pathology, colposcopy, aesthetic correction: a guide for practicing doctors. Moscow: Status Praesens; 2014. 832 p.
7. Ministry of Health of Ukraine. On the approval and implementation of medical and technological documents on the standardization of medical care for dysplasia and cervical cancer [Internet]. 2014. Order No. 236. 2014 Feb 04. Available from: <https://www.dec.gov.ua/mtd/rak-shyjky-matky/>.
8. Kindrativ E.O. Human papillomavirus and cervical carcinogenesis. Ach Clin Experimental Med. 2015;1:7-12.
9. Bosch FX, Broker TR, Forman D, Moscicki AB, Gillison ML, Doorbar J, et al. Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases. Vaccine. 2013;31 Suppl 7(Suppl 7):H1-31. doi: 10.1016/j.vaccine.2013.10.003.
10. Castellsagué X, Díaz M, de Sanjosé S, Muñoz N, Herrero R, Franceschi S, et al. Worldwide human papillomavirus etiology of cervical adenocarcinoma and its cofactors: implications for screening and prevention. J Natl Cancer Inst. 2006;98(5):303-15. doi: 10.1093/jnci/djj067.
11. Ciapponi A, Bardach A, Glujovsky D, Gibbons L, Picconi MA. Type-specific HPV prevalence in cervical cancer and high-grade lesions in Latin America and the Caribbean: systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2011;6(10):e25493. doi: 10.1371/journal.pone.0025493.
12. Khan MJ, Castle PE, Lorincz AT, Wacholder S, Sherman M, Scott DR, et al. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. J Natl Cancer Inst. 2005;97(14):1072-9. doi: 10.1093/jnci/dji187.
13. Markowska J, Fischer N, Markowski M, Nalewaj J. The role of Chlamydia trachomatis infection in the development of cervical neoplasia and carcinoma. Med Wieku Rozwoj. 2005;9(1):83-6.
14. Mendoza L, Mongelos P, Paez M, Castro A, Rodriguez-Riveros I, Gimenez G, et al. Human papillomavirus and other genital infections in indigenous women from Paraguay: a cross-sectional analytical study. BMC Infect Dis. 2013;13:531. doi: 10.1186/1471-2334-13-531.
15. Murta EF, Souza MA, Araújo Júnior E, Adad SJ. Incidence of Gardnerella vaginalis, Candida sp and human papilloma virus in cytological smears. Sao Paulo Med J. 2000;118(4):105-8. doi: 10.1590/s1516-3180200000400006.
16. Paba P, Bonifacio D, Di Bonito L, Ombres D, Favalli C, Syrjänen K, et al. Co-expression of HSV2 and Chlamydia trachomatis in HPV-positive cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia lesions is associated with aberrations in key intracellular pathways. Intervirology. 2008;51(4):230-4. doi: 10.1159/000156481.
17. Allsworth JE, Peipert JF. Severity of bacterial vaginosis and the risk of sexually transmitted infection. Am J Obstet Gynecol. 2011;205(2):113.e1-6. doi: 10.1016/j.ajog.2011.02.060.
18. Martin DH. The microbiota of the vagina and its influence on women's health and disease. Am J Med Sci. 2012;343(1):2-9. doi: 10.1097/MAJ.0b013e31823ea228.
19. Morris M, Nicoll A, Simms I, Wilson J, Catchpole M. Bacterial vaginosis: a public health review. BJOG. 2001;108(5):439-50. doi: 10.1111/j.1471-0528.2001.00124.x.
20. Renschmidt C, Kaufmann AM, Hagemann I, Vartazarova E, Wichmann O, Deleré Y. Risk factors for cervical human papillomavirus infection and high-grade intraepithelial lesion in women aged 20 to 31 years in Germany. Int J Gynecol Cancer. 2013;23(3):519-26. doi: 10.1097/IGC.0b013e318285a4b2.
21. Shipitsyna E, Roos A, Datzu R, Hall n A, Fredlund H, Jensen JS, et al. Composition of the vaginal microbiota in women of reproductive age—sensitive and specific molecular diagnosis of bacterial vaginosis is possible? PLoS One. 2013;8(4):e60670. doi: 10.1371/journal.pone.0060670.
22. Voog E, Bolmstedt A, Olofsson S, Ryd W, Löwhagen GB. Human papilloma virus infection among women attending an STD clinic correlated to reason for attending, presence of clinical signs, concomitant infections and abnormal cytology. Acta Derm Venereol. 1995;75(1):75-8. doi: 10.2340/00015555757578.
23. Tatarchuk TF, Isamova AA, Efimenko OA. Menopausal syndrome as the first clinical manifestation of perimenopause. Reprod Endocrinol. 2015;1(21):52-6.
24. Tatarchuk TF, Toby de Villiers. National consensus on the management of menopausal patients. Reprod Endocrinol. 2016;1(27):8-25. doi: 10.18370/2309-4117.2016.27.8-25.
25. Dniester AP. Comprehensive correction of clinical manifestations of the perimenopausal period in women. Women's Health. 2014;10(96):157-62.
26. Lutsenko NS, Mazur OD, Efimenko NF. Modern possibilities of non-hormonal correction of menopausal disorders in women in the perimenopausal period. Women's Health. 2018;9(135):95-102.
27. Vdovichenko YuP, Gurzhenko OYu. Violations and principles of diagnosis of sexual function in perimenopausal women. Men's Health. 2017;4(63):84-94.
28. Kolesnikova OV, Yaresko MV. Features of heart rate variability in perimenopausal women. Bull Vinnitsya Natl Uni. 2015; 19(2):374-9.
29. de Villiers TJ, Gass ML, Haines CJ, Hall JE, Lobo RA, Pierroz DD, Rees M. Global consensus statement on menopausal hormone therapy. Climacteric. 2013;16(2):203-4. doi: 10.3109/13697137.2013.771520.
30. Stepanenko TA. Features of psychological adaptation of women with early menopause. HealthyWomen.2018;9(135):103-6.
31. Hinchytska LV, Lasytchuk OM, Zhurakivskiy VM, Basiuha IO, Kurtash Nla, Pakharenko LV. Restoration and preservation of the vaginal ecosystem in postmenopausal women. Women's Reprod Health. 2021;6(51):77-82.
32. Beniuk VO, Honcharenko VM, Usevych IA, Korniets NH, Oleshko VF, Momot AA, et al. Peculiarities of colposcopy and vaginal biocenosis in menopausal women with atrophic vaginitis. Women's Reprod Health.2022;6(61):65-70.
33. Korinchuk M. Menopause and vaginal microbiome: literature review. Health Ukr. 2017;25(1):3.

Стаття надійшла до редакції 03.03.2023. – Дата першого рішення 09.03.2023. – Стаття подана до друку 20.04.2023