ZU_2013_ACU_1.qxd 09.04.2013 12:08 Page 14

В.К. Чайка, член-кореспондент НАМН України, д.м.н., професор, **О.М. Носенко**, д.м.н., **Н.О. Апанасенко**, **І.Г. Постолюк**, Донецький національний медичний університет ім. М. Горького

Фонові та передракові захворювання шийки матки у жінок репродуктивного віку на тлі папіломавірусної інфекції високого онкогенного ризику: діагностика, лікування, профілактика

На сучасному етапі поширеність патології шийки матки серед жінок репродуктивного віку становить 15-38%, у тому числі серед гінекологічних хворих – до 50% (В.Н. Прилепская и соавт., 2007; Е.В. Коханевич, 2009; О.Н. Комиссарова, 2010). Актуальність вивчення цієї патології зумовлена не тільки високим рівнем захворюваності, а й недостатньою ефективністю існуючих методів лікування та можливістю розвитку раку шийки матки (П.Р. Сельський, 2004).
Фонові та передракові захворювання шийки матки (ФПЗШМ) у жінок репродуктивного віку досить часто розвиваються на тлі урогенітальних мікст-інфекцій та дисбіозу (А.Г. Корнацкая и соавт., 2005; Г.И. Резниченко и соавт., 2007; С.И. Роговская, 2008; А.В. Живица, 2011). Особливу увагу приділяють вірусу папіломи людини (ВПЛ), який має найбільший онкогенний потенціал і є основним екзогенним чинником формування плоскоклітинних інтраепітеліальних уражень і раку шийки матки (Т.І. Кулініч, 2005; M.H. Einstein et al., 2009; U. Ciesielska et al., 2012; S. Habbous et al., 2012).
У літературі недостатньо висвітлено результати застосування сучасних методів дослідження стану мікробіоценозу урогенітального тракту у жінок із ФПЗШМ методом комплексної кількісної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з детекцією отриманих даних у режимі реального часу, а також відомості щодо лікування з урахуванням ступеня вираження та виду дисбіозу.
Дані літератури вказують на наявність у хворих із ФПЗШМ дефіциту клітинної ланки імунітету (С.Е. Ваганова, 2007; Е.В. Коханевич, 2009). Остаточно не з'ясовано питання щодо взаємозалежності місцевих імуноморфологічних змін при ФПЗШМ на тлі ВПЛ-інфекції із системними імунними порушеннями.

В.К. Чайка

О.М. Носенко

Сучасний стан розвитку патогістологічної діагностики та верифікації захворювань потребує встановлення чітких критеріїв імуноморфологічних змін ектоцервіксу у пацієнток з різними видами ФПЗШМ на тлі ВПЛ-інфекції та зумовлює доцільність впровадження у широку клінічну практику дослідження тканинних маркерів (О.В. Дорохова, 2007; Н.И. Кондриков, 2008; J. Roelens et al., 2012).

Існує проблема ефективності наявних методів лікування та профілактики рецидивів ФПЗШМ на тлі ВПЛ-інфекції, оскільки більшість із них спрямовано не на саму інфекцію, а лише на її прояви. Навіть хірургічне лікування дозволяє видалити тільки вогнище ураження і клітини, схильні до трансформації, проте інфекція залишається й існує високий ризик рецидивів (Т.М. Аношина, 2005; R.S. Nomelini et al., 2012). Резервом підвищення ефективності лікування та профілактики рецидивів ФПЗШМ на тлі ВПЛ-інфекції можуть стати індивідуалізований підхід до корекції урогенітального дисбіозу залежно від його виду та ступеня вираження, імуномодулююча терапія та вторинна вакцинопрофілактика проти ВПЛ високого онкогенного ризику. Вакцинотерапія забезпечує високий рівень антитіл (H. de Melker et al., 2012; Z.C. Chan et al., 2012; A. Mandic et al., 2012), і її рекомендовано для вторинної профілактики розвитку пізніх стадій цервікальної інтраепітеліальної неоплазії (CIN II і CIN III) та раку шийки матки у жінок репродуктивного віку, інфікованих ВПЛ 16 і 18 типів (K. Kawana et al., 2012). Однак дані щодо такого використання вакцинотерапії проти ВПЛ у жінок із фоновими захворюваннями шийки матки та CIN I у зарубіжній літературі нечисленні, а в Україні відсутні.

Мета дослідження: підвищити ефективність діагностики, лікування та профілактики рецидивів ФПЗШМ у жінок репродуктивного віку шляхом удосконалення схем діагностики, лікування і профілактики рецидивів цієї патології.

Матеріали та методи

Усього обстежено 634 жінки репродуктивного віку.

Ретроспективну групу становили 299 пацієнток репродуктивного віку, з яких 127 жінок не були інфіковані ВПЛ і увійшли до групи I, 172 пацієнтки були інфіковані ВПЛ високого онкогенного ризику й утворили групу II.

Групу для імуногістохімічного дослідження біоптатів шийки матки становили 60 пацієнток репродуктивного віку з дисплазією шийки матки, асоційованою з папіломавірусною інфекцією: 25 хворих із CIN I, 20 – із CIN II, 15 – із CIN III, а також п'ять умовно здорових жінок контрольної групи.

Проспективну групу обстеження (ПШ) становили 240 пацієнток репродуктивного віку з цервіцитами, ерозіями та CIN I на тлі наявності ВПЛ 16 і 18 типів, яких на підставі даних кольпоскопії було стратифіковано на шість груп, із них три основні, які отримували розроблену схему лікування та профілактики рецидивів захворювань шийки матки: група ОЦ (n=30) із цервіцитами; ОЕ (n=30) – з ерозіями шийки матки, ОД1 (n=60) – із CIN I; та три групи порівняння, яким було призначено традиційну схему лікування за клінічними протоколами: ПЦ (n=30) – з наявністю цервіцитів, ПЕ (n=30) – з ерозією шийки матки, ПД1 (n=60) – із CIN I.

Контрольну групу становили 30 умовно гінекологічно та соматично здорових жінок групи К.

Детально вивчено гінекологічний, акушерський, соматичний, алергологічний та інфекційний анамнез усіх обстежених пацієнток, а також їх соціально-економічний статус. Стан зовнішніх і внутрішніх статевих органів оцінювали під час гінекологічного бімануального дослідження та огляду шийки матки у дзеркалах. Матеріал для цитологічного дослідження екзо- й ендоцервіксу забирали шпателем Ейра. Цитограми цервікальних мазків класифікували згідно зі схемою Папаніколау. Ехографію органів малого таза проводили за стандартною методикою із застосуванням трансабдомінального і трансвагінального конвексних датчиків.

Уміст лейкоцитів визначали уніфікованим методом за допомогою камери Горяєва. Показники експресії мононуклеарами крові молекул CD3+, CD4+, CD8+, CD16+ визначали з використанням відповідних моноклональних антитіл в реакції прямої імунофлюоресценції за інструкцією фірми. Інтерфероновий статус оцінювали за Ф.І. Єршовим (1996).

ВПЛ 16 і 18 типів та хламідії виявляли за допомогою методу ПЛР. Стан урогенітального мікробіоценозу визначали шляхом комплексної кількісної ПЛР у режимі реального часу.

Виконували просту та розширену кольпоскопію з обробкою піхвової частини шийки матки 3% розчином оцтової кислоти та 3% розчином Люголя. Здійснювали прицільну біопсію.

Біоптати шийки матки розміщували в нейтральний забуферений розчин формальдегіду, фіксували, заливали в парафін, висушували, зрізи товщиною 3-4 мкм фарбували гематоксиліном та еозином. Під час імуногістохімічного дослідження проліферативну активність клітин оцінювали за допомогою мишачих антитіл до Ki-67 (клон SP6), p53 (клон DO7) і p16 (клон INK4A). Мікроскопію препаратів проводили з використанням програми аналізу зображень.

Статистичну обробку матеріалу здійснювали за допомогою комп'ютерної програми Excel і методів аналітичної та варіаційної статистики.

Результати і обговорення

На першому етапі було проведено ретроспективний аналіз клініко-анамнестичних даних 299 пацієнток репродуктивного віку залежно від наявності ВПЛ-інфекції. Вік хворих варіював від 19 до 49 років і в I групі становив 31,22±0,76 року, у II групі – 29,67±0,64 року ($p>0,05$).

Характеристики менструальної функції не мали вірогідних відмінностей між групами. Вік статевого дебюту в обстежених пацієнток не відрізнявся: 16,86±0,10 року в I групі проти 16,66±0,08 року в II групі ($p>0,05$). Щодо контрацептивної поведінки жінок відмінності виявлено тільки стосовно використання комбінованих оральних контрацептивів: пацієнтки II групи застосовували їх в 1,65 раза частіше, ніж I групи ($p<0,03$).

Привертає увагу значна поширеність патології шийки матки у жінок з ВПЛ. Так, у II групі порівняно з I групою частота цервіцитів була більшою в 1,13 ($p<0,01$), ерозії – в 1,12 ($p<0,04$), CIN I – в 1,64 ($p<0,012$), CIN II – в 6,27 раза ($p<0,01$); тоді як у I групі частіше реєстрували ерозований ектропіон – у 2,70 раза ($p<0,01$) і поліпи шийки матки – у 8,82 раза ($p<0,01$). CIN III (9,88%, $p<0,01$) і кондиломи (8,14%, $p<0,01$) було виявлено виключно у пацієнток II групи.

Під час оцінки захворювань, які передаються статевим шляхом, установлено, що у жінок, інфікованих ВПЛ високого онкогенного ризику, у 3,23 раза частіше діагностували хламідіоз ($p<0,01$) і в 1,28 раза – уреаплазмоз ($p<0,04$). Також пацієнтки II групи в 1,29 раза частіше страждали на бактеріальний вагіноз ($p<0,01$).

Аналіз анамнестичних даних свідчить на користь достовірно більш частого використання деструктивних методів лікування ФПЗШМ у пацієнток, інфікованих ВПЛ високого онкогенного ризику: обробки комбінованим препаратом для місцевого лікування доброякісних уражень шийки матки – у 2,09 ($p<0,01$), кріодеструкції – в 1,59 ($p<0,01$), діатермоконізації – в 9,60 раза ($p<0,01$).

В акушерському анамнезі жінок, не інфікованих ВПЛ високого онкогенного ризику, вагітності зустрічалися частіше в 1,39 (60,63%, $p<0,01$), аборти – в 1,40 (41,73%, $p<0,03$), пологи – в 1,56 раза (53,60%, $p<0,01$) порівняно з ВПЛ-інфікованими пацієнтками (43,60, 29,65 і 34,30%). Середня кількість вагітностей на одну жінку в I і II групах відповідно становила 1,81±0,20 та 1,08±0,14 ($p<0,01$), абортів – 1,06±0,15 і 0,62±0,10 ($p<0,02$), пологів – 0,71±0,07 і 0,45±0,05 ($p<0,01$).

Аналіз інфекційного анамнезу дозволив зробити висновок, що у пацієнток I групи в 1,82 раза частіше зустрічалася перенесена вітряна віспа ($p<0,01$) і в 4,05 раза – епідемічний паротит ($p<0,01$), ніж у хворих II групи.

Під час проведення розширеної кольпоскопії було встановлено, що у пацієнток, інфікованих ВПЛ високого онкогенного ризику, частіше, ніж у неінфікованих, реєстрували ерозію – в 1,54 раза ($p<0,01$), цервіцит – в 1,48 раза ($p<0,01$), дисплазію – в 1,79 раза ($p<0,01$), лейкоплакію – у 5,17 раза ($p<0,01$), тоді як рідше виявляли оригінальний багатошаровий плоский епітелій – у 7,79 раза ($p<0,01$), ектропіон – у 2,71 раза ($p<0,01$), рубцеві деформації шийки матки – у 2,03 раза ($p<0,04$).

Згідно з результатами цитологічного дослідження у пацієнток I групи I тип мазка зустрічався у 2,06 раза частіше ($p<0,01$), ніж у II групі. Щодо решти цитологічних типів мазка вірогідної статистичної різниці не виявлено. Під час цитологічного дослідження плоскоепітеліального й ендоцервікального компонентів у 59,88% жінок II групи реєстрували специфічну цитоморфологічну ознаку ВПЛ-інфекції – койлоцитоз.

За даними гістологічного дослідження встановлено, що у пацієнток, інфікованих ВПЛ високого онкогенного ризику, частіше, ніж у неінфікованих, спостерігався проліферувальний ендоцервікоз –

ZU_2013_ACU_1.qxd 09.04.2013 12:08 Page 15

в 1,86 раза (p<0,01), CIN II – у 3,11 раза (p<0,01), тоді як стаціонарний ендоцервікоз реєстрували у 2,06 раза рідше (p<0,02). Тільки у хворих, інфікованих ВПЛ високого онкогенного ризику, виявляли CIN III (8,07%, p<0,01), кондиломатоз (4,97%, p<0,03), проліферувальну лейкоплакію (2,48%, p>0,05) і внутрішньоепітеліальний рак шийки матки (1,24%, p>0,05).

Отримані дані підтверджують вагому роль ВПЛ-інфекції у розвитку ФПЗШМ.

Основними критеріями діагностики дисплазій є потовщення базального і парабазального шарів, витончення шару диференційованих епітеліоцитів, поява клітин з великими гіперхромними ядрами і мітозів у шарах вище парабазального. Оцінка всіх вищезазначених критеріїв є суб'єктивною й істотно залежить від кваліфікації лікаря.

Тому на другому етапі було досліджено доцільність застосування імуногістохімічного визначення тканинних маркерів p16INK4A, Ki-67, p53 для об'єктивізації діагностики цервікальних інтраепітеліальних неоплазій.

У жінок контрольної групи реєстрували нормальне дозрівання та диференціювання багатошарового плоского епітелію без значних патологічних змін строми. При цьому в нормальному епітелії експресія Ki-67 і p53 (0-1% забарвлених клітин слабкої інтенсивності) спостерігалася в базальному шарі, тоді як експресію p16INK4A не визначали.

У всіх випадках CIN диспластичні зміни багатошарового плоского епітелію виникали на тлі залозистої ерозії шийки матки й були розміщені на межі з ерозованою поверхнею та в ділянках епідермізації ерозії.

У пацієнток із CIN I зберігалися стратифікація та анізоморфність поверхневого і проміжного шарів. Основні зміни спостерігалися в базальному та парабазальному шарах. Було виявлено базальну гіперактивність нижньої третини епітеліального шару за рахунок проліферації епітеліальних клітин. Базальні та парабазальні клітини були орієнтовані перпендикулярно відносно базальної мембрани, мали приблизно однаковий розмір. Більшість клітин мали круглу або овальну форму, однак реєстрували також клітини витягнутої форми. У 48% випадків у проміжному та поверхневому шарах епітелію виявляли клітини з маленькими, зморщеними, гіперхромними ядрами й ободком перинуклеарного просвіту в цитоплазмі, тобто койлоцити. Під час імуногістохімічного дослідження біоптатів шийки матки із застосуванням мишачих антитіл до Ki-67 у пацієнток із CIN I позитивні клітини визначалися в базальному та парабазальному шарах багатошарового плоского епітелію. При цьому аналогічна картина спостерігалася і в патологічно незмінених відділах епітеліального шару. Частота p53-позитивних ядер при CIN I коливалася від 20 до 40%, усі вони розташовувалися переважно в базальному та парабазальному шарах. У незміненому епітелії позитивну реакцію з p53 виявляли виключно в ядрах клітин базального шару. Під час імунозабарвлення p16INK4A у нижній третині епітеліального пласта при CIN I реєстрували поодинокі позитивні клітини або групи клітин, що вірогідно підтверджувало наявність дисплазії.

У разі CIN II патологічні зміни охоплювали приблизно половину товщини шару багатошарового плоского епітелію. У всіх випадках було відзначено порушення вертикальної анізоморфності та стратифікації нижніх шарів унаслідок тотальної базально-клітинної гіперактивності. Ядра більшості клітин були збільшені в розмірах, здебільшого мали округло-овальну чи витягнуту форму. Ядерно-цитоплазматичне відношення було помірно зміщене в бік ядра. У поодиноких клітинах виявляли зменшені округлі ядра. Більшість гіперплазованих базальних і парабазальних клітин були гіперхромними, але зустрічалися поодинокі нормо- та гіпохромні. Характерним було зростання кількості Ki-67- і p53-позитивних ядер у різних шарах епітелію, при цьому значна частина клітин, що містили Ki-67-позитивні ядра, локалізувалася в центральних ділянках покривного епітелію. Кількість клітин із p53 позитивно забарвленими ядрами коливалася від 0 до 10%; інтенсивність реакції була слабкою та помірною. Площа й інтенсивність імунозабарвлення p16INK4A збільшувалася, переважно цитоплазматичне забарвлення реєстрували майже в усіх клітинах парабазального та базального шарів.

У всіх випадках CIN III виявлено порушення стратифікації і вертикальної анізоморфності в значній частині епітелію внаслідок розладів дозрівання та диференціювання клітин. Майже весь епітеліальний шар був представлений відносно мономорфними, щільно розташованими клітинами округло-овальної і витягнутої форми, за винятком декількох поверхневих шарів із зрілих клітин, які зберегли нормальну будову. Ядра переважної частини клітин мали округлу або витягнуту форму, зустрічалася невелика кількість трикутних ядер. Більшість із них були гіперхромними, з відносно рівномірним розташуванням хроматину, але реєстрували також нормо- і гіпохромні з тонкодисперсним хроматином. У деяких ядрах можна було спостерігати одне чи два ядерця. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення помітно зміщувалося в бік ядра. У разі CIN III кількість клітин із ядрами, які позитивно реагували на Ki-67 і p53, коливалася від 50 до 80-90%, при цьому позитивну реакцію виявляли майже в усіх клітинах епітеліального шару. У пацієнток із CIN III реєстрували найбільш суттєву інтенсивність імунореакції з p16INK4A. У більшості випадків переважала інтенсивна реакція з одночасним фарбуванням ядер і цитоплазми (змішана реакція) в клітинах усіх шарів епітелію.

Виявлено пряму кореляційну залежність між експресією p16INK4A, Ki-67 та p53 і ступенем вираження дисплазії – відповідно r=0,84, p<0,05; r=0,87, p<0,05; r=0,67, p<0,05.

На третьому етапі було комплексно обстежено 240 жінок репродуктивного віку групи ПШ із цервіцитами, ерозіями та дисплазією шийки матки легкого ступеня на тлі наявності ВПЛ високого онкогенного ризику 16 і 18 типів та розроблено схему лікування і профілактики рецидивів цієї патології.

Вік пацієнток коливався від 16 до 31 року і в середньому у групі ПШ становив 24,91±0,15 року. Досліджувані групи були гомогенними за середнім віком; соціальним статусом; характеристиками менструального циклу; контрацептивною поведінкою; кількістю жінок, що палять; частотою ФПЗШМ в анамнезі; наявністю генітальних та екстрагенітальних захворювань, дитячих інфекцій, урогенітальних інфекцій; частотою виявлення ВПЛ-інфекції; репродуктивним анамнезом; кількістю оперативних втручань на статевих і нестатевих органах; кількістю і характером деструктивних методів лікування шийки матки; ехоскопічними розмірами яєчників та матки, що дозволяє порівнювати результати застосованих методів терапії та профілактики рецидивів.

Як відомо, серед ендогенних модифікуючих факторів у генезі фонової та передракової трансформації епітелію шийки матки важливу роль відіграє стан імунної системи, зокрема клітинно-опосередкованого імунітету (Т.І. Кулініч, 2005). Під час вихідної оцінки імунного профілю периферичної крові зареєстровано, що абсолютна кількість лейкоцитів і лімфоцитів, відносна кількість лімфоцитів у жінок із ФПЗШМ на тлі ВПЛ-інфекції перебували в межах референтних значень, але в ході порівняння з контрольними показниками виявлено вірогідне зменшення абсолютної кількості лейкоцитів у групі ПШ в 1,15 раза, у тому числі: у групі ОЦ – в 1,11; ОЕ – в 1,13; ОД1 – в 1,19; ПЦ – в 1,13; ПЕ – в 1,14; ПД1 – в 1,16; а також зниження абсолютної і відносної кількості лімфоцитів у групі ПШ в 1,28 та 1,11 раза, у тому числі: у групі ОЦ – відповідно в 1,24 й 1,11 раза; ОЕ – в 1,26 і 1,11; ОД1 – в 1,34 й 1,12; ПЦ – в 1,23 й 1,09; ПЕ – в 1,25 і 1,09; ПД1 – в 1,30 і 1,11.

Відносний уміст Т-лімфоцитів (CD3+) у периферичній крові жінок із ФПЗШМ на тлі ВПЛ-інфекції у групі ПШ був знижений в 1,15 раза (p<0,01), у тому числі: у групі ОЦ – в 1,16 (p<0,01); ОЕ – в 1,17 (p<0,01); ОД1 – в 1,15 (p<0,01); ПЦ – в 1,15 (p<0,01); ПЕ – в 1,14 (p<0,01); ПД1 – в 1,15 (p<0,01).

Виявлено також зниження порівняно з групою контролю вмісту імунорегуляторних субпопуляцій Т-лімфоцитів, таких як хелпери/індуктори (CD4+) і супресори/цитотоксичні клітини (CD8+), імунорегуляторного індексу (CD4+/CD8+) у групі ПШ в 1,17 (p<0,01), 1,08 (p<0,01) і 1,09 раза (p<0,01), у тому числі: у групі ОЦ – в 1,18 (p<0,01), 1,09 (p<0,01) і 1,07 (p>0,05); ОЕ – в 1,15 (p<0,01), 1,12 (p<0,01) і 1,02 (p>0,05); ОД1 – в 1,19 (p<0,01), 1,10 (p<0,01) і 1,08 (p<0,01); ПЦ – в 1,15 (p<0,01), 1,11 (p<0,01) і 1,03 (p>0,05); ПЕ – в 1,17 (p<0,01), 1,11 (p<0,01) і 1,05 (p>0,05); ПД1 – в 1,18 (p<0,01), 1,09 (p<0,01) і 1,08 (p<0,01). Найбільш вираженим у субпопуляційному складі лімфоцитів периферичної крові жінок із ФПЗШМ на тлі ВПЛ-інфекції було зниження продукції NK-клітин – у 2,43 раза (p<0,01), у тому числі: у групі ОЦ – у 2,40 (p<0,01); ОЕ – у 2,32 (p<0,01); ОД1 – у 2,54 (p<0,01); ПЦ – у 2,53 (p<0,01); ПЕ – у 2,38 (p<0,01); ПД1 – у 2,55 (p<0,01).

Отримані результати щодо стану клітинного імунітету свідчать про неефективність активації адаптивної противірусної відповіді на системному рівні. Зменшення кількості NK-клітин, відповідальних за противірусну і протипухлинну відповідь, призводить до обтяження перебігу ВПЛ-інфекції і може зумовлювати розвиток вірусіндукованих онкологічних захворювань, що підтверджено нашими даними.

Під час вивчення інтерферонового статусу виявлено підвищення ІФН сироватки крові, а в культурі лейкоцитів крові – підвищення рівня спонтанного ІФН та зниження синтезу індукованих ІФН-α й ІФН-γ. Так, рівень ІФН сироватки крові у групі ПШ був вірогідно підвищений в 1,36 раза, у тому числі: у групі ОЦ – в 1,27; ОЕ – в 1,38; ОД1 – в 1,36; ПЦ – в 1,34; ПЕ – в 1,38; ПД1 – в 1,41 раза. Уміст спонтанного ІФН у культурі лейкоцитів крові у групі ПШ був вірогідно підвищений у 3,13 раза (p<0,01), у тому числі: у групі ОЦ – у 3,17; ОЕ – у 3,03; ОД1 – у 3,22; ПЦ – у 3,23; ПЕ – у 2,89; ПД1 – у 3,13. Синтез індукованих ІФН-α й ІФН-γ в культурі лейкоцитів крові у групі ОЦ був вірогідно знижений в 1,96 і 2,21 раза; у групі ОЦ – в 1,98 і 2,20; ОЕ – в 1,88 і 2,13; ОД1 – в 1,99 і 2,23; ПЦ – у 2,08 і 2,19; ПЕ – в 1,79 і 2,24; ПД1 – в 1,99 і 2,23.

У ході аналізу загальної бактеріальної маси (ЗБМ) у вагінальному біотопі за допомогою комплексної кількісної ПЛР у режимі реального часу було виявлено, що в контрольній групі Lg10 ЗБМ становив 6,17±0,14, тоді як у жінок із патологією шийки матки варіював від 6,16±0,16 у групі ОЦ до 6,54±0,19 у групі ПЦ і в середньому дорівнював 6,38±0,05 (p>0,05). Застосування як кількісної, так і якісної ПЛР показало наявність лактобактерій у вагінальному біотопі у 100% пацієнток групи контролю і у 69,58% жінок у групах із патологією шийки матки (p<0,01). У контрольній групі середній показник Lg10 лактобактерій становив 6,17±0,14, тоді як у пацієнток із патологією шийки матки варіював від 2,71±0,50 у групі ОЦ до 5,0±0,34 у групі ОД1 і в середньому дорівнював 4,01±0,18 (p<0,01). Відносний показник вагінальної нормобіоти у пацієнток контрольної групи за даними кількісної ПЛР у середньому становив 0,0±0,0, тоді як у групі ПШ варіював – від 1,50±0,53 у групі ОД1 до 3,36±0,60 у групі ОЕ і в середньому дорівнював 2,30±0,19 (p<0,01).

В урогенітальному мікробіоценозі обстежених пацієнток найчастіше умовно-патогенні мікроорганізми (УПМ) зустрічалися у пацієнток із цервіцитами у групах ОЦ і ПЦ, при цьому переважали Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphiromonas spp. (96,67 і 83,33%), Eubacterium spp. (80,0 і 63,33%), Atopobium vaginae (80,0 і 66,67%) і Peptostreptococcus spp. (76,67 і 73,33%).

У жінок з ерозіями груп ОЕ і ПЕ найчастіше виявляли Enterobacterium spp. (70,0 і 56,67%), Lachnobacterium spp./Clostridium spp. (63,33 і 70,0%), Candida spp. (63,33 і 63,33%), а при CIN I у групах ОД1 і ПД1 – Candida spp. (63,33 і 60,0%), Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphiromonas spp. (50,0 і 60,0%) і Enterobacterium spp. (38,98 і 38,33%).

Найбільші абсолютні концентрації в мікробіоті піхви при цервіцитах у групах ОЦ і ПЦ створювали представники Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphiromonas spp., Eubacterium spp., Atopobium vaginae і Peptostreptococcus spp.; при ерозіях шийки матки в групах ОЕ і ПЕ – Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphiromonas spp., Eubacterium spp., Candida spp. і Enterobacterium spp.; при CIN I у групах ОД1 і ПД1 – Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphiromonas spp., Eubacterium spp., Candida spp. і Enterobacterium spp.

Найбільші відносні концентрації в мікробіоті піхви при цервіцитах у групах ОЦ і ПЦ мали представники Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphiromonas spp., Eubacterium spp., Atopobium vaginae і Peptostreptococcus spp., при ерозіях шийки матки в групах ОЕ і ПЕ – Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphiromonas spp., Eubacterium spp., Enterobacterium spp. і Lachnobacterium spp./Clostridium spp., при легких дисплазіях у групах ОД1 і ПД1 – Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphiromonas spp., Eubacterium spp., Peptostreptococcus spp. і Enterobacterium spp.

Ureaplasma (urealiticum+parva) виявляли у пацієнток групи ПШ у 23,75% випадків (p<0,013), у тому числі: із цервіцитами – у 36,67% (p<0,01) у групі ОЦ і у 30,0% (p<0,01) у групі ПЦ; з ерозіями шийки матки – у 26,67% (p<0,01) у групі ОЕ і у 26,67% (p<0,01) у групі ПЕ; з дисплазією легкого ступеня – у 15,0% (p<0,03) у групі ОД1 і у 18,33% (p<0,02) у групі ПД1; відповідно в діагностично значущих концентраціях – у 30,0

Продовження на стор. 16.

ZU_2013_ACU_1.qxd 09.04.2013 12:08 Page 16

В.К. Чайка, член-кореспондент НАМН України, д.м.н., професор, **О.М. Носенко**, д.м.н.,
Н.О. Апанасенко, І.Г. Постолюк, Донецький національний медичний університет ім. М. Горького

Фонові та передракові захворювання шийки матки у жінок репродуктивного віку на тлі папіломавірусної інфекції високого онкогенного ризику: діагностика, лікування, профілактика

Продовження. Початок на стор. 14.

(p<0,01) і 30,0% (p<0,01); у 23,33 (p<0,01) і 20,0% (p<0,01); у 13,33 (p<0,04) і 15,0% (p<0,05).

Найбільші абсолютні концентрації в мікробіоті піхви Ureaplasma (urealiticum+parva) спостерігалися при цервіцитах: у групі ОЦ (1,43±0,38; p<0,01) і ПЦ (1,21±0,34; p<0,002); найменші – у жінок із CIN I: у групі ОД1 (0,54±0,19, p<0,01) і ПД1 (0,51±0,16; p<0,01). Відносні концентрації Ureaplasma (urealiticum+parva) в мікробіоті піхви пацієнток з ерозією шийки матки у групі ОЕ становили 0,96±0,31 (p<0,005), у групі ПЕ – 0,82±0,30 (p<0,02).

Гриби роду Candida spp. виявляли у хворих групи ПШ у 64,58% випадків (p<0,01), у тому числі: із цервіцитами – у групі ОЦ у 73,33% (p<0,01) і у групі ПЦ у 70,0% (p<0,01); з ерозіями шийки матки – у групі ОЕ у 63,33% (p<0,01) і у групі ПЕ у 63,33% (p<0,01); із CIN I – у групі ОД1 у 63,33% (p<0,03) і у групі ПД1 у 60,0% (p<0,02); у контролі – у 13,33%; відповідно у діагностично значущих концентраціях – у 60,0 (p<0,01) і 66,67% (p<0,01); у 63,33 (p<0,01) і 20,0% (p<0,01); у 13,33 (p<0,04) і 15,0% (p<0,05).

Абсолютна концентрація грибів роду Candida spp. у мікробіоценозі пацієнток групи ПШ становила 2,23±0,11 (p<0,01). Найбільші абсолютні концентрації Candida spp. у мікробіоті піхви спостерігалися при цервіцитах – у групі ОЦ (2,49±0,29; p<0,01) і ПЦ (2,50±0,34; p<0,01), найменші – у жінок із CINI: у групах ОД1 (2,13±0,21; p<0,01) і ПД1 (2,04±0,22; p<0,01). Пацієнтки з ерозією шийки матки мали середні відносні концентрації в мікробіоті піхви Candida spp.: у групі ОЕ – 2,28±0,32 (p<0,01), ПЕ – 2,22±0,35 (p<0,01).

Зміни спектра та частоти виявлення УПМ у мікробіоценозі урогенітального тракту призвели до формування дисбіозу у 51,25% жінок групи ПШ, у тому числі: у 70,0% пацієнток групи ОЦ і 63,33% – ПЦ; у 50,0% групи ОЕ і 36,67% – ПЕ; у 48,33% групи ОД1 і 46,89% – ПД1. При цьому у всіх групах не зареєстровано випадків аеробного дисбіозу. Анаеробний та аеробно-анаеробний дисбіоз був найбільше виражений у групах із цервіцитом. Анаеробний дисбіоз був найменше виражений у групах ПЕ і ПД1, а аеробно-анаеробний дисбіоз – у групах ОЕ і ПЕ.

Під час цитологічного скринінгу у 96,67% пацієнток із цервіцитами і у 100% з ерозіями шийки матки встановлено II тип цитограми, у 3,33% із цервіцитами – IIIA тип. У хворих із дисплазією легкого ступеня у 1,67% випадків спостерігався II тип цитограми; у 68,33% у групі ОД1 і у 81,67% у групі ПД1 – IIIA тип; у 18,33% у групі ОД1 і у 31,67% у групі ПД1 – IIIБ тип. На наявність ВПЛ-інфекції вказував койлоцитоз у 77,08% цитограм. Групи ОЦ і ПЦ, ОЕ і ПЕ, ОД1 і ПД1 були однорідними за результатами цитологічного скринінгу.

У пацієнток із цервіцитами під час простої кольпоскопії було виявлено екзофітні кондиломи: у групі ОЦ в 19,35% і в групі ПЦ – у 19,35% випадків, справжня ерозія – у 13,33 і 14,89%; у жінок з ерозіями шийки матки: у групі ОЕ у 100% і у групі ПЕ у 100% – цервіцит, у 23,33 і 23,33% – екзофітні кондиломи, у 23,33 і 23,33% – справжня ерозія; у хворих на дисплазію легкого ступеня: у групі ОД1 у 100% і у групі ПД1 у 100% – цервіцит, у 15,0 і 16,67% – екзофітні кондиломи, у 8,33 і 8,33% – справжня ерозія, у 16,67 і 16,67% – тонка лейкоплакія.

Під час розширеної кольпоскопії з оцтом та пробою Шиллера оцтобілу реакцію та йоднегативну зону реєстрували у всіх трьох ділянках на передній та задній губі шийки матки у всіх обстежених пацієнток групи ПШ. При розширеній кольпоскопії з оцтовою пробою у 100% випадків у жінок груп ОД1 і ПД1 спостерігалася ніжна пунктуація та ніжна мозаїка, у 16,67 і 25,0% – адаптаційна судинна гіпертрофія. Адаптаційну судинну гіпертрофію також виявляли у 35,19% пацієнток груп ОЦ і ПЦ і у 30,0% груп ОЕ і ПЕ.

За результатами гістологічного дослідження біоптатів шийки матки у всіх жінок груп ОЦ і ПЦ зареєстровано дрібноклітинну інфільтрацію та койлоцитоз; у 13,33 і 26,67% – справжню ерозію; у 16,67 і 23,33% – кондиломи. У 100% пацієнток груп ОЕ і ПЕ встановлено наявність койлоцитозу; у 86,67 і 83,33% – дрібноклітинної інфільтрації; у 60,0 і 60,0% – простого ендоцервікозу; у 33,33 і 33,33% – проліферувального ендоцервікозу; у 13,33 і 33,33% – стаціонарного ендоцервікозу; у 23,33 і 33,33% – справжньої ерозії; у 16,67 і 16,67% – кондилом. У всіх жінок груп ОД1 і ПД1 виявлено койлоцитоз і дисплазію легкого ступеня; у 91,67 і 96,67% – дрібноклітинну інфільтрацію; у 26,67 і 33,33% – простий ендоцервікоз; у 63,33 і 63,33% – проліферувальний ендоцервікоз; у 10,0 і 15,0% – стаціонарний ендоцервікоз; у 13,33 і 18,33% – справжню ерозію; у 16,67 і 15,0% – кондиломи.

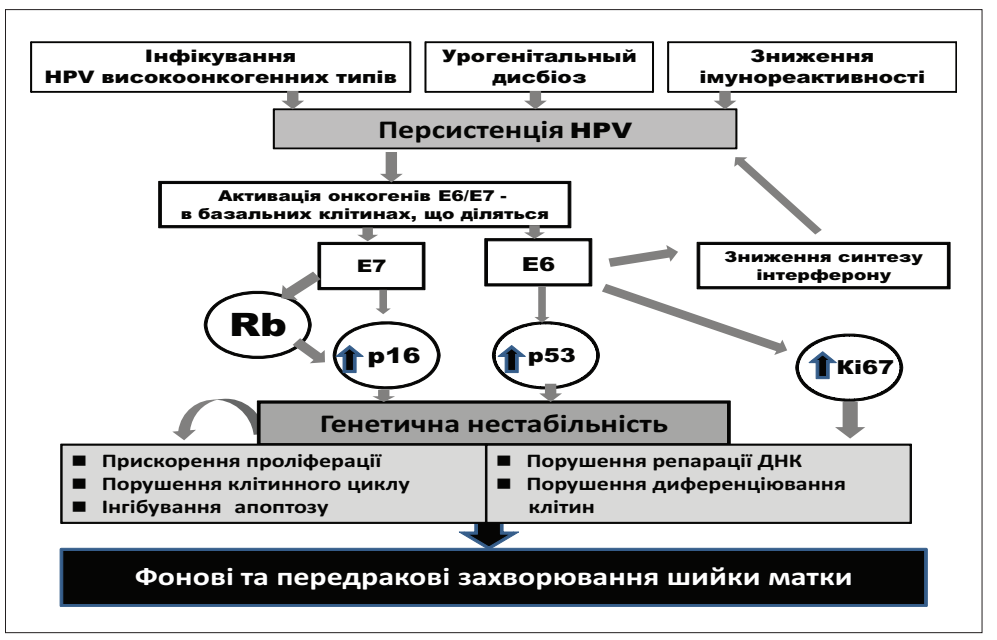

Рис. Патогенез ФПЗШМ при інфікуванні ВПЛ

Під час дослідження біоптатів шийки матки імунопозитивні клітини до Ki-67 і p53 візуалізувалися у 2/3 шарів епітеліального пласта у всіх досліджуваних групах з патологією шийки матки. Імунопозитивні клітини до p16INK4A реєстрували тільки при CIN I у базальному та парабазальному шарах епітелію.

Таким чином, інфікування ВПЛ високого онкогенного ризику на тлі урогенітального дисбіозу та зниження системної імунної реактивності призводить до активації онкогенів E6 і E7 у базальних клітинах, що діляться (рис.).

Інактивація гена ретинобластоми спричиняє накопичення в клітинах білка p16, який є одним із регуляторів клітинного циклу і викликає дискаріоз. Інактивація гена супресора p53 зумовлює порушення p53-індукованого апоптозу, порушення нормального контролю клітинного циклу. Збільшення експресії онкобілка Ki67 супроводжує інтенсифікацію проліферації. Усе це призводить до розвитку фонових та передракових процесів шийки матки.

Згідно з наведеною схемою патогенезу було розроблено метод лікування та профілактики рецидивів ФПЗШМ, основними відмінностями якого від традиційного були диференційована корекція стану урогенітального мікробіоценозу залежно від виду та ступеня вираження дисбіозу; застосування імуномодулятора; введення з метою вторинної профілактики рецидивів ВПЛ-інфекції та асоційованих із нею ФПЗШМ бівалентної вакцини.

На четвертому етапі оцінено ефективність розробленої схеми лікування та профілактики рецидивів цервіцитів, ерозій та легких дисплазій шийки матки на тлі наявності ВПЛ високого онкогенного ризику 16 і 18 типів.

Пацієнтки груп порівняння ПЦ, ПЕ і ПД1 отримували засоби лікування та профілактики згідно з клінічними протоколами з акушерської та гінекологічної допомоги щодо лікування ФПЗШМ. Хворим основних груп ОЦ, ОЕ й ОД1 було призначено терапію і профілактику відповідно до розробленого методу.

У разі виявлення урогенітального мікробіоценозу за результатами комплексної кількісної ПЛР проводять диференційоване етіотропне лікування залежно від виду та ступеня вираження дисбіозу: при анаеробному дисбіозі – препарати метронідазолу, орнідазолу та кліндаміцину перорально та вагінально; при анаеробно-аеробному – антибіотики широкого спектра дії (доксициклін, джозаміцин та ін.) або фторхінолони (препарати левофлоксацину та моксифлоксацину) протягом 7-10 днів перорально та препарати кліндаміцину або хлоргексидин вагінально; за наявності Ureaplasma (urealiticum + parva) або Candida spp. антибактеріальні препарати підбирають залежно від чутливості мікроорганізмів. Після антибактеріальної терапії застосовують препарати, які містять лактобактерії, для відновлення вагінальної мікрофлори по 1 супозиторію на ніч упродовж 10 днів.

Паралельно з антимікробними засобами з метою лікування ВПЛ-інфекції призначають імуномодулятори.

Після консервативної терапії здійснюють контрольне дослідження мікрофлори піхви за допомогою методу комплексної кількісної ПЛР у режимі реального часу. На 5-7-й день чергового менструального циклу проводять цитологічний контроль, кольпоскопію та прицільну біопсію шийки матки.

Після отримання результатів гістологічного дослідження біоптатів і за відсутності CIN II і CIN III для профілактики рецидивів ФПЗШМ, асоційованих із ВПЛ-інфекцією, вводять бівалентну вакцину внутрішньом'язово в дельтоподібний м'яз по 0,5 мл, повторюють ін'єкції через 1 і 6 міс від початку вакцинації. Контрольну розширену кольпоскопію виконують через 1, 3, 6 і 12 міс від початку вакцинації.

У разі збереження явищ патології шийки матки протягом 3 міс від початку лікування застосовують деструктивні методи терапії.

Дослідження умовно-патогенної мікрофлори виключно для якісної оцінки є малоінформативним у зв'язку з тим, що УПМ можуть спостерігатися як при патологічних станах (у діагностично значущих кількостях), так і в нормі (в обмеженій кількості). Таким чином, визначення наявності умовно-патогенної флори методом якісної ПЛР може призводити до призначення невиправданого та надлишкового лікування (Е.В. Липова и соавт., 2009). У проведеному дослідженні використано принципово новий підхід до аналізу умовно-патогенної флори, заснований на комплексній оцінці груп мікроорганізмів, що формують урогенітальний біоценоз, методом комплексної кількісної ПЛР у режимі реального часу і підбору індивідуальної терапії для кожної конкретної пацієнтки залежно від виду та ступеня вираження дисбіозу.

Корекція мікробіоценозу за допомогою пробіотиків вагінального застосування зумовила формування нормоценозу як в основних групах, так і в групах порівняння. Але у всіх пацієнток груп ОЦ, ОЕ і ОД1 нормалізація мікробіоценозу урогенітального тракту спостерігалася після проведення першого запропонованого курсу лікування, тоді як серед хворих груп ПЦ, ПЕ, ПД1 потребували призначення додаткових курсів терапії відповідно 13 (43,33%, роц<0,01), 8 (26,67%, рое<0,01) і 15 жінок (25,0%, род1<0,01).

З метою лікування ВПЛ-інфекції у групах порівняння застосовували рекомбінантний ІФН-α. В основних групах використовували імуномодулятор.

Суттєвою ознакою розробленого методу є використання в комплексному лікуванні пацієнток основних груп вакцини для вторинної профілактики рецидивів ВПЛ. Призначення вакцини має системний вплив на ВПЛ-інфекцію. Згідно з Рекомендаціями Національної ради експертів України щодо вакцинопрофілактики проти онкогенних штамів ВПЛ (Ю.Г. Антипкін та ін., 2008) ВПЛ-16, 18-ДНК-позитивні жінки можуть бути вакциновані. Вакцинація пацієнток з ураженнями шийки матки не призводить до прогресування або рецидиву захворювання, оскільки вакцина не містить ДНК-онкогенних штамів ВПЛ. Водночас посилюється імунна відповідь, і це сприяє

ZU_2013_ACU_1.qxd 09.04.2013 12:08 Page 17

виключенню прогресування ВПЛ-інфекції, тому вакцинація може слугувати профілактичним заходом щодо попередження рецидивів ФПЗШМ.

Застосування розробленого методу лікування зумовило вірогідне збільшення абсолютної кількості лейкоцитів і лімфоцитів в усіх досліджуваних групах порівняно з вихідними даними до терапії: у групі ОЦ – в 1,13 і 1,23 раза; ОЕ – в 1,14 і 1,42; ОД1 – в 1,22 й 1,34; ПЦ – в 1,09 та 1,18; ПЕ – в 1,13 і 1,18; ПД1 – в 1,09 та 1,02. Через 3 міс від початку лікування абсолютна кількість лейкоцитів у групі ОД1 була більша за таку у групі ПД1 на 10,93% ($p<0,01$), а абсолютна кількість лімфоцитів у групі ОЦ перевищувала таку у групі ПЦ на 3,33% ($p<0,01$), у групі ОЕ цей показник був більшим за такий у групі ПЕ на 19,32% ($p<0,03$); у групі ОД1 перевищував відповідне значення у групі ПД1 на 9,0% ($p<0,05$).

Використання розробленого методу терапії зумовило достовірне збільшення в досліджуваних групах порівняно з традиційним способом лікування відсотка CD4+, NK-клітин, індексу CD4+/CD8+: у групі ОЦ порівняно з ПЦ відповідно на 8,11, 37,74 і 14,57%; у групі ОЕ порівняно з ПЕ – на 8,91, 23,45 і 18,12%; у групі ОД1 порівняно з ПД1 – на 4,98, 21,45 і 20,57%. Розроблений метод терапії порівняно з традиційним забезпечив збільшення у групі ОЦ кількості Т-лімфоцитів (CD3+) щодо групи ПЦ на 3,91% і у групі ОД1 щодо групи ПД1 – на 2,96%.

Застосування розробленого та традиційного методів лікування у досліджуваних групах сприяло вірогідному зниженню рівня сироваткового і спонтанного ІФН у культурі лейкоцитів, а також підвищенню синтезу ІФН-α й ІФН-γ у культурі лейкоцитів порівняно з показниками до початку лікування: синтезу індукованого ІФН-α у групі ОЦ порівняно з групою ПЦ – на 25,27% та індукованого ІФН-γ – на 17,05%; у групі ОД1 порівняно з групою ПД1 – на 25,69 і 26,68%; а у групі ОЕ порівняно з групою ПЕ – тільки синтезу індукованого ІФН-γ на 16,30%.

Через 3 міс від початку медикаментозної терапії (без деструкції) частота повного клінічного одужання й формування закінченої зони трансформації за даними кольпоскопії у групі ОЦ перевищувала таку у групі ПЦ у 2,33 раза ($p<0,01$); у групі ОЕ порівняно з групою ПЕ – у 4,0 раза ($p<0,01$); у групі ОД1 порівняно з групою ПД1 – у 2,11 раза ($p<0,03$). Через 6 міс від початку медикаментозного лікування або медикаментозної терапії+кріодеструкція за даними кольпоскопії частота повного клінічного одужання і формування закінченої зони трансформації у групі ОЦ була більшою за таку у групі ПЦ в 1,35 раза ($p<0,03$); у групі ОЕ порівняно з групою ПЕ – в 1,35 раза ($p<0,03$); у групі ОД1 порівняно з групою ПД1 – у 9,49 раза ($p<0,03$).

Через 9 міс від початку медикаментозного лікування або медикаментозної терапії+кріодеструкція частота рецидивів цервіциту за даними кольпоскопії у групі ОЦ була меншою за таку у групі ПЦ у 3,33 раза ($p<0,03$); у групі ОЕ за таку у групі ПЕ – у 3,33 раза ($p<0,03$); у групі ОД1 за таку у групі ПД1 – у 2,55 раза ($p<0,01$); через 21 міс – відповідно у 3,20 ($p<0,03$); 3,33 ($p<0,03$); 2,24 раза ($p<0,01$).

Прогресування хронічного цервіциту в ерозію у групі ОЦ спостерігалося рідше порівняно з групою ПЦ через 9 міс у 3,33 раза ($p<0,03$), через 21 міс – у 4,67 раза ($p<0,03$); прогресування хронічного цервіциту в дисплазію у групі ОЦ не реєстрували, тоді як у пацієнток групи ПЦ через 9 та 21 міс виявляли у 23,33% випадків ($p<0,03$).

Через 9 міс від початку медикаментозного лікування або медикаментозної терапії+кріодеструкція частота рецидивів ерозії шийки матки за даними кольпоскопії у групі ОЕ була меншою за таку у групі ПЕ у 3,33 раза ($p<0,03$); через 21 міс – також у 3,33 раза ($p<0,03$). Прогресування ерозії шийки матки в дисплазію у групі ОЕ не реєстрували, тоді як у групі ПЕ через 9 та 21 міс виявляли у 16,67% жінок ($p<0,03$).

Рецидиви дисплазії шийки матки у групі ОД1 через 9 і 21 міс від початку лікування не виникали, а у групі ПД1 через 9 та 21 міс спостерігалися у 36,67% випадків ($p<0,01$).

Гістологічне дослідження біоптатів шийки матки через 9 міс від початку лікування виявило, що у групі ОЦ частота цервіцитів була меншою за таку у групі ПЦ у 3,33 раза ($p<0,003$); у групі ОЕ порівняно з ПЕ – у 3,33 раза ($p<0,03$); у групі ОД1 порівняно з ПД1 – у 2,55 раза ($p<0,01$). Простий ендоцервікоз зустрічався в 10,0% випадків у групах ОЦ ($p>0,05$) і ОЕ ($p>0,05$); проліферувальний ендоцервікоз – у 33,33% ($p<0,01$) жінок групи ПЦ і у 33,33% ($p<0,01$) групи ПЕ; стаціонарний ендоцервікоз – у 33,33% ($p<0,01$) пацієнток групи ПЦ і у 10,0% ($p>0,05$) групи ПЕ; дисплазія легкого ступеня – у 23,33% хворих ($p<0,01$) групи ПЦ, 16,67% ($p<0,02$) групи ПЕ і 36,67% ($p<0,01$) групи ПД1; кондиломи шийки матки – у 13,33% жінок ($p<0,04$) групи ПЦ, 16,67% ($p<0,02$) групи ПЕ і 13,33% ($p<0,01$) групи ПД1.

Оцінка наявності койлоцитозу в біоптатах шийки матки через 9 міс від початку лікування встановила меншу частоту його виявлення у групі ОЕ порівняно з групою ПЕ у 3,20 раза ($p<0,01$); у групі ОЕ порівняно з ПЕ – у 3,33 раза ($p<0,03$); у групі ОД1 порівняно з ПД1 – у 2,24 раза ($p<0,01$).

Згідно з даними гістологічного дослідження біоптатів шийки матки через 9 міс від початку лікування у групі ОЦ частота цервіцитів була меншою за таку у групі ПЦ у 3,20 раза ($p<0,003$); у групі ОЕ за таку у групі ПЕ – у 3,33 раза ($p<0,03$); у групі ОД1 за таку у групі ПД1 – у 2,24 раза ($p<0,01$). Простий ендоцервікоз зустрічався у 10,0% випадків у групах ОЦ ($p>0,05$) і ОЕ ($p>0,05$); проліферувальний ендоцервікоз – у 46,67% ($p<0,01$) жінок групи ПЦ і 33,33% ($p<0,01$) групи ПЕ; стаціонарний ендоцервікоз – у 46,67% ($p<0,01$) хворих групи ПЦ і 33,33% ($p<0,04$) групи ПЕ. Випадків дисплазії легкого ступеня за результатами гістологічного дослідження біоптатів у групах ОЦ й ОЕ через 21 міс від початку лікування не спостерігали; частота дисплазії легкого ступеня у групі ОД1 була меншою за таку у групі ПД1 у 3,14 раза ($p<0,01$); цю патологію реєстрували у 23,33% пацієнток ($p<0,01$) групи ПЦ і у 16,67% ($p<0,02$) групи ПЕ; кондиломи шийки матки виявили у 13,33% хворих ($p<0,04$) групи ПЦ, у 16,67% ($p<0,02$) групи ПЕ і у 13,33% ($p<0,01$) групи ПД1.

Оцінка наявності койлоцитозу в біоптатах шийки матки через 21 міс від початку лікування встановила меншу частоту його виявлення у групі ОЕ порівняно з ПЕ у 3,20 раза ($p<0,01$); у групі ОЕ порівняно з ПЕ – у 3,33 раза ($p<0,03$); у групі ОД1 порівняно з ПД1 – в 1,75 раза ($p<0,01$).

За результатами імуногістохімічного дослідження біоптатів шийки матки у досліджуваних жінок через 9 міс від початку терапії імунопозитивні клітини до p16INK4A не реєстрували у жінок груп ОЦ, ОЕ, ОД1, але виявляли у 23,33% ($p<0,01$) пацієнток групи ПЦ, 16,67% ($p<0,01$) групи ПЕ і 36,67% групи ПД1 ($p<0,01$) в 1/3 епітеліального пласта. Імунопозитивні клітини до p53 та Ki-67 через 9 міс від початку лікування були наявні в 1/3 епітеліального пласта у всіх групах, у 2/3 – у групі ОД1 і всіх групах порівняння. При цьому частота виявлення імунопозитивних клітин до p53 та Ki-67 в 1/3 епітеліального шару була меншою за таку у групі ПЦ у 3,20 раза ($p<0,01$); у групі ОЕ за таку у групі ПЕ – у 3,33 раза ($p<0,03$); у групі ОД1 за таку у групі ПД1 – у 2,24 раза ($p<0,01$), а імунопозитивних клітин до p53 та Ki-67 у 2/3 епітеліального шару у групі ОД1 – меншою за таку у групі ПД1 у 3,14 ($p<0,01$) раза. Імунопозитивні клітини до p53 та Ki-67 у 2/3 епітеліального шару зустрічалися у 23,33% ($p<0,01$) пацієнток групи ПЦ і у 16,67% ($p<0,02$) – ПЕ.

За результатами імуногістохімічного дослідження біоптатів у обстежених жінок через 21 міс від початку терапії імунопозитивні клітини до p16INK4A не реєстрували лише у пацієнток груп ОЦ й ОЕ, але виявляли у 11,67% хворих групи ОД1, 23,33% ($p<0,01$) групи ПЦ, 16,67% ($p<0,01$) групи ПЕ і 36,67% групи ПД1 ($p<0,01$) в 1/3 епітеліального шару. Імунопозитивні клітини до p53 та Ki-67 через 21 міс від початку лікування були наявні в 1/3 епітеліального шару у всіх групах, у 2/3 – у групі ОД1 і всіх групах порівняння. При цьому частота виявлення імунопозитивних клітин до p53 та Ki-67 в 1/3 епітеліального шару була меншою за таку у групі ПЦ у 3,20 раза ($p<0,01$); у групі ОЕ за таку у групі ПЕ – у 3,33 раза ($p<0,03$); у групі ОД1 за таку у групі ПД1 – у 2,24 раза ($p<0,01$), а імунопозитивних клітин до p53 та Ki-67 в 2/3 епітеліального шару у групі ОД1 – меншою за таку у групі ПД1 у 3,14 ($p<0,01$) раза. Імунопозитивні клітини до p53 та Ki-67 через 21 міс від початку терапії зустрічалися у 2/3 епітеліального шару у 23,33% ($p<0,01$) пацієнток групи ПЦ і у 16,67% ($p<0,02$) групи ПЕ, у 3/3 епітеліального шару – відповідно у 33,33 ($p<0,01$) і 33,33% ($p<0,01$).

Таким чином, можна рекомендувати до широкого застосування в клінічній практиці для діагностики дисплазій шийки матки визначення в її біоптатах імунопозитивних клітин до p16INK4A, а також запропонований спосіб лікування та профілактики рецидивів ФПЗШМ.

Висновки

1. Пацієнтки репродуктивного віку, інфіковані ВПЛ 16 і 18 типів, порівняно з неінфікованими частіше мають в анамнезі урогенітальні інфекції та/або бактеріальний вагіноз – в 1,17 раза ($p<0,01$); патологію шийки матки – у 2,62 раза ($p<0,01$); частіше використовують деструктивні методи лікування шийки матки. Важку дисплазію (9,88%, $p<0,01$), кондиломи (8,14%, $p<0,01$), проліферувальну лейкоплакію (2,48%, $p>0,05$) і внутрішньоепітеліальний рак (1,24%, $p>0,05$) виявляють виключно у пацієнток, інфікованих ВПЛ 16 і 18 типів.

2. Визначення експресії p16INK4A дозволяє встановлювати ділянки з диспластичними чи неопластичними змінами у візуально незміненому епітелії, допомагає відрізняти диспластично змінені клітини від дистрофічних та атрофічних. За допомогою імуногістохімічної реакції з Ki-67 можна схарактеризувати ступінь вираження проліферації клітин епітеліального шару, діагностувати дисплазію на тлі запалення. З наростанням диспластичних процесів в епітелії шийки матки від CIN I до CIN III збільшується кількість імунопозитивно забарвлених клітин до p53. Існує пряма кореляційна залежність між імунозабарвленням p16INK4A, Ki-67 та p53 і ступенем вираження дисплазії – відповідно $r=0,84$, $p<0,05$; $r=0,87$, $p<0,05$; $r=0,67$, $p<0,05$.

3. Імунний профіль периферичної крові жінок із ФПЗШМ на тлі ВПЛ-інфекції характеризується імунодефіцитом, який проявляється вірогідним зниженням абсолютної кількості лейкоцитів у 1,15 раза; абсолютної та відносної загальної кількості лімфоцитів – у 1,28 і 1,11 раза; вмісту CD3+ – в 1,15 раза; CD4+ – в 1,17 раза; CD8+ – в 1,08 раза; індексу CD4+/ CD8+ – в 1,09 раза; продукції NK-клітин – у 2,43 раза; а також підвищенням сироваткового ІФН в 1,36 раза, спонтанного ІФН – у 3,13 раза на тлі зниження синтезу індукованого ІФН-α – в 1,96 та ІФН-γ – у 2,21 раза.

4. Урогенітальному біоценозу пацієнток із ФПЗШМ на тлі ВПЛ-інфекції властиві зміни спектра та частоти виявлення УПМ, що призводить до формування дисбіозу у 52,09% жінок: помірного – у 38,75% і вираженого – у 13,33%; анаеробного – у 22,92% й аеробно-анаеробного – у 29,17%, що потребує проведення диференційованих лікувальних заходів. При цьому найбільші відносні концентрації в мікробіоценозі піхви мають представники Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphiromonas spp. (LG10УПМ-LG10 лактобактерій = -1,02±0,31); Eubacterium spp. (-1,41±0,30); Megasphaera spp./Veilonella spp./Dialister spp. (-2,04±0,29); Peptostreptococcus spp. (-2,05±0,27). Ureaplasma (urealiticum+parva) виявляють у 23,75% випадків ($p<0,01$), у діагностично значущих концентраціях – у 20,0% ($p<0,01$); Candida spp. – відповідно у 64,58 ($p<0,01$) і 54,58% випадків ($p<0,01$).

5. За результатами гістологічного дослідження біоптатів шийки матки, ураженої ВПЛ-інфекцією, у всіх пацієнток визначають поліморфність патологічних змін на тлі наявності койлоцитозу у 100% випадків і дрібноклітинної інфільтрації у 100% жінок із цервіцитами, у 86,67% – з ерозіями шийки матки, у 96,67% – із CIN I. Імунопозитивні клітини до Ki-67 і p53 візуалізуються у 2/3 епітеліального шару у всіх групах з патологією шийки матки, тоді як імунопозитивні клітини до p16INK4A – тільки при CIN I у базальному та парабазальному шарах епітелію.

6. У пацієнток, пролікованих за розробленим методом, порівняно з традиційним спостерігається більш швидка нормалізація стану мікробіоценозу урогенітального тракту, вірогідне збільшення абсолютної кількості лейкоцитів і лімфоцитів, CD4+, NK-клітин, синтезу індукованого ІФН-α та ІФН-γ, і через 3 міс від початку лікування збільшується частота повного клінічного одужання при цервіцитах у 2,33 раза ($p<0,01$); ерозіях – у 4,0 раза ($p<0,01$); CIN I – у 2,11 раза ($p<0,03$); через 6 міс від початку медикаментозної терапії або медикаментозної терапії+кріодеструкція – відповідно у 1,35 ($p<0,03$); 1,35 ($p<0,03$) та 9,49 раза ($p<0,03$).

7. У пацієнток, пролікованих за розробленим методом, порівняно з традиційним частота рецидивів цервіциту за даними кольпоскопії та біопсії шийки матки через 9 міс від початку лікування була меншою у 3,33 раза ($p<0,03$) і через 21 міс – у 3,20 раза ($p<0,03$); частота рецидивів ерозії шийки матки була меншою у 3,33 ($p<0,03$) і у 3,33 раза ($p<0,03$). Рецидиви дисплазії шийки матки легкого ступеня у пацієнток, пролікованих за розробленим методом, через 9 міс від початку терапії не виявляли, через 21 міс реєстрували в 11,67% випадків (усі CIN I), тоді як серед хворих, пролікованих за традиційним методом, – відповідно у 36,67 (усі CIN I, $p<0,01$) і 36,67% випадків (з яких у 33,33% формується CIN II).