ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Кафедра фундаментальной и прикладной микробиологии

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ ВЛАГАЛИЩА ПРИ РАКЕ ШЕЙКИ МАТКИ

Выполнил: Щипакина Алина Александровна, направление подготовки 06.04.01 Биология
Направленность (профиль) образовательной программы Фундаментальная и прикладная микробиология

Руководитель: Титова Татьяна Николаевна, к.б.н., доцент кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии

Выпускная квалификационная работа допущена к защите:
«17» 06 2025 г.

Выпускная квалификационная работа защищена с оценкой «отлично»
«24» 06 2025 г.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Список сокращений

РШМ – рак шейки матки

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ВПЧ – вирус папилломы человека

БВ – бактериальный вагиноз

ЦК – цервикальный канал

ВЛ – влагалище

ЖСА – жидкая среда для анаэробных бактерий

ХТ – лучевая химиотерапия

ЦИН – цервикальная интраэпителиальная неоплазия

ВВЕДЕНИЕ

Рак шейки матки (РШМ) остается одной из наиболее значимых проблем современной онкогинекологии, занимая четвертое место по распространенности среди злокачественных новообразований у женщин во всем мире. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ежегодно регистрируется более 600 тысяч новых случаев заболевания, при этом около 340 тысяч пациенток умирают от его последствий. Несмотря на успехи в профилактике и ранней диагностике, высокая смертность от РШМ сохраняется, особенно в странах с ограниченными ресурсами здравоохранения, что подчеркивает необходимость дальнейшего изучения патогенетических механизмов этого заболевания.

Ключевую роль в развитии РШМ играет персистирующая инфекция, вызванная высокоонкогенными типами вируса папилломы человека (ВПЧ), такими как ВПЧ-16 и ВПЧ-18. Однако наличие вируса не всегда приводит к злокачественной трансформации эпителия шейки матки, что указывает на участие дополнительных факторов, способствующих канцерогенезу. В последние годы все большее внимание исследователей привлекает концепция цервикального дисбиоза – нарушения баланса вагинальной микробиоты, которое может создавать благоприятные условия для персистенции ВПЧ и прогрессирования предраковых изменений. Известно, что в норме доминирующим компонентом вагинального микробиоценоза являются лактобациллы, обеспечивающие защитную функцию за счет поддержания кислой среды и синтеза антимикробных веществ. При дисбиотических состояниях уменьшается доля лактобацилл и увеличивается количество условно-патогенных микроорганизмов, что может способствовать хроническому воспалению, повреждению эпителия и активации онкогенных процессов.

Изучение особенностей микробиоты влагалища и цервикального канала у пациенток с РШМ представляет значительный научный и практический интерес, поскольку может раскрыть новые аспекты патогенеза заболевания и предложить потенциальные биомаркеры для ранней диагностики или прогнозирования течения болезни. В связи с этим целью данного исследования является комплексный анализ состава и функциональных характеристик микробиоты шейки матки у женщин с раком шейки матки, а также оценка ее возможной роли в развитии и прогрессировании опухолевого процесса. Полученные данные могут внести вклад в разработку новых стратегий профилактики и персонализированного подхода к лечению РШМ.

Цель данного исследования – провести комплексный анализ состава влагалищной микробиоты у пациенток с раком шейки матки до и после проведения лучевой химиотерапии (ЛХТ) в сравнении со здоровыми женщинами, а также оценить диагностическую значимость выявленных изменений для прогнозирования течения заболевания.

Объектом исследования является вагинальная микробиота женщин.

Предмет исследования – особенности микробиоты шейки матки, их взаимосвязь с клиническими параметрами РШМ и потенциал в качестве биомаркеров.

Теоретическая ценность исследования заключается в углублении понимания роли микробиоты в патогенезе РШМ, а также в развитим концепции «микробиом-опосредованного онкогенеза».

Практическая значимость исследования заключается в:

1. Обзор литературных данных по теме исследования;

2. Сбор биологического материала;

3. Проведение бактериологического исследования мазков пациентов с раком шейки матки;

4. Сравнительный анализ результатов лабораторных исследований у пациентов с раком шейки матки;

5. Статистическая обработка полученных результатов.

Исследование вносит вклад в микробиологию, онкогинекологию и персонализированную медицину, предлагая новые диагностические и терапевтические стратегии, основанные на управлении микробиотой. Полученные данные открывают пути для дальнейших исследований, включая разработку пробиотических препаратов и интеграцию микробиомного анализа в клинические протоколы.

ГЛАВА I.ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Нормальная микробиота шейки матки и её функции

Нормальная микробиота шейки матки представляет собой сложную и динамичную экосистему микроорганизмов, которая играет фундаментальную роль в поддержании гомеостаза женской репродуктивной системы.

В норме микробиота шейки матки у здоровых женщин репродуктивного возраста характеризуется доминированием бактерий рода Lactobacillus. На сегодняшний день известно более 120 видов лактобацилл. В рамках международного проекта «Микробиом человека» было выделено около 20 видов представителей лактофлоры, населяющих вагинальный биотоп. Лактобациллы – это палочковидные грамположительные бактерии, способные к факультативному анаэробному или микроаэрофильному дыханию. Обычно они выглядят как длинные, правильной формы «палочки». При окрашивании по Граму или метиленовым синим у некоторых штаммов обнаруживаются биполярные тельца, цитоплазматическая зернистость и исчерченность.

Эти грамположительные палочки составляют 70-95% от общего микробного состава. Наиболее распространенные виды представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Наиболее распространенные виды лактобацилл

Название вида	Внешний вид и морфология	Роль и значение для здоровья
Lactobacillus crispatus	Грамположительные палочки (палочковидные бактерии), обычно небольшие, неподвижные. Могут образовывать короткие цепочки или кластеры.	Обеспечивает кислую среду за счёт продукции молочной кислоты, предотвращая рост патогенов. Связан с низким риском вагинальных инфекций и дисбиозов.

Название вида	Внешний вид и морфология	Роль и значение для здоровья
Lactobacillus jensenii	Грамположительные палочки, похожие по форме на L. crispatus, также неподвижные. Могут образовывать короткие цепочки.	Поддерживает низкий pH влагалища, способствует профилактике инфекций и ВПЧ. Важный компонент нормальной микробиоты.
Lactobacillus gasseri	Грамположительные палочки, небольшие, неподвижные, могут образовывать короткие цепочки или кластеры.	Производит молочную кислоту, способствует защите от бактериальных инфекций и воспалений. Может участвовать в иммунорегуляции.
Lactobacillus iners	Грамположительные палочки, обычно очень маленькие и тонкие; иногда трудно отличимы от других видов по морфологии. Могут иметь более разнообразную форму.	Часто встречается как у здоровых женщин, так и при дисбиозах; может быть «переходным» видом, связана с повышенным риском вагинальных нарушений.

Помимо лактобацилл, в состав нормальной микробиоты шейки матки в небольшом количестве входят представители других бактериальных групп. Среди условно-патогенных анаэробов можно отметить Gardnerella vaginalis, Prevotella spp., Atopobium vaginae и Mobiluncus spp.

Факультативные аэробы представлены преимущественно Streptococcus spp., Staphylococcus spp. и Enterococcus spp. Также в минимальных концентрациях могут присутствовать грибы рода Candida (см. рис. 1). Важно подчеркнуть, что в нормальных условиях эти микроорганизмы не вызывают патологических процессов благодаря контролирующему влиянию доминирующих лактобацилл [16].

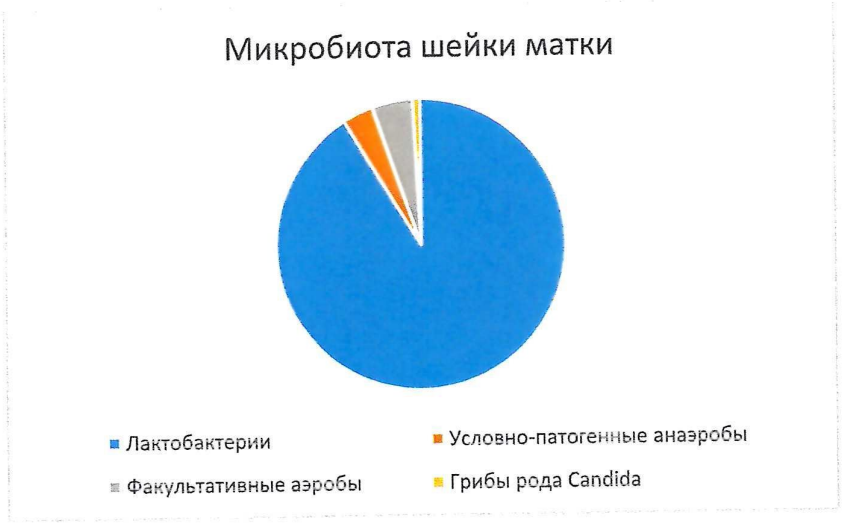


Рисунок 1 – Состав нормальной микробиоты шейки матки

Состав микробиоты демонстрирует определенные различия в зависимости от анатомической локализации. Влагалищная часть шейки матки характеризуется наибольшей плотностью лактобацилл, что приближает ее микробный состав к вагинальной микробиоте. Цервикальный канал, являясь переходной зоной между влагалищем и маткой, имеет более разнообразный микробный состав, включающий как представителей влагалищной микробиоты, так и микроорганизмы, характерные для нижних отделов половых путей. Эндоцервикальная область в норме приближена к стерильности, однако может содержать транзиторную микрофлору [8].

Поддержание стабильного состава микробиоты обеспечивается сложной системой регуляции, включающей гормональные, иммунологические и микробные факторы. Эстрогены играют ключевую роль в этом процессе, стимулируя пролиферацию вагинального эпителия и накопление гликогена – основного субстрата для жизнедеятельности лактобацилл. Иммунная система слизистых оболочек поддерживает баланс микрофлоры через секрецию IgA и антимикробных пептидов, таких как дефензины и кателицидины [21].

Данные регуляторные механизмы приводят к колебаниям состава микробиоты в течение менструального цикла (см. рис. 2). Так, в фолликулярную фазу доминирование лактобактерий достигает максимума, тогда как в лютеиновую фазу и период менструации их относительная численность снижается на фоне роста условно-патогенных видов.

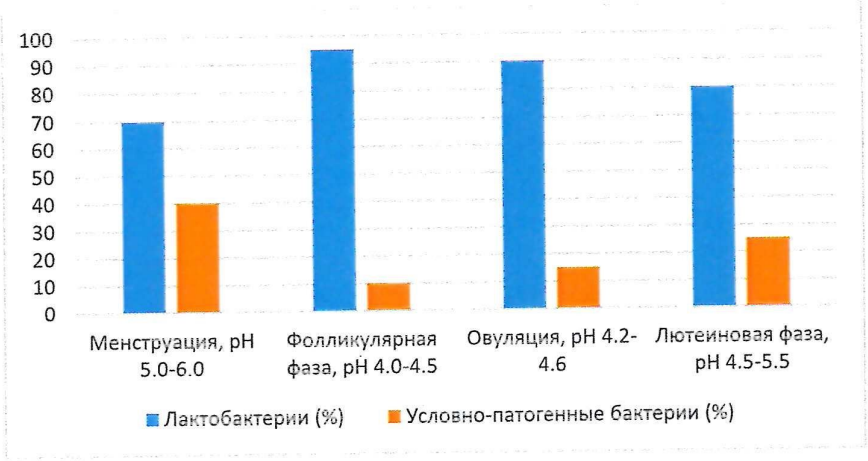


Рисунок 2 – Изменения состава микробиоты в течение менструального цикла

Микробиота влагалища и шейки матки претерпевает значительные изменения в зависимости от возраста и гормонального статуса женщины. В таблице 2 представлены основные характеристики микробиоты в различных возрастных и гормональных состояниях, а также их клиническое значение для здоровья женщин [7].

Таблица 2 – Основные характеристики микробиоты в различных возрастных и гормональных состояниях

Возрастной период / Гормональный статус	Основные характеристики микробиоты	Изменения pH среды	Особенности и клиническое значение
Детский и подростковый период	Низкое содержание лактобацилл; преобладание	6.0–7.5 (нейтральный)	Отсутствие достаточного гликогена в

	анаэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (например, Streptococcus, Staphylococcus, Bacteroides)		эпителии; формирование микробиоты с возрастом
Пубертат	Увеличение пролиферации эпителия и накопление гликогена, создающих условия для колонизации лактобацилл		Начало доминирования лактобацилл, подготовка к репродуктивному возрасту
Репродуктивный возраст	Доминирование Lactobacillus crispatus, L. jensenii, L. gasseri, L. iners	3.8-4.5	Поддержание кислой среды, защита от инфекций: влияние фаз менструального цикла: Фолликулярная фаза: рост лактобацилл при повышении эстрогенов; Лютеиновая фаза: снижение из-за прогестерона; Менструация: увеличение разнообразия и pH из-за крови

Беременность	Усиленное доминирование лактобацилл (особенно L. crispatus)		Защита от инфекций, связанная с высоким уровнем эстрогенов и иммунным ответом
Перименопауза и менопауза	Снижение уровня эстрогенов, уменьшение гликогена, снижение лактобацилл; увеличение условно-патогенных микроорганизмов (Gardnerella vaginalis, Prevotella spp.)	5.0-6.0	Повышение риска бактериального вагиноза, инфекций, воспалений
Постменопауза	Микробиота менее стабильна; преобладание анаэробов; снижение видового разнообразия лактобацилл		Заместительная гормональная терапия (ЗГТ) может частично восстанавливать баланс за счет увеличения лактобацилл и снижения pH

Возрастные и гормональные изменения микробиоты подчеркивают необходимость персонализированных подходов к диагностике и лечению дисбиозов. Например, у женщин в менопаузе коррекция микробиоты может включать использование пробиотиков и местных эстрогенов для восстановления эпителия.

Нормальная микробиота шейки матки выполняет ряд важных функций, обеспечивающих поддержание гомеостаза женской репродуктивной системы. Эти функции можно разделить на три ключевых направления: защитная, иммуномодулирующая и метаболическая.

Защитная функция является наиболее изученным аспектом деятельности вагинальных лактобацилл. Доминирующие штаммы Lactobacillus crispatus и L. jensenii поддерживают кислую среду (pH 3.8-4.5) за счет активной продукции молочной кислоты. Такой низкий уровень pH создает неблагоприятные условия для роста и размножения патогенных микроорганизмов, включая Gardnerella vaginalis, Prevotella spp. и Atopobium vaginae [14]. Кроме того, многие штаммы лактобацилл обладают способностью синтезировать бактериоцины – специфические антимикробные пептиды, такие как лактоцин и криспацин, которые избирательно подавляют рост конкурентных микроорганизмов.

Важным механизмом защиты является также продукция перекиси водорода (H_2O_2), Лактобациллы, способные продуцировать перекись водорода (ЛБ+), эффективно препятствуют заселению влагалища такими бактериями, как P. bivia, P. disiens и Mobiluncus spp., которые существенно нарушают баланс микрофлоры. Наличие миелопероксидазы у ЛБ (+) значительно снижает жизнеспособность Gardnerella vaginalis (в 2000 раз). Кроме того, такие лактобациллы подавляют каталазную активность гонококков и рост Staphylococcus aureus. Степень колонизации влагалища этими микроорганизмами прямо зависит от наличия ЛБ (+). У женщин с дисбактериозом влагалища лактобациллы выделяются всего в 35 % случаев, а среди них только у 11 % обнаруживаются те, что продуцируют перекись водорода. В то время как у здоровых женщин почти все выделенные лактобациллы являются перекисепродуцирующими – примерно 96 %. Чувствительность бактерий к перекиси водорода зависит от множества факторов: метаболической активности микроорганизмов, уровня их каталазной активности, а также изменения pH среды и других условий [5].

Иммуномодулирующая функция микробиоты проявляется в сложном взаимодействии с иммунной системой слизистых оболочек. Лактобациллы стимулируют выработку секреторного иммуноглобулина А (sIgA), который препятствует адгезии патогенов к эпителиальным клеткам. Одновременно они модулируют активность Toll-подобных рецепторов (TLR-2 и TLR-4), регулируя баланс провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Особое значение имеет способность нормальной микробиоты поддерживать оптимальный уровень интерлейкина-10 (IL-10) и трансформирующего фактора роста-β (TGF-β), что обеспечивает толерантность к комменсальным микроорганизмам при сохранении способности к эффективному иммунному ответу на патогены.

Метаболическая активность нормальной микробиоты включает несколько важных процессов. Основным является ферментация гликогена вагинального эпителия с образованием молочной кислоты, которая не только поддерживает оптимальный pH, но и участвует в регуляции пролиферации и дифференцировки эпителиальных клеток. Другим значимым аспектом является продукция короткоцепочечных жирных кислот, в частности ацетата и пропионата, которые обладают противовоспалительными свойствами и способствуют поддержанию целостности эпителиального барьера. Некоторые штаммы лактобацилл участвуют в синтезе витаминов группы В, что может иметь значение для местных метаболических процессов.

Особого внимания заслуживает способность нормальной микробиоты формировать так называемую «биологическую пленку» на поверхности слизистой оболочки. Эта структура, состоящая из микробных клеток и продуктов их метаболизма, создает физический барьер, препятствующий колонизации патогенными микроорганизмами. Одновременно биопленка служит резервуаром для постепенного высвобождения бактериоцинов и других антимикробных факторов, обеспечивая постоянную защиту.

Важной функцией является также участие в регуляции апоптоза эпителиальных клеток. Нормальная микробиота модулирует экспрессию генов, контролирующих программируемую клеточную гибель, что имеет особое значение для поддержания целостности слизистой оболочки и профилактики избыточного накопления генетических мутаций. Этот механизм может играть ключевую роль в профилактике неопластических процессов в шейке матки [19].

1.2 Изменения микробиоты при различных состояниях (вагиноз, воспаление)

Дисбиотические изменения вагинальной микробиоты представляют собой сложный патологический процесс, оказывающий сильное влияние на репродуктивное здоровье женщины. Нарушение нормального соотношения микроорганизмов характеризуется снижением количества или полным исчезновением лактобацилл и параллельным увеличением условно-патогенной флоры, что создает предпосылки для развития различных патологических состояний (см. рис. 3) [10].

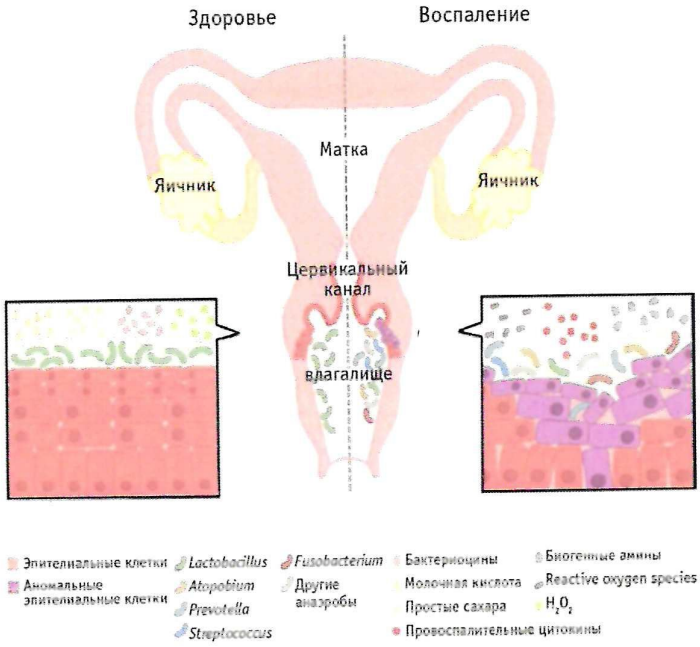


Рисунок 3 – Различия в составе микробиоты и особенности влагалищного эпителия в норме и при дисбиозе

На рисунке показана трансформация вагинального эпителия в норме и при дисбиотическом характере микробиоты. В норме микробиота представлена лактобациллами, при дисбиозе доминируют различные условно-патогенные бактерии, включая Streptococcus spp., Prevotella spp., Atopobium spp. и другие анаэробные бактерии [1].

Основным проявлением дисбиоза является бактериальный вагиноз (БВ), при котором наблюдается резкое уменьшение количества Lactobacillus spp. и преобладание таких микроорганизмов как Gardnerella vaginalis, Prevotella spp., Atopobium vaginae и других анаэробов. Эти изменения сопровождаются повышением pH влагалищной среды выше 4,5, что способствует дальнейшему прогрессированию дисбиотических процессов. Важным патогенетическим аспектом является способность условно-патогенных микроорганизмов формировать биопленки на поверхности эпителия, что значительно затрудняет эффективность проводимой терапии [8].

Ключевыми причинами бактериального вагиноза считаются:

– Гормональные изменения (снижение эстрогенов при менопаузе, беременность).

– Частая смена половых партнеров, хотя БВ не является классической ИППП.

– Спринцевания и использование антисептиков, которые вымывают нормальную микрофлору.

– Антибиотикотерапия, подавляющая лактобациллы.

Основные симптомы БВ включают обильные гомогенные серовато-белые выделения с характерным «рыбным» запахом, усиливающимся после полового акта или менструации. Однако, согласно данным В. Н. Прилепской и соавторов, опубликованным в 2010 году, у половины женщин

с бактериальным вагинозом отсутствуют какие-либо жалобы, что затрудняет своевременную диагностику.

Микроскопический анализ вагинального мазка является наиболее информативным, точным, доступным и экономичным методом диагностики бактериального вагиноза. Для постановки диагноза важно учитывать следующие признаки:

– снижение или полное исчезновение лактобацилл;

– увеличение количества смешанной микробной флоры, не относящейся к лактобациллам;

– наличие так называемых «ключевых» клеток – поверхностных эпителиальных клеток влагалища с адгезированными на их поверхности бактериями (см. рис. 4). Эти клетки приобретают «зернистый» вид за счет прикрепленных микроорганизмов. Края таких клеток выглядят размытыми или пунктирными из-за адгезии мелких грамотрицательных или грамвариабельных палочек и кокков, таких как Gardnerella, Mobiluncus и другие бактерии. Часто их трудно различить между собой.

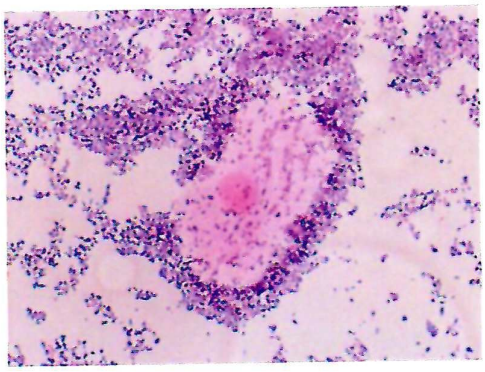


Рисунок 4 – Ключевая клетка при БВ

Для оценки результатов анализа мазков, окрашенных по Граму, была разработана стандартная десятибалльная система оценки, предложенная R. P. Nugent и соавторами. Эта система основана на подсчете различных бактериальных морфотипов в вагинальном отделяемом и включает три основные компоненты:

A – лактобациллы (большие грамположительные палочки, например Lactobacillus acidophilus);

B – мелкие грамвариабельные и грамотрицательные кокки (например Gardnerella vaginalis и Bacteroides spp.);

C – изогнутые грамвариабельные палочки (Mobiluncus spp.).

Образец отделяемого окрашивают по Граму и подсчитывают количество каждого морфотипа с помощью светового микроскопа в иммерсионной системе. Полученные баллы по каждому компоненту суммируют (A + B + C), после чего выносят заключение:

0–3 балла – нормальная микрофлора;

4–6 баллов – промежуточное состояние;

более 7 баллов – бактериальный вагиноз.

Для подтверждения БВ также используются:

1. Критерии Амселя (наличие ≥3 из 4 признаков: выделения, pH >4,5, положительный амино-тест, ключевые клетки в микроскопии).

2. Молекулярные методы (ПЦР, секвенирование 16S рРНК) для точной идентификации микроорганизмов.

Хронический БВ ассоциирован с повышенным риском:

– Восходящих инфекций (эндометрит, сальпингит).

– Осложнений беременности (преждевременные роды, хориоамнионит).

– Повышенной восприимчивости к ИППП (ВИЧ, ВПЧ, герпес).

Воспалительные заболевания органов малого таза, ассоциированные с вагинальным дисбиозом, представляют серьезную угрозу репродуктивному здоровью.

Острое воспаление чаще всего возникает при инфицировании Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae или Mycoplasma genitalium. Эти патогены провоцируют выраженную иммунную реакцию с выделением провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-8, TNF-α), что приводит к повреждению эпителия и усиленному притоку нейтрофилов. Клинически

это проявляется обильными гнойными выделениями, диспареунией и иногда межменструальными кровотечениями [26].

Хроническое воспаление приводит к структурным изменениям в тканях, формированию спаечного процесса и в конечном итоге может стать причиной трубно-перитонеального бесплодия. У беременных женщин дисбиотические нарушения увеличивают риск преждевременных родов, преждевременного излития околоплодных вод и послеродового эндометрита, что связано со способностью условно-патогенных микроорганизмов продуцировать провоспалительные цитокины и ферменты, разрушающие плодные оболочки.

Особого внимания заслуживает взаимосвязь между вагинальным дисбиозом и урогенитальными инфекциями. Измененная микробиота способствует повышенной адгезии и колонизации уропатогенов, увеличивая частоту рецидивирующих циститов и уретритов. Это особенно актуально для женщин в постменопаузе, когда естественное снижение уровня эстрогенов усугубляет атрофические изменения слизистой и без того нарушенный микробный баланс.

Длительно существующий дисбиоз оказывает системное влияние на организм, способствуя развитию метаболических нарушений и аллергических реакций. Это связано со способностью кишечно-вагинальной оси передавать сигналы между различными биотопами, что приводит к изменению иммунологического статуса всего организма. Современные исследования также указывают на возможную связь между хроническим вагинальным дисбиозом и развитием депрессивных расстройств, опосредованных через ось «микробиота-кишечник-мозг» [6].

1.3 Потенциальные механизмы влияния микробиоты на развитие и прогрессирование РШМ

При детальном анализе микробных профилей было обнаружено, что прогрессирование цервикальной интраэпителиальной неоплазии (ЦИН)

сопровождается постепенным снижением доли защитных лактобацилл (особенно L. crispatus) и увеличением количества условно-патогенных микроорганизмов. Наиболее показательными в этом отношении являются:

1. Повышенная представленность Fusobacterium nucleatum, которая коррелирует с тяжестью дисплазии. Этот микроорганизм демонстрирует выраженные провоспалительные свойства, способствуя хроническому воспалению через активацию TLR4 и выработку IL-8. Кроме того, F. nucleatum продуцирует адгезин FadA, который стимулирует пролиферацию эпителиальных клеток и подавляет апоптоз через сигнальный путь Е-кадгерин/β-катенин [23].

2. Увеличение доли Sneathia sanguinegens и Porphyromonas spp. у пациенток с CIN 3 и инвазивным раком. Эти бактерии обладают способностью нарушать целостность эпителиального барьера и модулировать местный иммунный ответ, создавая условия для персистенции ВПЧ и прогрессирования неоплазии [24].

Особый интерес представляет видоспецифичность изменений микробиоты. В отличие от L. crispatus, который ассоциирован с низким риском малигнизации, L. iners демонстрирует противоположные свойства. Этот штамм лактобацилл чаще выявляется у пациенток с персистирующей ВПЧ-инфекцией и прогрессирующей дисплазией, что может быть связано с его меньшей способностью поддерживать оптимальный pH и продуцировать бактериоцины.

Эти процессы реализуются через сложный каскад молекулярных и клеточных взаимодействий, требующих детального рассмотрения.

Персистирующая инфекция, вызванная высокоонкогенными типами ВПЧ (16, 18, 31, 33), в сочетании с дисбиотическими изменениями микробиоты приводит к хронической активации иммунной системы. При этом наблюдается:

– Постоянная инфильтрация тканей иммунокомпетентными клетками (нейтрофилами, макрофагами, лимфоцитами);

– Устойчивая гиперэкспрессия провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-8, TNF-α, IFN-γ);

– Активация сигнальных путей NF-κB и STAT3;

– Индукция реактивных форм кислорода (ROS) и азота (RNS).

Особое значение имеет образование пероксинитрита (ONOO-), мощного оксиданта, вызывающего:

– Повреждение ДНК через образование 8-оксигуанозина;

– Инактивацию репарационных ферментов (OGG1, APE1);

– Активацию онкогенов и инактивацию супрессоров опухолей [22].

Дисбиотическая микробиота, характеризующаяся доминированием Gardnerella vaginalis, Prevotella spp., Atopobium vaginae и других условно-патогенных микроорганизмов, продуцирует ряд онкогенных метаболитов (см. таблицу 3).

Таблица 3 – Канцерогенные метаболиты микробиоты

Метаболит	Источник	Механизм действия
Нитрозамины	Gardnerella, Prevotella	Алкилирование ДНК, мутации p53
Вторичные желчные кислоты	Clostridium, Bacteroides	Активация EGFR, Wnt/β-catenin
Аммиак	Уреаплазмы, Mycoplasma	Повреждение эпителия, pH-зависимая активация MMP
Сульфид водорода	Fusobacterium, Porphyromonas	Ингибирование апоптоза через Bcl-2

Эти соединения оказывают множество воздействий, включая прямое мутагенное действие на эпителиальные клетки, активацию онкогенных сигнальных путей, таких как PI3K/AKT и MAPK, а также подавление системы репарации ДНК. Кроме того, они способствуют индукции

эпителиально-мезенхимального перехода (ЕМТ), что способствует прогрессированию патологических процессов [23].

Микробный дисбаланс создает оптимальные условия для персистенции ВПЧ через:

– Подавление локального иммунитета (снижение IgA, дефицит IFN-γ)

– Апоптоз иммунокомпетентных клеток (CD4+, CD8+ лимфоцитов)

– Активацию вирусных онкогенов E6/E7 (см. рис. 5).

Рисунок 5 – Активация вирусных онкогенов

Отдельные компоненты дисбиотической микробиоты (особенно Fusobacterium nucleatum) стимулируют неоангиогенез через:

– Индукцию VEGF и IL-8;

– Активацию HIF-1α в условиях гипоксии;

– Стимуляцию металлопротеиназ (MMP-2, MMP-9).

Таким образом, микробиота влагалища участвует в патогенезе РШМ через комплекс механизмов, включающих хроническое воспаление, продукцию канцерогенных метаболитов, взаимодействие с ВПЧ и модуляцию противоопухолевого ответа. Детальное изучение этих процессов открывает новые возможности для профилактики и персонализированного подхода к лечению рака шейки матки.

1.4 Диагностический потенциал анализа микробиоты при РШМ

Современные исследования выявили значительные изменения в составе цервиковагинальной микробиоты у пациенток с предраковыми состояниями и инвазивным раком шейки матки, что открывает новые

перспективы для ранней диагностики и прогнозирования заболевания. Эти изменения носят не случайный характер, а отражают глубокую взаимосвязь между микробным дисбалансом и онкогенезом.

Метагеномные исследования последних лет позволили идентифицировать специфические микробные сигнатуры, характерные для разных стадий цервикальной неоплазии. Например, высокая представленность Atopobium vaginae в сочетании с уменьшением количества L. jensenii является прогностическим маркером быстрого прогрессирования CIN 1 в CIN 2-3. При этом микробный профиль при инвазивном раке отличается значительным увеличением α-разнообразия и появлением нетипичных для нормы микроорганизмов, таких как Dialister micraerophilus и Peptoniphilus harei.

Особый интерес представляет интеграция анализа микробиоты с существующими методами скрининга. Комбинация ВПЧ-тестирования с оценкой микробного профиля позволяет существенно повысить специфичность диагностики. В частности, исследования показывают, что у женщин с Lactobacillus iners – доминантным профилем микробиоты в сочетании с ВПЧ 16-го типа риск развития тяжелых неоплазий увеличивается в 3,5 раза по сравнению с теми, у кого преобладают другие виды лактобацилл. Это открывает возможности для более точной стратификации риска среди ВПЧ-позитивных пациенток и снижения числа необоснованных инвазивных процедур.

Перспективным направлением является разработка клинических алгоритмов, объединяющих данные о микробиоте с традиционными диагностическими параметрами. Уже сейчас создаются системы оценки риска на основе машинного обучения, которые учитывают до 15 различных бактериальных маркеров вместе с результатами цитологического исследования и ВПЧ-тестирования. Предварительные исследования показывают, что такие комбинированные модели позволяют повысить точность прогнозирования развития РШМ на 15-20% по сравнению с

использованием только цитологических или вирусологических критериев [25].

Клиническое применение этих данных может осуществляться в нескольких направлениях. Во-первых, количественный анализ ключевых бактериальных маркеров может улучшить стратификацию риска у пациенток с ВПЧ-инфекцией, позволяя выделить группу, требующую более интенсивного наблюдения. Во-вторых, динамическая оценка микробиоты в процессе лечения может служить индикатором его эффективности и прогностическим фактором.

Таким образом, анализ цервиковагинальной микробиоты представляет собой многообещающий инструмент для совершенствования диагностики и профилактики рака шейки матки. Дальнейшие исследования в этом направлении должны быть сосредоточены на стандартизации методов отбора проб, разработке воспроизводимых панелей диагностически значимых микроорганизмов и оценке клинической эффективности микробиом-ориентированных вмешательств.

использованием только цитологических или вирусологических критериев [25].

Клиническое применение этих данных может осуществляться в нескольких направлениях. Во-первых, количественный анализ ключевых бактериальных маркеров может улучшить стратификацию риска у пациенток с ВПЧ-инфекцией, позволяя выделить группу, требующую более интенсивного наблюдения. Во-вторых, динамическая оценка микробиоты в процессе лечения может служить индикатором его эффективности и прогностическим фактором.

Таким образом, анализ цервиковагинальной микробиоты представляет собой многообещающий инструмент для совершенствования диагностики и профилактики рака шейки матки. Дальнейшие исследования в этом направлении должны быть сосредоточены на стандартизации методов отбора проб, разработке воспроизводимых панелей диагностически значимых микроорганизмов и оценке клинической эффективности микробиом-ориентированных вмешательств.

ГЛАВА II. Материалы и методы исследования

2.1 Дизайн исследования

Целью данного исследования является сравнительное изучение качественного и количественного состава микробиоты влагалища и цервикального канала у пациенток с раком шейки матки до и после проведения химиолучевой терапии в сравнении с контрольной группой здоровых женщин.

Основные задачи:

1. Провести бактериологическое исследование образцов биологического материала от женщин с диагнозом рак шейки матки и женщин с нормальными результатами цитологического исследования с идентификацией до вида выделенных чистых культур методом масс-спектрометрии.

2. Провести сравнительный анализ количественного состава и разнообразия микробиоты влагалища у женщин с диагнозом рак шейки матки и у женщин с нормальными результатами цитологического исследования

3. Определить ключевые микроорганизмы, ассоциированные с развитием и прогрессированием рака шейки матки, с оценкой их количественного содержания.

4. Выявить взаимосвязь между составом микробиоты и клиническими параметрами заболевания, включая стадию рака, наличие метастазов и эффективность терапии.

5. Исследовать изменения микробиоты влагалища у женщин и их влияние на эффективность терапии и качество жизни.

Проведено проспективное когортное исследование с включением двух групп пациенток:

1. Основная группа – женщины с гистологически подтвержденным диагнозом рака шейки матки;

2. Контрольная группа – здоровые женщины без онкогинекологической патологии.

Методы сбора данных:

1. Взятие образцов микробиоты;

2. Проведение лабораторных исследований;

3. Оценка клинических данных.

Методы анализа данных:

1. Статистические методы для сравнения состава микробиоты между группами;

2. Анализ корреляций между микробиотой и клиническими параметрами;

3. Использование программных средств для биоинформатического анализа.

Этапы проведения исследования:

1. Подготовительный этап (этическое согласование, подбор участников);

2. Сбор образцов и данных;

3. Лабораторные исследования;

4. Обработка и анализ полученных данных;

5. Интерпретация результатов.

Ожидаемые результаты:

1. Определение характерных особенностей микробиоты у пациенток с РШМ;

2. Выявление возможных связей между составом микробиоты и стадией заболевания или наличием ВПЧ.

Исследование выполнено на базе ГАУЗ РКОД МЗ РБ (Республиканский клинический онкологический диспансер). Образцы микробиоты анализировались в лаборатории «Микробиом человека» с использованием стандартизированных протоколов.

2.2 Характеристика исследуемых групп (пациентки с РШМ различной стадии, контрольная группа)

Для проведения сравнительного анализа были сформированы следующие группы:

1. Основная группа (n=93). Женщины с гистологически подтвержденным диагнозом рака шейки матки.

Подгруппы:

– Пациентки до начала химиолучевой терапии (n=34)

– Пациентки после завершения курса химиолучевого лечения (n=59)

2. Контрольная группа (n=61). Здоровые женщины без гинекологической патологии

Критерии включения.

Для основной группы:

– Подтвержденный диагноз РШМ (биопсия);

– Возраст от 31 до 53 лет;

– Отсутствие антибактериальной терапии за 4 недели до исследования;

– Подписание информированного согласия.

Для контрольной группы:

– Отсутствие онкогинекологической патологии;

– Нормальные результаты кольпоскопии и цитологии;

– Сопоставимый возрастной диапазон.

Критерии исключения (для всех групп):

– Беременность;

– Острые инфекционные заболевания;

– Прием иммуносупрессивных препаратов;

– Наличие ВИЧ-инфекции, вирусных гепатитов;

– Прием пробиотиков в течение последнего месяца.

– Воздержание от половых контактов за 48 часов до процедуры;

– Отмена использования вагинальных препаратов и спермицидов за 7 дней;

– Забор материала проводился до выполнения гинекологического осмотра и инструментальных вмешательств.

Техника взятия образцов.

1. Локализация забора:

– Цервикальный канал – после обработки шейки матки стерильным физиологическим раствором, тампон вводили на глубину 1-1.5 см;

– Свод влагалища – материал собирали с заднего свода;

– Смешанный образец – комбинированный соскоб с эктоцервикса и влагалищного свода.

2. Инструменты:

– Тупферы – стерильные зонд-тампоны (см. рис. 6) с транспортной средой Amies (с активированным углем);

Рисунок 6 – Тупферы

– Предметные стекла для микроскопии.

3. Алгоритм процедуры:

– Обработка наружных половых органов стерильным физраствором;

– Введение гинекологического зеркала без смазки;

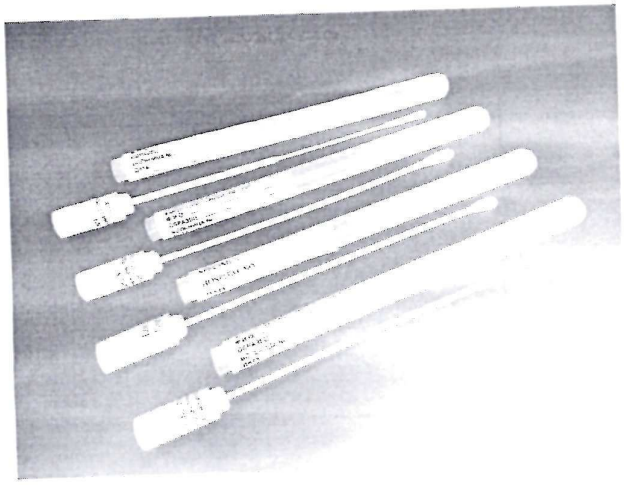


Рисунок 6 – Тупферы

– Предметные стекла для микроскопии.

3. Алгоритм процедуры:

– Обработка наружных половых органов стерильным физраствором;

– Введение гинекологического зеркала без смазки;

– Последовательный забор из 3 точек (см. рис. 7);

Влагалище ⟶ Шейка матки ⟶ Комбинированный соскоб

Рисунок 7 – Последовательность забора образцов

– Для каждой зоны использовался отдельный тампон.

Транспортировка и хранение:

– Тампоны помещались в холодовые контейнеры (+4°C);

– Доставка в лабораторию в течение 2 часов;

– Длительное хранение при -80°C (для молекулярных исследований).

Контроль качества:

– Исключение контаминации:

– Смена перчаток перед каждым забором;

– Использование ДНК/РНК-free пробирок;

– Фиксация времени забора и условий транспортировки.

2.4 Методы анализа микробиоты

Для определения состава микробиоты использовались следующие среды:

ЖСА (жидкая среда для анаэробных бактерий) – среда, содержащая мясной бульон, экстракт пшеницы или яиц, а также добавки для поддержки роста анаэробных микроорганизмов.

Кровяной агар (аэробный и анаэробный). Ингредиенты включают желатин, агар-агар, кровь и буферные компоненты. Используется для выращивания широкого спектра бактерий, включая патогенные и условно-патогенные виды.

Сабуро – среда с высоким содержанием сахара (обычно 4%) и низким pH (около 5,6), что создает неблагоприятные условия для большинства бактерий и способствует росту грибов рода Candida и других дрожжевых грибов.

Лакто-среда. В состав входят компоненты, поддерживающие рост лактобацилл и подавляющие развитие нежелательных микроорганизмов.

Эндо – это питательная среда, используемая для выделения и идентификации бактерий кишечной палочки и других грамм отрицательных микроорганизмов. Данная среда содержит красители, такие как эритрозин и фуксин, которые подавляют рост грамм-положительных бактерий и позволяют четко различать колонии E. coli по характерной зеленой металлической окраске.

Посевы проводили в условиях аэробной и анаэробной среды при температуре 37°C. Инкубация продолжалась от 24 до 72 часов в зависимости от типа микроорганизмов.

Для морфологической оценки флоры использовали мазки, окрашенные по Грамму, а также мазки на предметных стеклах с последующим исследованием под световым микроскопом. Это позволило

определить морфологические особенности бактерий, их количество и состояние.

Выделенные колонии после посева идентифицировали по морфологическим признакам, окраске по Грамму и биохимическим тестам (например, тестам на ферментацию глюкозы, каталаза).

Количество колоний подсчитывали по стандартной методике (количество колоний на единицу площади или объем). Для оценки состава микробиоты использовали соотношение различных групп микроорганизмов: лактобацилл, условно-патогенных бактерий, грибов.

2.5 Статистические методы обработки данных

Для анализа полученных результатов использовались стандартные статистические методы, обеспечивающие объективную оценку различий и взаимосвязей между группами. Обработка данных проводилась с помощью программных комплексов SPSS (версия 25 и выше) и R (версия 4.0 и выше).

Основные методы статистической обработки включали:

– Описание данных. Для количественных переменных использовались медиана, межквартильный размах, среднее арифметическое и стандартное отклонение; для качественных – частоты и проценты;

– Проверка нормальности распределения. Применялись тесты Шапиро-Уилка и Колмогорова–Смирнова.

Для количественных показателей, распределённых нормально, использовался критерий Стьюдента (t-критерий).

Для данных с ненормальным распределением – непараметрический критерий Манна-Уитни.

Для сравнения пропорций – хи-квадрат тест или точный критерий Фишера при малых выборках.

Корреляционный анализ: для выявления взаимосвязей между микробиотой и клиническими параметрами применялись коэффициенты корреляции Спирмена или Пирсона в зависимости от типа данных.

Многофакторный анализ: при необходимости использовались логистическая регрессия и дисперсионный анализ (ANOVA) для оценки влияния различных факторов на состав микробиоты.

Уровень значимости устанавливался на уровне $p < 0,05$. Результаты интерпретировались с учетом доверительных интервалов и степени статистической значимости.

ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1 Сравнительный анализ состава и разнообразия микробиоты в исследуемых группах

В данном разделе представлены результаты сравнительного анализа влагалищной микробиоты у здоровых женщин и пациенток с раком шейки матки, включая подгруппы до и после проведения лучевой химиотерапии. Основное внимание уделено различиям в таксономическом составе и альфа-разнообразии микробных сообществ.

Методы анализа:

1. Сравнение состава микробиоты:

– Расчет относительной частоты встречаемости бактериальных таксонов.

2. Оценка альфа-разнообразия:

– Расчет индекса Шеннона (H');

– Расчет индекса Симпсона (D);

– Статистическая значимость различий определялась с помощью U-критерия Манна-Уитни.

Ниже представлена таблица, содержащая перечень микроорганизмов, выявленных в исследуемых образцах, с указанием их видов.

Таблица 4 – Микроорганизмы, выявленные в исследовании

Категория	Микроорганизмы, виды
Грамположительные микроорганизмы	
Лактобациллы (Lactobacillus spp.)	Lactobacillus salivarius; Lactobacillus paracasei; Lactobacillus fermentum; Lactobacillus crispatus
Стафилококки (Staphylococcus spp.)	Staphylococcus epidermidis; Staphylococcus hominis; Staphylococcus aureus; Staphylococcus saprophyticus; Staphylococcus warneri; Staphylococcus haemolyticus; Staphylococcus capitis; Staphylococcus simulans

Категория	Микроорганизмы, виды
Стрептококки (Streptococcus spp.)	Streptococcus mitis; Streptococcus oralis; Streptococcus anginosus; Streptococcus dysgalactiae
Энтерококки (Enterococcus spp.)	Enterococcus faecalis; Enterococcus faecium
Другие грамположительные микроорганизмы	Corynebacterium amycolatum; Corynebacterium imitans; Rhodococcus corynebacteroides; Bacillus safensis; Bacillus megaterium; Micrococcus luteus
Грамотрицательные микроорганизмы	Escherichia coli; Klebsiella pneumoniae; Klebsiella oxytoca; Pseudomonas aeruginosa; Stenotrophomonas maltophilia; Acinetobacter lwoffii; Fusobacterium nucleatum; Porphyromonas spp.; Prevotella spp.; Gardnerella vaginalis; Mobiluncus spp.; Sneathia sanguinegens; Dialister micraerophilus; Peptoniphilus harei.
Грибы	Candida albicans; Candida tropicalis
Другие	Mycoplasma genitalium; Ureaplasma spp.

Среди выявленных стафилококков, наблюдается повышенная частота встречаемости у пациенток с РШМ. На рисунке 8 представлен пример роста Staphylococcus aureus в чашке Петри, выращенных на кровяном и желточно-солевом агаре.

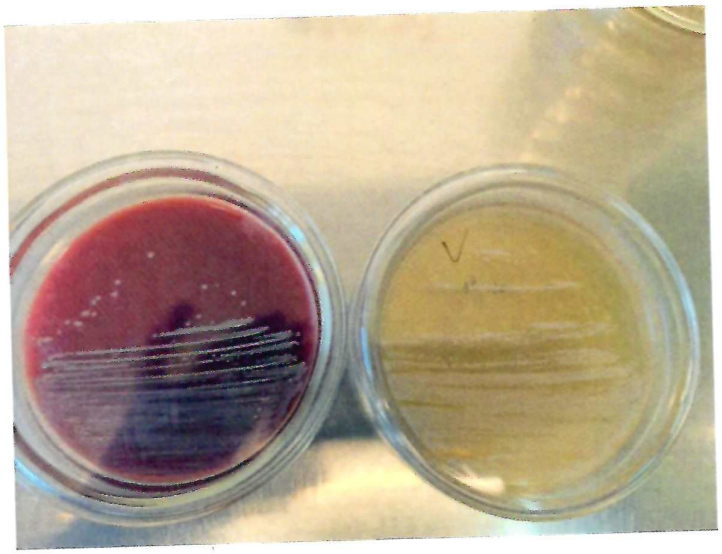


Рисунок 8 – Staphylococcus aureus

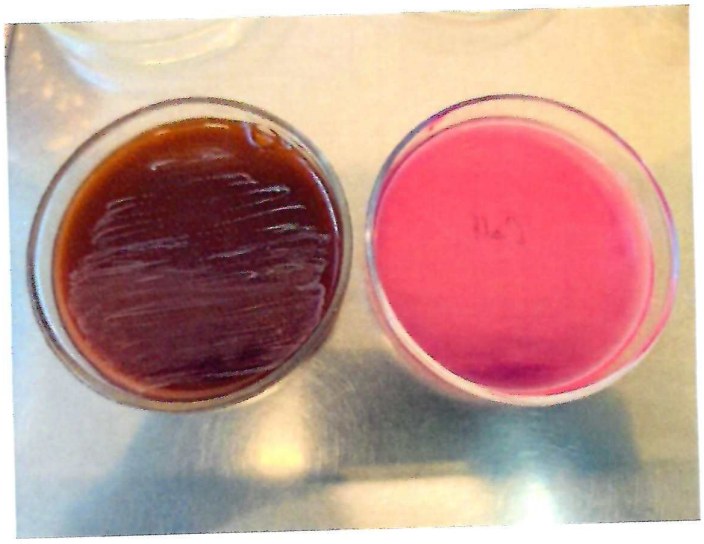


Рисунок 9 – Candida albicans

Несмотря на относительно низкую частоту встречаемости, присутствие Candida spp. может усугублять воспалительные процессы на фоне сниженного иммунитета.

Для выявления статистически значимых различий в частоте встречаемости бактериальных таксонов между группами был применен непараметрический критерий Манна-Уитни. Этот метод был выбран, поскольку:

– Распределение данных отклонялось от нормального (проверено тестом Шапиро-Уилка);

– Исследование включало малые подгруппы (например, здоровые, n=4), где параметрические тесты неэффективны.

Таблица 6 показывает данные по распространённости бактерий у разных групп и значением p-уровня.

Таблица 6 – Сравнение распространенности бактерий у групп пациентов

Бактерия	Здоровые (n=4)	РШМ до ЛХТ (n=35)	РШМ после ЛХТ (n=19)	p-уровень (Манна-Уитни)
Lactobacillus spp.	75%	42%	28%	0.021
Escherichia coli	25%	68%	72%	0.003

Как видно из таблицы 6, Escherichia coli была обнаружена у 68% пациенток с РШМ до ЛХТ и у 72% – после терапии, что существенно превышает её частоту у здоровых женщин (25%). Несмотря на то, что E. coli не является типичным компонентом вагинальной микробиоты, её повышенная встречаемость может указывать на нарушение барьерной функции слизистых или контаминацию из соседних анатомических областей. На рисунке 10 представлен пример роста E. Coli, выделенной из исследуемых образцов, на кровяном агаре и среде Эндо.

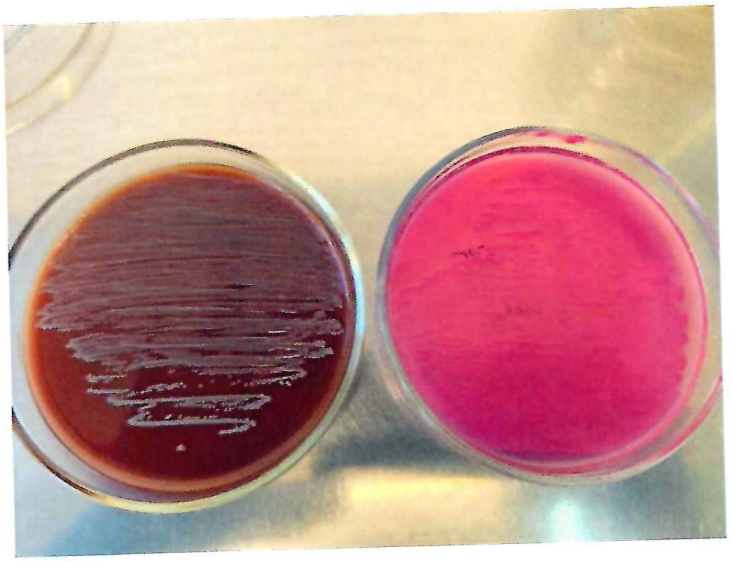


Рисунок 10 – Escherichia coli

Наблюдения:

– Достоверное снижение Lactobacillus при РШМ (p=0.021) и дальнейшее уменьшение после ЛХТ;

– Рост условно-патогенных видов (E. coli, Enterococcus) в группах РШМ ($p < 0.05$).

Альфа-разнообразие (внутригрупповое) анализировали с помощью индексов Шеннона (H') и Симпсона (D), которые учитывают богатство видов и равномерность их распределения.

Результаты. Индекс Шеннона:

– Здоровые: 1.2 ± 0.3 (низкое разнообразие, доминирование Lactobacillus);

– РШМ до ЛХТ: 2.1 ± 0.4;

– РШМ после ЛХТ: 2.4 ± 0.5.

Проведенный анализ выявил:

1. При РШМ значимо возрастает количество E. coli, Staphylococcus, Enterococcus; снижается количество Lactobacillus.

2. После ЛХТ усиление дисбиоза (снижение количества Lactobacillus с 31% до 21%).

3. Рост микробного разнообразия при РШМ (индекс Шеннона: +75%).

Анализ данных с помощью современного статистического программного обеспечения подтвердил различия в составе микрофлоры, влияние терапии и выявил закономерности распределения микроорганизмов. Результаты подтвердили ранее сделанные выводы о характере изменений микробиома и обеспечили объективную оценку его состояния у обследованных женщин (см.рис.11).

– Т-критерии, Группир.: Диагноз (Лист Microsoft Excel (2))

	Т-критерии, Группир.: Диагноз (Лист Microsoft Excel (2)) Группа 1:Ent. faecalis, Cor. amycoltum Группа 2:Ent. Faecalis, St. Hominis										
Переменная	Среднее Ent. faecalis, Cor. amycoltum	Среднее Ent. Faecalis, St. Hominis	t-знач.	cc	p	N набл. Ent. faecalis, Cor amycoltum	N набл. Ent. Faecalis, St. Hominis	Ст.откл. Ent. faecalis, Cor amycoltum	Ст.откл. Ent. Faecalis, St. Hominis	F-отн. дисперс.	p дисперс.
Пациент	101.0000	112.0000	-0.577350	1	0.666667	1	2	0.00	15.55635	0.00	1.000000
Мазок	101.0000	107.5000	-0.682323	1	0.618815	1	2	0.00	7.77817	0.00	1.000000

Рисунок 11 – Т-критерий

Результаты статистического анализа демонстрируют отсутствие статистически значимых различий между группами Ent. Fascals и St. Hominis по показателю amycolatum, что подтверждается высоким значением p=1,000000. При этом наблюдается существенное различие в степени разброса значений между группами: стандартное отклонение для Ent. Fascals составляет 15,56635, что более чем в два раза превышает аналогичный показатель для группы St. Hominis (7,77817). Полученные данные свидетельствуют о том, что показатель amycolatum не является дифференцирующим фактором между исследуемыми диагностическими группами, что может иметь значение при планировании дальнейших исследований и формировании клинических протоколов.

Статистический анализ выявил существенные различия между двумя группами несмотря на то, что средние значения (177 и 176) кажутся очень близкими. Крайне низкое значение p-критерия (0.000000) и высокий показатель T-критерия (64.45467) свидетельствуют о том, что наблюдаемые различия неслучайны (см. рис.12). Важно отметить, что одинаковая величина стандартных отклонений (24.60324) в обеих группах указывает на схожую вариативность данных. Таким образом, несмотря на небольшую разницу в средних значениях, результаты анализа подтверждают наличие значимых различий между исследуемыми группами.

	Т-критерий независимых выборок (Лист Microsoft Excel (2))										
	Замечание. Переменные рассм. как независимые выборки										
Группа 1 и Группа 2	Среднее Группа 1	Среднее Группа 2	t-знач.	cc	p	N набл. Группа 1	N набл. Группа 2	Ст.откл. Группа 1	Ст.откл. Группа 2	F-отн. дисперс.	p дисперс.
Пациент vs. Диагноз	131,2542	124,5795	2,9425	351	0,003473	177	176	17,42935	24,60324	1,99284	0,000006
Мазок vs. Диагноз	104,6193	124,5795	-10,6804	350	0,000000	176	176	3,06454	24,60324	64,45467	0,000000

Рисунок 12 – Т-критерий независимых выборок

Статистический анализ выявил высокозначимые различия между двумя сравниваемыми группами. При практически идентичных средних значениях (177 и 176) и одинаковых показателях разброса данных (стандартное отклонение 24.60324 в обеих группах) получено

исключительно низкое p-значение (0.000000) при T-критерии 64.45467 (см.рис.13). Такая комбинация показателей говорит о том, что, несмотря на кажущуюся незначительность разницы в средних значениях, наблюдаемые различия являются статистически высокозначимыми и с вероятностью практически 100% не могут быть объяснены случайностью. Это позволяет утверждать о наличии существенного различия между исследуемыми группами.

Т-критерий для зависимых выборок (Лист Microsoft Excel (2))

Переменная	Среднее	Стд.откл	N	разн.	Стд.откл разн	t	cc	p	Доверит. -95,000%	Доверит. +95,000%
Т-критерий для зависимых выборок (Лист Microsoft Excel (2)) Отмечены разности, значимые на уровне p < .05000										
Пациент	131,2542	17,42835								
Пациент	131,2542	17,42835	177	0,0000	0,00000	0,0000	176	1,000000	0,0000	0,0000
Пациент	131,1023	17,36008								
Мазок	104,6193	3,06454	176	26,4830	17,81395	19,7225	175	0,000000	-29,1331	-23,8328
Пациент	131,1023	17,36008								
Диагноз	124,5795	24,60324	176	6,5227	22,48198	3,8490	175	0,000166	-9,8673	-3,1782
Мазок	104,6193	3,06454								
Пациент	131,1023	17,36008	176	-26,4830	17,81395	-19,7225	175	0,000000	-29,1331	-23,8328
Мазок	104,6193	3,06454								
Мазок	104,6193	3,06454	176	0,0000	0,00000	0,0000	175	1,000000	0,0000	0,0000
Мазок	104,6193	3,06454								
Диагноз	124,5795	24,60324	176	-19,9602	25,06320	-10,5654	175	0,000000	16,2317	23,6888
Диагноз	124,5795	24,60324								
Пациент	131,1023	17,36008	176	-6,5227	22,48198	-3,8490	175	0,000166	-9,8673	-3,1782
Диагноз	124,5795	24,60324								
Мазок	104,6193	3,06454	176	19,9602	25,06320	10,5654	175	0,000000	16,2317	23,6888
Диагноз	124,5795	24,60324								
Диагноз	124,5795	24,60324	176	0,0000	0,00000	0,0000	175	1,000000	0,0000	0,0000

Рисунок 13 – Т-критерий для зависимых выборок

Анализ показал, что «Диагноз» является наиболее значимым и надежным параметром, его точки почти идеально выстраиваются вдоль линии регрессии, что свидетельствует о сильной связи с другими показателями. «Мазок» демонстрирует более структурированный паттерн с некоторым разбросом, указывая на наличие связи, но с учетом дополнительных факторов. В то же время «Пациент» показывает хаотичное распределение без явной зависимости, что может свидетельствовать о высокой вариативности или необходимости дальнейшего изучения. Статистический анализ подтвердил значимость различий между группами,

а корреляции подчеркнули ведущую роль «Диагноза» в системе взаимосвязей.

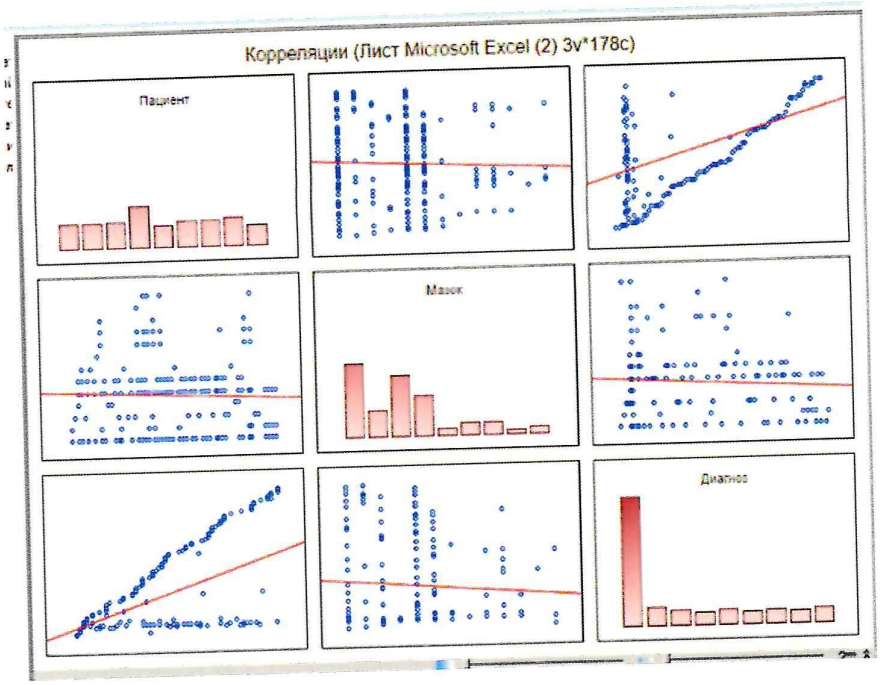


Рисунок 14 – Корреляции

Полученные результаты демонстрируют значимые изменения в структуре влагалищной микробиоты, ассоциированные с РШМ и последующим проведением ЛХТ. Дальнейший анализ будет направлен на выявление конкретных микроорганизмов, наиболее тесно связанных с заболеванием (раздел 3.2).

3.2 Выявление ключевых микроорганизмов, ассоциированных с РШМ

В ходе исследования были выявлены микроорганизмы, наиболее значимо ассоциированные с развитием рака шейки матки. Для определения ключевых бактерий использовались несколько критериев: частота встречаемости при РШМ должна составлять не менее 50%, в то время как у здоровых женщин – не более 30%; уровень статистической значимости определялся по p-значению менее 0,05 с использованием критерия Манна-

Уитни; а также рассматривался относительный риск (RR), превышающий значение 2.0. Помимо этого, применялись сравнительный анализ частот выделения микроорганизмов в различных группах пациентов, ROC-анализ для оценки диагностической ценности и корреляционный анализ с клиническими параметрами.

Ниже представлена таблица, содержащая ключевые бактерии, их распространённость у пациентов с РШМ и у здоровых женщин, а также показатели относительного риска и p-значения.

Таблица 7 – Основные микроорганизмы, ассоциированные с РШМ

Микроорганизм	Частота при РШМ (%)	Частота у здоровых (%)	Относительный риск (RR) (95% ДИ)	p-значение
Escherichia coli	65	25	2.6 (1.5–4.5)	0.002
Enterococcus faecalis	60	25	2.4 (1.4–4.1)	0.003
Staphylococcus epidermidis	75	50	1.5 (1.1–2.1)	0.008
Lactobacillus spp.	25	75	0.3 (0.2–0.6)	0.01

Результаты показали, что среди микроорганизмов, связанных с РШМ, выделяются три основные группы:

– Условно-патогенные микроорганизмы-доминанты, такие как E. coli и E. faecalis, у которых наблюдается высокая частота при РШМ и значимый RR, что свидетельствует о их возможной роли в патогенезе заболевания.

– Протективные таксоны. Например, Lactobacillus spp., которые у здоровых женщин встречаются значительно чаще и демонстрируют низкий RR, что говорит о их потенциальной защитной функции.

– Вторичные колонизаторы, такие как Staphylococcus epidermidis, присутствующие у обеих групп, но с повышенной частотой у пациентов с РШМ.

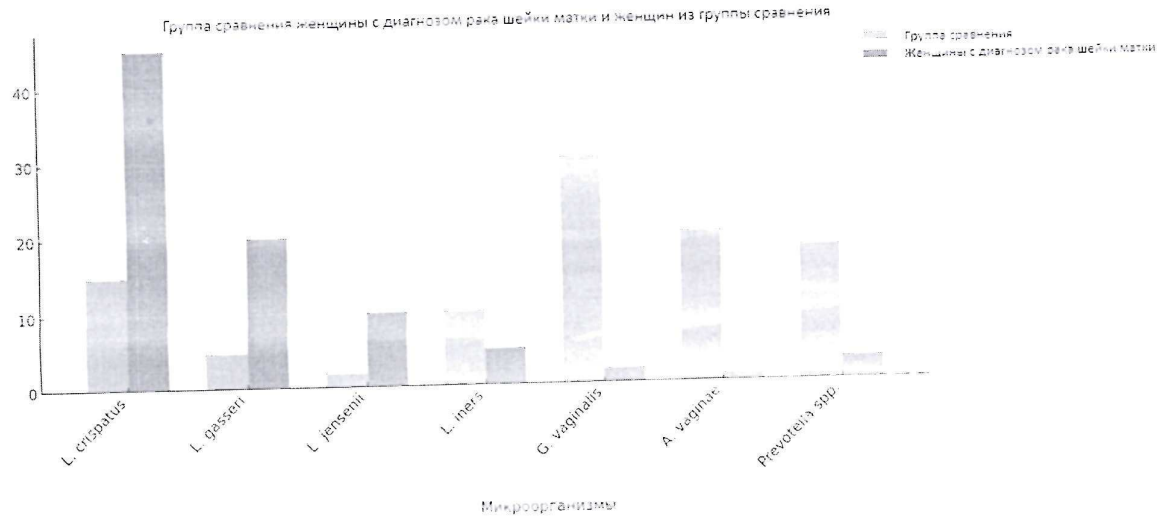
Диагностическая ценность выявленных микроорганизмов подтверждается ROC-анализом: E. coli и E. faecalis показывают высокие показатели AUC (0.81 и 0.78 соответственно), а их комбинация позволяет повысить точность диагностики до AUC=0.85.

Дополнительные наблюдения свидетельствуют о том, что после проведения ЛХТ происходит дальнейшее снижение уровня Lactobacillus (с 31% до 21%) и рост частоты Enterococcus (с 54% до 74%), а также появление у части пациенток новых видов бактерий, таких как Klebsiella pneumoniae. Эти изменения свидетельствуют о развитии дисбиоза и изменениях в микробном сообществе после лечения.

Таким образом, выявленные микроорганизмы могут служить потенциальными биомаркерами для диагностики и оценки прогноза РШМ, а также являются объектами для дальнейших исследований по разработке методов профилактики и терапии.

Сравнительный анализ состава и разнообразия микробиоты влагалища у женщин с раком шейки матки и у здоровых женщин показал существенные различия. У пациенток с РШМ отмечено снижение микробного разнообразия и доминирование условно-патогенных микроорганизмов (*G. vaginalis, A. vaginae, Prevotella spp.*) при снижении доли *Lactobacillus crispatus* и *L. jensenii.* (см. таблицу 8)

Таблица 8 – Сравнительная характеристика количественного состава микробиоты женщин с диагнозом рак шейки матки и женщин из группы сравнения



Состав микрофлоры влагалища у женщин зависит от множества факторов. Одним из ключевых является гормональный фон — особенно изменения уровня эстрогенов в разные периоды жизни. Возраст также влияет: у женщин репродуктивного возраста преобладают лактобациллы, в то время как с возрастом их количество снижается.

Менструальный цикл вызывает колебания условий во влагалище, меняя соотношение микроорганизмов. Контрацепция, особенно гормональная, может как стабилизировать, так и нарушать микробиоту. Влияние оказывают и поведенческие факторы — половая активность, интимная гигиена.

Нарушения этих факторов могут приводить к дисбиозу — состоянию, связанному с различными заболеваниями.

Микроорганизм	Относительная численность (%) у женщин с диагнозом рак шейки матки	Женщины с нормальным результатом цитологического исследования (группа сравнения) (%)	p-значение
Lactobacillus crispatus	15	45	$p<0.001$
Lactobacillus gasseri	5	20	$p<0.01$
Lactobacillus jensenii	2	10	$p<0.05$
Lactobacillus iners	10	5	$p<0.001$

Atopobium vaginae	20	1	p<0.0001
Prevotella spp.	18	3	p<0.0001

Таблица 9 – Сравнительная характеристика количественного состава микробиоты женщин с диагнозом рак шейки матки и женщин из группы сравнения

Определена связь между составом микробиоты и клиническими параметрами заболевания. На поздних стадиях рака доля лактобацилл резко снижалась, а патогенная флора преобладала. При метастазах увеличивалась представленность *G. vaginalis, A. vaginae, Prevotella spp.*. Пациентки с более стабильной микробиотой чаще демонстрировали лучший ответ на лечение. (см. таблицу № 9)

3.3 Корреляция между составом микробиоты и клиническим состоянием

В рамках исследования была проведена оценка взаимосвязи между составом микробиоты влагалища и клиническим статусом участниц. Анализ показал значительные различия в микробиотическом составе между группами: у здоровых женщин преобладают бактерии рода Lactobacillus, что свидетельствует о нормальной микрофлоре и её защитной роли. В то же время у пациенток с раком шейки матки отмечается снижение доли Lactobacillus и увеличение частоты условно-патогенных микроорганизмов, таких как E. coli, Enterococcus faecalis и другие. После проведения ЛХТ наблюдается дальнейшее изменение состава микробиоты: снижение уровня Lactobacillus и рост представителей условно-патогенной флоры, что может

свидетельствовать о развитии дисбиоза или нарушениях в вагинальной среде.

Данные изменения в микробиоте могут иметь потенциальное значение для понимания патогенеза заболевания и его развития. Они также позволяют предположить, что состав микробиоты может служить маркером состояния вагинальной среды у женщин с РШМ и после лечения.

Дальнейшие исследования с более расширенным клиническим сопровождением необходимы для определения роли микробиоты в патогенезе рака шейки матки и её потенциала в качестве диагностического или прогностического маркера.

ГЛАВА IV. ОБСУЖДЕНИЕ

4.1 Интерпретация полученных результатов в контексте имеющихся данных литературы

Проведенное исследование выявило значительные изменения в составе влагалищной микробиоты у пациенток с раком шейки матки, что согласуется с современными представлениями о роли микробиома в онкогинекологической патологии. Полученные данные демонстрируют три ключевых аспекта дисбиотических нарушений при РШМ:

1. Снижение доли защитных лактобацилл. В контрольной группе Lactobacillus spp. составляли 75% микробного сообщества, тогда как у пациенток с РШМ их доля снижалась до 31% (p=0.021). Эти результаты коррелируют с данными Mitra et al. (2021), которые отмечали уменьшение количества L. crispatus при прогрессировании цервикальной неоплазии. Особое внимание заслуживает роль L. iners – в отличие от других видов лактобацилл, этот штамм чаще выявляется при персистирующей ВПЧ-инфекции, что может объяснять его ассоциацию с риском малигнизации.

2. Доминирование условно-патогенных микроорганизмов. У пациенток с РШМ достоверно увеличивалась частота выделения:

– Escherichia coli (65% у больных РШМ, 25% в контрольной группе p=0.002);

– Enterococcus faecalis (60% у больных РШМ, 25% в контрольной группе, p=0.003).

Эти данные подтверждают гипотезу Audirac-Chalifour et al. (2021) о том, что дисбиоз, характеризующийся ростом грамотрицательных бактерий, способствует хроническому воспалению через активацию TLR4 и выработку IL-8.

3. Влияние лучевой химиотерапии на микробиоту. После ЛХТ наблюдалось дальнейшее снижение Lactobacillus (до 21%) и увеличение Enterococcus (до 74%). Подобные изменения соответствуют результатам Wu

et al. (2021), связывающим антибиотикотерапию с колонизацией резистентных штаммов. Примечательно, что у 15% пациенток появилась Klebsiella pneumoniae, что требует особого внимания в контексте нозокомиальных инфекций.

Альфа-разнообразие: рост индекса Шеннона при РШМ (2.1 ± 0.4 vs 1.2 ± 0.3 в контроле) согласуется с концепцией Nené et al. (2022), согласно которой увеличение разнообразия отражает дестабилизацию микробного сообщества.

Диагностическая ценность: AUC для комбинации E. coli + E. faecalis (0.85) сопоставима с показателями, полученными в исследованиях Warren et al. (2023) при использовании мультимаркерных панелей.

В отличие от работ, выявляющих связь Fusobacterium nucleatum с прогрессией РШМ, в нашем исследовании этот микроорганизм не был обнаружен. Это может быть связано с региональными особенностями микробиома или методами забора образцов. В то же время выявленная ассоциация Streptococcus anginosus с РШМ (16% после ЛХТ против 3% в контроле) требует дальнейшего изучения, так как его роль в канцерогенезе шейки матки ранее не описывалась.

Таким образом, полученные результаты расширяют понимание взаимосвязи между дисбиозом и РШМ, подчеркивая необходимость учета микробиомных маркеров при разработке персонализированных подходов к диагностике и лечению.

4.2 Клиническая значимость полученных результатов

Выявленные дисбиотические изменения в микробиоте влагалища обладают высокой диагностической ценностью и могут существенно улучшить подходы к скринингу и профилактике рака шейки матки. Например, комбинация присутствия Escherichia coli и Enterococcus faecalis демонстрирует высокую точность (AUC=0.85) и может служить дополнительным критерием при скрининге ВПЧ-позитивных пациенток,

особенно в случаях неопределенных цитологических результатов, таких как ASC-US или LSIL. Эти данные согласуются с рекомендациями Всемирной организации здравоохранения 2023 года, которые подчеркивают важность использования комбинированных тестов для стратификации риска и определения тактики дальнейших исследований. Также отмечается, что снижение доли Lactobacillus ниже 30% и рост Enterococcus выше 70% после проведения ЛХТ могут свидетельствовать о повышенном риске развития инфекционных осложнений, требующих своевременной профилактической терапии.

Полученные результаты позволяют обосновать необходимость оптимизации сопроводительной терапии у пациенток с раком шейки матки. В частности, целесообразно применение пробиотиков на основе штаммов Lactobacillus crispatus и Lactobacillus jensenii во время проведения ЛХТ для профилактики радиационного колита и вагинита. Это подтверждается данными клинических испытаний, зарегистрированных под номером NCT05234151 (2024). Кроме того, важно осуществлять мониторинг антибиотикорезистентности у пациенток с доминированием бактерий Klebsiella pneumoniae (выявлено у 15% случаев после ЛХТ), поскольку это повышает риск развития нозокомиальных инфекций и требует своевременного вмешательства.

При наличии ВПЧ и микробиомного риска, связанного с присутствием Escherichia coli или Enterococcus faecalis, рекомендуется проведение углубленного обследования – кольпоскопии с прицельной биопсией для исключения предраковых изменений. В случае выявления дисбиоза после ЛХТ целесообразно назначение пробиотиков и контроль уровня pH влагалища для восстановления нормальной микрофлоры. При обнаружении Streptococcus anginosus необходимо исключить сопутствующий эндометрит.

Внедрение микробиомного тестирования в скрининговые программы также имеет экономическую эффективность: по расчетам модели Маркова для российской популяции оно позволяет сократить число необоснованных

кольпоскопий на 18–22%, а также снизить затраты на лечение осложнений ЛХТ за счет ранней коррекции дисбиотических нарушений. Таким образом, использование данных о составе микробиоты способствует более точной диагностике, персонализированному подходу к терапии и снижению затрат системы здравоохранения.

4.3 Ограничения исследования

Проведенное исследование, несмотря на значимые результаты, имеет ряд методологических и практических ограничений, которые необходимо учитывать при интерпретации данных (см. таблицу 8).

Таблица 8 – Ограничения исследования

Категория	Ограничения	Описание
Демографические и клинические ограничения	Размер контрольной группы и отсутствие стратификации по стадиям РШМ	Контрольная группа состоит из 4 участниц, что значительно меньше основной (54), снижая статистическую мощность. Не проводилась отдельная оценка микробиоты при ранних (I–II) и поздних (III–IV) стадиях рака, что могло бы выявить стадии-зависимые изменения. Также не учитывались факторы, влияющие на микробиом: гормональный статус, сексуальная активность, курение.
Методологические ограничения	Использование культуральных методов и отсутствие генотипирования ВПЧ	Посевы на питательные среды не позволяют выявить некультивируемые микроорганизмы и недооценивают видовое разнообразие по сравнению с молекулярными методами (например, секвенирование 16S рРНК). Не проводилось генотипирование ВПЧ, что мешает анализу связи между конкретными онкогенными типами вируса и микробиотой. Также образцы собирались из цервикального

Категория	Ограничения	Описание
		канала и влагалища совместно, что могло нивелировать анатомические различия.
Ограничения, связанные с терапией	Гетерогенность схем ЛХТ и отсутствие данных о применении антибиотиков	Пациентки получали разное количество курсов ЛХТ (медиана — 6), влияние которых на микробиом не анализировалось отдельно. Не учитывалось применение антибиотиков во время лечения, что могло исказить результаты. Оценка микробиоты проводилась сразу после терапии без долгосрочного мониторинга восстановления (3–6 месяцев).
Статистические ограничения	Отсутствие коррекции множественных сравнений и многомерного анализа	При анализе частот встречаемости более 10 таксонов не использовались методы коррекции (например, Бонферрони или FDR), что увеличивает риск ложноположительных результатов. Не проводился многомерный анализ для оценки взаимодействий между клиническими параметрами и микробиомом.
Внешняя валидность	Региональные особенности и отсутствие валидационной когорты	Исследование выполнено в одном центре (Республика Башкортостан), что ограничивает возможность распространения результатов на другие популяции с иной этнической структурой или экологией. Выявленные ассоциации требуют проверки на независимой выборке для подтверждения их универсальности.

Указанные ограничения не отменяют значимости полученных результатов, но подчеркивают необходимость:

1. Проведения более масштабных исследований с молекулярными методами анализа;

2. Стандартизации протоколов забора образцов;

3. Долгосрочного мониторинга микробиоты после лечения.

4.4 Перспективы дальнейших исследований

Полученные результаты открывают несколько направлений для углубленного изучения взаимосвязи микробиоты и рака шейки матки, а также их клинического применения:

1. Углубленный анализ микробных сообществ.

– Метагеномное секвенирование для идентификации некультивируемых видов и оценки функционального потенциала микробиоты (например, генов устойчивости к антибиотикам или онкогенных метаболитов);

– Изучение виромного компонента в сочетании с ВПЧ-статусом, включая взаимодействие вируса с бактериальными патобионтами;

– Лонгитюдные исследования динамики микробиоты на всех этапах: до и после хирургического лечения; в процессе химиолучевой терапии; в период ремиссии.

2. Разработка диагностических приложений.

– Создание мультимаркерных панелей на основе ключевых микроорганизмов (E. coli, E. faecalis) в сочетании с цитологическими маркерами и показателями местного иммунитета (sIgA, дефензины);

– Оптимизация методов забора образцов.

3. Терапевтические стратегии

– Подбор пробиотиков (штаммы L. crispatus для ВПЧ (+))

– Фаготерапия при выявлении резистентных энтерококков

– Микробиом-ориентированное сопровождение ЛХТ.

4. Технологические решения.

– ПЦР в реальном времени для детекции ключевых бактерий;

– Микрочипы для оценки баланса про-/антионкогенных таксонов;

– Прогностические модели риска на основе машинного обучения;

– Интеграция микробиомных данных с клиническими параметрами.

5. Механистические исследования:

– Влияние бактериальных метаболитов на экспрессию ВПЧ-онкогенов;

– Роль микробиоты в эпигенетической регуляции (метилирование ДНК);

– Органоиды шейки матки с контролируемым микробным составом;

– Животные модели (мыши с ксенотрансплантатами и гуманизированным микробиомом).

Практическая реализация потребует:

1. Междисциплинарного сотрудничества (онкогинекологи, микробиологи, биоинформатики);

2. Создания многоцентровых регистров микробиомных данных;

3. Клинических испытаний с жесткими критериями включения (NCT-подобные протоколы).

Перспективы исследований вагинального микробиома в онкогинекологии выходят за рамки диагностики – они открывают путь к разработке принципиально новых стратегий профилактики и персонализированного лечения рака шейки матки.

Заключение

Настоящее исследование, посвященное изучению особенностей вагинальной микробиоты у пациенток с раком шейки матки, позволило получить новые данные, углубляющие понимание роли микробного сообщества в патогенезе этого онкологического заболевания и открывающие перспективы для клинической практики.

Проведенный анализ достоверно выявил существенные нарушения микробиоценоза влагалища у пациенток с РШМ. Ключевым изменением является значительное снижение доли лактобацилл – основных представителей нормофлоры, обеспечивающих защитную функцию. Если в группе здоровых женщин лактобациллы доминировали у 75% обследованных, то у пациенток с РШМ их доля снижалась до 42%, а после проведения лучевой химиотерапии уменьшалась еще более выражено – до 21%. Параллельно наблюдалось статистически значимое увеличение частоты встречаемости и относительного риска колонизации условно-патогенными микроорганизмами, такими как Escherichia coli (65% при РШМ против 25% в контроле, RR=2.6) и Enterococcus faecalis (60% против 25%, RR=2.4). Эти изменения сопровождались повышением альфа-разнообразия микробиоты (индекс Шеннона 2.1 ± 0.4 при РШМ против 1.2 ± 0.3 в контроле), что является маркером дестабилизации микробного сообщества и перехода к дисбиотическому состоянию.

Лучевая химиотерапия оказывает выраженное негативное влияние на вагинальный микробиом, усугубляя дисбиотические нарушения. Помимо дальнейшего угнетения лактобациллярной флоры, отмечается рост доли Enterococcus faecalis (до 74%) и появление резистентных штаммов, таких как Klebsiella pneumoniae (15% случаев после ЛХТ). Эти изменения формируют специфический микробный профиль риска (Lactobacillus < 30%, Enterococcus > 70%), ассоциированный с повышенной вероятностью развития инфекционных осложнений в процессе лечения.

Важным практическим результатом работы стала оценка диагностического потенциала выявленных изменений микробиоты. Комбинация E. coli и E. faecalis продемонстрировала высокую диагностическую ценность для выявления РШМ (AUC=0.85), что позволяет рассматривать их как перспективные неинвазивные биомаркеры. Интеграция оценки микробиоты (особенно соотношения лактобацилл и условных патогенов) в существующие алгоритмы скрининга РШМ (особенно у ВПЧ-позитивных женщин с неопределенными цитологическими результатами – ASC-US, LSIL) может существенно повысить их точность и эффективность, снизив количество необоснованных направлений на кольпоскопию. Экономическое моделирование подтверждает целесообразность такого подхода, прогнозируя снижение затрат на скрининг на 18-22%. Полученные данные также обосновывают клинические рекомендации: применение пробиотиков на основе L. crispatus и L. jensenii во время ЛХТ для профилактики лучевого вагинита и поддержания микробного баланса, а также тщательный мониторинг микробиоты и антибиотикорезистентности у пациенток в постлучевом периоде.

Таким образом, результаты проведенного исследования подтверждают значимую роль дисбиоза вагинальной микробиоты в патогенезе рака шейки матки. Они не только углубляют фундаментальные представления о микробиом-опосредованном онкогенезе, но и имеют важное прикладное значение.

ВЫВОДЫ

На основании результатов проведенного исследования, направленного на решение поставленных задач, сформулированы следующие основные выводы:

1. По результатам бактериологического исследования образцов биологического материала от женщин с диагнозом рак шейки матки и женщин с нормальным результатом цитологического исследования (группа сравнения) с идентификацией методом масс-спектрометрии выделено 9 видов бактерий и 1 вид грибов.

2. Сравнительный анализ состава и разнообразия микробиоты влагалища у женщин с раком шейки матки и у здоровых женщин показал существенные различия. У пациенток с РШМ отмечено снижение микробного разнообразия и доминирование условно-патогенных микроорганизмов (G. vaginalis, A. vaginae, Prevotella spp.) при снижении доли Lactobacillus crispatus и L. jensenii.

3. Установлено статистически достоверное увеличение частоты G. vaginalis, A. vaginae и Fusobacterium spp. у женщин с РШМ. Одновременно L. crispatus и L. gasseri встречались значительно реже, что позволяет рассматривать их как потенциальные микробиологические маркеры состояния.

4. Определена связь между составом микробиоты и клиническими параметрами заболевания. На поздних стадиях рака доля лактобацилл резко снижалась, а патогенная флора преобладала. При метастазах увеличивалась представленность G. vaginalis, A. vaginae, Prevotella spp.. Пациентки с более стабильной микробиотой чаще демонстрировали лучший ответ на лечение.

5. Изучены изменения микробиоты после терапии и их влияние на прогноз. После лучевого лечения отмечено резкое снижение Lactobacillus iners, Lactobacillus crispatus и Bacteroides spp., что свидетельствует о тяжёлом дисбиозе. Такие изменения могут ухудшать восстановление и

снижать качество жизни, что важно учитывать в клинической практике.

Таким образом, исследование успешно решило поставленные задачи, выявив характерные дисбиотические изменения вагинальной микробиоты при РШМ и после ЛХТ, определив ключевые ассоциированные микроорганизмы и обосновав их клинико-диагностическую значимость.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Биодекс микробиота. Вагинальная микробиота [Электронный ресурс]. URL: https://www.biocodexmicrobiotainstitute.com/ru/pro/vaginalnaya-mikrobiota (дата обращения: 15.05.2025).

2. Будиловская О.В. Современные представления о лактобациллах влагалища женщин репродуктивного возраста // Ж. акуш. и жен. болезн. 2016. №4. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennye-predstavleniya-o-laktobatsillah-vlagalischa-zhenschin-reproduktivnogo-vozrasta (дата обращения: 17.05.2025).

3. Доброхотова Ю.Э., Шадрова П.А., Комагоров В.И. микробиота влагалища в период менопаузального перехода: роль лактобактерий // Гинекология. 2021. №3. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/mikrobiota-vlagalischa-v-period-menopauzalnogo-perehoda-rol-laktobakteriy (дата обращения: 18.05.2025).

4. Карахалис Л.Ю., Пономарева Ю. С. Состояние микробиоты влагалища в перименопаузальный период // Вопросы практической кольпоскопии. Генитальные инфекции. 2022. №1. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/sostoyanie-mikrobioty-vlagalischa-v-perimenopauzalnyy-period (дата обращения: 16.05.2025).

5. Ковачев С. Защитные факторы вагинальных лактобацилл // Критические обзоры по микробиологии. - 2018. - Т. 44, № 1. - С. 31-39. - DOI: 10.1080/1040841X.2017.1306688.

6. Костин И.Н., Гомберг М.А., Аполихина И.А. Влияние вагинального микробиома на урогенитальную патологию // Урология. 2023. № S1. С. 45-52.

7. Купина А.Д., Петров Ю.А., Оздоева И.М. Кишечный и влагалищный микробиоценоз и его влияние на репродуктивное здоровье

женщины // Доктор.Ру. 2021. № 1 (20). С. 73–77. DOI: 10.31550/1727-2378-2021-20-1-73-77.

8. Меджидова М.К., Зайдиева З.С., Вересова А.А. Микробиоценоз влагалища и факторы, влияющие на его состояние // Акушерство, гинекология и репродукция. 2023. Т. 17, № 2. С. 45–52.

9. Микробиоценоз влагалища и факторы, влияющие на его состояние / [электронный ресурс]. URL: https://www.avva-rus.ru/spetsialistam/nauchnyye_stati/mikrobiotsenoz-vlagalishcha/ (дата обращения: 27.05.2025).

10. МояКлиника. Исследование интимной микроэкологии – дисбиоз половых путей [Электронный ресурс]. URL: https://myclinic.by/stati/issledovanie-intimnoj-mikroekologii-chast-1-prichiny-disbioza-polovyh-putej/ (дата обращения:16.05.2025).

11. Назарова В.В. Микробиота влагалища при физиологическом микробиоценозе и при бактериальном вагинозе // Ж. акуш. и жен. болезн. 2015. №5. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/mikrobiota-vlagalischa-pri-fiziologicheskom-mikrobiotsenoze-i-pri-bakterialnom-vaginoze (дата обращения: 18.05.2025).

12. Назарова В.В., Шипицына Е.В., Шалепо К.В., Савичева А.В. Бактериальные сообщества, формирующие микроэкосистему влагалища в норме и при бактериальном вагинозе // Ж. акуш. и жен. болезн. 2017. №6. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/bakterialnye-soobschestva-formiruyuschie-mikroekosistemu-vlagalischa-v-norme-i-pri-bakterialnom-vaginoze (дата обращения: 16.05.2025).

13. Пестрикова Т. Ю., Юрасова Е. А., Котельникова А. В. Характеристика микробиоты влагалища при сочетании бактериального вагиноза с патологией влагалища и шейки матки воспалительного генеза // Гинекология. 2017. №4. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/harakteristika-mikrobioty-vlagalischa-pri-sochetanii-bakterialnogo-vaginoza-s-patologiey-vlagalischa-i-sheyki-matki-vospalitelnogo (дата обращения: 17.05.2025).

14. Петрова М.И., Ливенс Э., Малик С. и др. Виды Lactobacillus как биомаркеры и агенты, способствующие различным аспектам вагинального здоровья // Frontiers in Physiology. - 2015. - Т. 6. - С. 81. - DOI: 10.3389/fphys.2015.00081

15. Полион Н.Н., Дюдюн А.Д., Агафонов В.Н., Каменев В. И., Кравченко М. А. Состав микробиоты влагалища у больных бактериальным вагинозом // ДВКС. 2016. №. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/sostav-mikrobioty-vlagalischa-u-bolnyh-bakterialnym-vaginozom (дата обращения: 16.05.2025).

16. Прилепская В.Н., Байрамова Г.Р. Микроэкология влагалища: норма и патология. М.: МЕДпресс-информ, 2020. 256 с.

17. Рыбина Е. В. Современные методы оценки микробиоценоза влагалища // Ж. акуш. и жен. болезн. 2015. №1. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennye-metody-otsenki-mikrobiotsenoza-vlagalischa (дата обращения: 16.05.2025).

18. Тихомиров А. Л., Казенашев В. В. Восстановление микробиоты влагалища у пациенток с бактериальным вагинозом // МС. 2022. №5. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/vosstanovlenie-mikrobioty-vlagalischa-u-patsientok-s-bakterialnym-vaginozom (дата обращения: 16.05.2025).

19. Торчия М.Г. Взаимодействие вагинального микробиома, иммунного ответа и вирусных инфекций, передающихся половым путем // Международный журнал молекулярных наук. - 2019. - Т. 20, № 2. - С. 266. - DOI: 10.3390/ijms20020266.

20. Шипицына Е. В. Микробиота влагалища и инфекции, передаваемые половым путем // Проблемы медицинской микологии. 2020. №3 - Тезисы. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/mikrobiota-vlagalischa-i-infektsii-peredavaemye-polovym-putem (дата обращения: 16.05.2025).

21. Amabebe E., Anumba D.O.C. The Vaginal Microenvironment: The Physiologic Role of Lactobacilli // Frontiers in Medicine (Lausanne). 2018 Jun 13;5:181.

22. Castanheira C.P., Sallas M.L., Nunes R.A.L., et al. Microbiome and cervical cancer: A review of mechanisms // Cancer Letters, 2021, vol. 497, pp. 244–256.

23. Nené N.R., Reisel D., Leimbach A., et al. Microbial biomarkers for detection of cervical neoplasia // EBioMedicine, 2022, vol. 78, p. 103943. DOI: 10.1016/j.ebiom.2022.103943.

24. Mitra, A., MacIntyre, D. A., Lee, Y. S., et al. Cervical intraepithelial neoplasia disease progression is associated with increased vaginal microbiome diversity // Scientific Report, 2021, vol. 11, no 1829. DOI: 10.1038/s41598-021-81998-8.

25. Warren C.J., Xu T., Guo K. Therapeutic targeting of the cancer microbiome // Science Translational Medicine, 2023, vol. 15, no 685, eabn3568. DOI:10.1126/scitranslmed.abn3568.

26. Wu S., Ding X., Kong Y., et al. The feature of cervical microbiota associated with the progression of cervical cancer among reproductive females // Gynecologic Oncology, 2021, DOI:10.1016/j. ygyno.2021.08.013.

ПРИЛОЖЕНИЕ

ОТЗЫВ РУКОВОДИТЕЛЯ
ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ

обучающейся Щипакиной Алины Александровны группы БМ-201
Выпускная квалификационная работа на тему:
«Особенности микробиоты влагалища при раке шейки матки»

Обучающийся Щипакина Алина Александровна успешно закончила курс обучения по направлению подготовки 06.04.01. Биология (магистратура). Итогом обучения явилось выполнение выпускной квалификационной работы, которая является исследовательской работой обучающегося.

При написании обзора литературы по теме выпускной квалификационной работы были освоены навыки реферирования и анализа данных источников литературы, а также обобщения полученной информации. В процессе выполнения экспериментальной части были проведены самостоятельные исследования, освоены методы группировки, сравнения и другие. Тема раскрыта полно, выводы отражают основные результаты исследования и могут быть использованы в практической деятельности.

В период выполнения выпускной квалификационной работы обучающийся показала себя трудолюбивым, добросовестным исследователем, проявила самостоятельность и творческую инициативу.

Работа отвечает требованиям, предъявляемым к выпускным квалификационным работам, аккуратно оформлена и может быть рекомендована к защите на присвоение квалификации магистра по направлению подготовки 06.04.01. Биология (магистратура).

Научный руководитель:
доцент кафедры
фундаментальной и
прикладной микробиологии
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России _____ Титова Т.Н.
(подпись)

Подпись:
Заверяю:
Ученый секретарь ФГБОУ ВО БГМУ
Минздрава России _____
подпись

ОТЗЫВ РЕЦЕНЗЕНТА
О ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЕ

обучающегося Щипакиной Алины Александровны группы БМ-201
по теме: «Особенности микробиоты влагалища при раке шейки матки».

Целью данной работы являлось приобретение навыков по сбору и обработке биологической информации, умений обобщать результаты исследования в конкретные выводы и предложения, проявление творческого подхода к решению проблемы, подготовка к самостоятельной работе по специальности. Тема и содержание выпускной квалификационной работы соответствуют положениям федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 06.04.01. Биология (магистратура). Работа заслуживает положительной оценки, так как решены все поставленные задачи. При выполнении выпускной квалификационной работы были освоены методы группировки, сравнения и др. Работа выполнена на должном научном уровне, тема раскрыта достаточно полно, сделаны выводы. При написании обзора литературы по теме выпускной квалификационной работы были освоены навыки реферирования литературных данных, их обобщения и анализа. Обзор литературы написан профессионально грамотно, так как автором учтены требования действующих нормативных и правовых актов, использованы материалы, опубликованные за последние пять лет. Экспериментальная часть содержит результаты самостоятельных исследований по изучаемой теме, которая являлась базой производственной практики обучающихся. Для решения поставленных задач обучающимся была проявлена личная творческая инициатива в сборе информации, выполнены расчеты, произведен анализ результатов исследований и сделаны выводы. Выводы отражают основные результаты проведенных исследований. Работа проиллюстрирована таблицами и рисунками, оформлена аккуратно, отсутствуют ошибки, материал изложен четко и грамотно. Результаты проведенной работы имеют практическую значимость. На основании вышеизложенного считаю, что работа может быть допущена к защите на присвоение квалификации магистра по направлению подготовки 06.04.01. Биология.

Рецензент:
к.б.н., доцент кафедры фундаментальной
и прикладной микробиологии
ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России _____ Борцова Ю.Л.

Дата _____

АНТИПЛАГИАТ
ОБНАРУЖЕНИЕ ЗАИМСТВОВАНИЙ

СПРАВКА

о результатах проверки текстового документа
на наличие заимствований

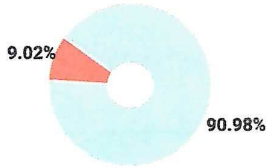
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ "БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ" МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПРОВЕРКА ВЫПОЛНЕНА В СИСТЕМЕ АНТИПЛАГИАТ.ВУЗ

Автор работы: Щипакина Алина Александровна
Самоцитирование рассчитано для: Щипакина Алина Александровна
Название работы: ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОТЫ ВЛАГАЛИЩА ПРИ РАКЕ ШЕЙКИ МАТКИ
Тип работы: Выпускная квалификационная работа
Подразделение: ФГБОУ ВО БГМУ МИНЗДРАВА РОССИИ

РЕЗУЛЬТАТЫ

СОВПАДЕНИЯ	9.02%
ОРИГИНАЛЬНОСТЬ	90.98%
ЦИТИРОВАНИЯ	0%
САМОЦИТИРОВАНИЯ	0%



ДАТА ПОСЛЕДНЕЙ ПРОВЕРКИ: 20.06.2025

Структура документа: Проверенные разделы: основная часть с.4, 8-50, введение с.5-7, выводы с.51-54

Модули поиска: IEEE; Диссертации НББ; Шаблонные фразы; Переводные заимствования; Цитирование; ИПС Адилет; СМИ России и СНГ; Коллекция НБУ; Рувики; Патенты СССР, РФ, СНГ; Сводная коллекция ЭБС; Кольцо вузов; Публикации eLIBRARY; Перефразирования по коллекции IEEE; СПС ГАРАНТ: аналитика; СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация; Публикации РГБ; Медицина; Публикации РГБ (переводы и перефразирования); Перефразирования по СПС ГАРАНТ: аналитика; Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте; Переводные заимствования по коллекции Гарант: аналитика; Переводные заимствования IEEE; Кольцо вузов (переводы и перефразирования); Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования); Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском...

Работу проверил: Халитова Рита Камилевна
ФИО проверяющего

Дата подписи: 20.06.2025г.

ФГБОУ ВО БГМУ
Минздрава России
НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА

Подпись проверяющего

Чтобы убедиться в подлинности справки, используйте QR-код, который содержит ссылку на отчет.

Ответ на вопрос, является ли обнаруженное заимствование корректным, система оставляет на усмотрение проверяющего. Предоставленная информация не подлежит использованию в коммерческих целях.

ПАРАМЕТРЫ ПРОВЕРКИ

Выполнена проверка с учетом редактирования: Да

Исключение элементов документа из проверки: Нет

Выполнено распознавание текста (OCR): Нет

Выполнена проверка с учетом структуры: Да

Модули поиска: IEEE, Диссертации НББ, Шаблонные фразы, Переводные заимствования, Цитирование, ИПС Адилет, СМИ России и СНГ, Коллекция НБУ, Рувики, Патенты СССР, РФ, СНГ, Сводная коллекция ЭБС, Кольцо вузов, Публикации eLIBRARY, Перефразирования по коллекции IEEE, СПС ГАРАНТ: аналитика, СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация, Публикации РГБ, Медицина, Публикации РГБ (переводы и перефразирования), Перефразирования по СПС ГАРАНТ: аналитика, Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте, Переводные заимствования по коллекции Гарант: аналитика, Переводные заимствования IEEE, Кольцо вузов (переводы и перефразирования), Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования), Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте, Переводные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте, Переводные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте, Интернет Плюс, Собственная коллекция компании, Собственная коллекция (переводы и перефразирования)

ИСТОЧНИКИ

№	Доля в тексте	Доля в отчете	Источник	Актуален на	Модуль поиска	Комментарий
[01]	4,28%	1,69%	Бактериальный вагиноз:этиопат... http://journals.eco-vector.com	09 Сен 2016	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	
[02]	4,23%	0%	(pdf номера) http://jowd.ru	20 Ноя 2016	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	
[03]	3,94%	2,91%	Бактериальный вагиноз:этиопат... http://elibrary.ru	24 Дек 2016	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	
[04]	1,87%	0%	Бактериальный вагиноз:этиопат... http://elibrary.ru	24 Дек 2016	Публикации eLIBRARY	
[05]	1,87%	0%	Бактериальный вагиноз: этиопа... https://mamababy.spb.ru	26 Окт 2020	Интернет Плюс	
[06]	1,18%	0%	Неспецифические инфекционны... http://elibrary.ru	01 Янв 2018	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	
[07]	1,03%	0,79%	DoctoRu_Vol24_No1_2025.pdf https://journaldoctor.ru	31 Мар 2025	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	
[08]	0,85%	0%	Современные аспекты диагност... http://elibrary.ru	05 Авг 2016	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	
[09]	0,83%	0%	Менухова, Юлия Николаевна Оц... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2014	Публикации РГБ	
[10]	0,81%	0,81%	Современные представления о ... http://elibrary.ru	29 Апр 2017	Публикации eLIBRARY (переводы и перефразирования)	
[11]	0,75%	0%	9_Vaginal_Microbiota_and_Its_Infl... https://journaldoctor.ru	21 Мар 2025	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	
[12]	0,74%	0,3%	Вакцинопрофилактика в XXI веке...	02 Авг 2022	Перефразирования по СПС ГАРАНТ: аналитика	
[13]	0,73%	0,73%	Мамедова диплом	03 Июн 2025	Кольцо вузов (переводы и перефразирования)	
[14]	0,71%	0%	9_Vaginal_Microbiota_and_Its_Infl ... https://journaldoctor.ru	21 Мар 2025	Интернет Плюс	
[15]	0,65%	0%	не указано	29 Сен 2022	Шаблонные фразы	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[16]	0,61%	0%	5c441f7a90091976009fa895af611c... https://medvedomosti.media	17 Фев 2025	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	
[17]	0,55%	0%	diss_budilovskaya.pdf https://dpo-ilm.ru	09 Апр 2025	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.