

<https://doi.org/10.34883/PI.2024.14.2.013>



Матылевич О.П.¹ ✉, Тарасов И.А.¹, Саадудинова С.М.², Гришель А.С.¹, Мавричев С.А.¹

¹ Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н.Н. Александрова, Минск, Беларусь

² Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

Влияние микробиома влагалища на персистенцию ВПЧ высокого риска и прогрессирование ВПЧ-индуцированной интраэпителиальной неоплазии шейки матки

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: концепция и дизайн исследования, сбор материала и анализ, написание статьи – Матылевич О.П.; сбор материала и анализ, обработка данных и написание статьи – Тарасов И.А.; сбор материала и анализ, обработка данных и написание статьи – Саадудинова С.М.; сбор материала и анализ – Гришель А.С.; редактирование и анализ – Мавричев С.А.
Финансирование: авторы заявляют об отсутствии специального финансирования (гранты и другие виды финансирования исследований).

Подана: 14.02.2024

Принята: 15.04.2024

Контакты: omatylevich@tut.by

Резюме

Персистенция вирусов папилломы человека высокого канцерогенного риска (ВПЧ ВКР) причинно связана с формированием цервикальной интраэпителиальной неоплазии (ЦИН) и последующим развитием рака шейки матки (РШМ). Принято считать, что преобладание того или иного микробиома вызывает элиминацию либо персистенцию имеющегося ВПЧ. В связи с этим предполагается, что микробиом влагалища ключевым образом влияет на прогрессирование ЦИН в РШМ. Анализ, собранный на основе международного опыта в изучении микробиома влагалища, позволяет предположить, что коррекция влагалищного микробиома представляет собой новую ветвь в профилактике и лечении ВПЧ-индуцированной интраэпителиальной неоплазии шейки матки.

Ключевые слова: влагалищный микробиом, типовое состояние сообщества микробиома, интраэпителиальная неоплазия шейки матки

Olga P. Matylevich¹ ✉, Ilya A. Tarasau¹, Sabina M. Saadudzinava², Aliaksandra S. Grishel¹,
Siarhei A. Mavrichiev¹

¹ N.N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus, Minsk, Belarus

² Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

The Vaginal Microbiome Influence on the Persistence of High-Risk HPV and the Progression of HPV-Induced Cervical Intraepithelial Neoplasia

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: concept and design of the study, collection of material and analysis, article writing – Olga P. Matylevich; collection of material and analysis, data processing and article writing – Ilya A. Tarasau; collection of material and analysis, data processing and article writing – Sabina M. Saadudzinava; data processing – Aliaksandra S. Grishel; editing and analysis – Siarhei A. Mavrichiev.

Funding: the authors declare no specific funding (grants or other types of research funding).

Submitted: 14.02.2024

Accepted: 15.04.2024

Contacts: omatylevich@tut.by

Abstract

High-risk carcinogenic papillomaviruses (HR HPV) persistence raises concerns about the development of cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and the subsequent development of cervical cancer (CC). It is generally accepted that the predominance of one or another microbiome causes the elimination or persistence of HPV patterns. In connection with this assumption, the vaginal microbiome has a key influence on the progression of CIN to CC. Analysis compiled from international experience in the study of the vaginal microbiome suggests that correction of the vaginal microbiome represents a new branch in the prevention and treatment of HPV-induced cervical intraepithelial neoplasia.

Keywords: vaginal microbiome, community state type, cervical intraepithelial neoplasia

■ ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время рак шейки матки (РШМ) все еще остается актуальной проблемой в системе здравоохранения многих стран мира. Являясь четвертым по распространенности злокачественным новообразованием среди женщин после рака молочной железы, РШМ – причина 604 000 новых случаев заболевания и 342 000 смертей ежегодно [1]. Многочисленные исследования установили причинную роль инфекции, вызванной вирусом папилломы человека (ВПЧ), в патогенезе инвазивного РШМ и его предшественника – цервикальной интраэпителиальной неоплазии (ЦИН). Прогрессирование предраковых поражений шейки матки, вызванное ВПЧ, зависит от генотипа вируса: типы 16 и 18 вызывают примерно 71% всех случаев РШМ во всем мире ежегодно [2]. Персистирующая ВПЧ-инфекция является предпосылкой для прогрессирования поражений высокой степени тяжести, однако считается недостаточной причиной для развития РШМ. Это подтверждается тем, что у подавляющего большинства женщин, инфицированных ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВКР),

никогда не развивается РШМ, поскольку адекватный иммунный ответ способен контролировать инфекцию и предотвратить ее прогрессирование в предраковое поражение. Факторы, ответственные за развитие у 10% инфицированных женщин РШМ, включают длительную персистенцию вируса, возраст, состояние иммунной системы, прием оральных контрацептивов, курение, а также инфекции, передающиеся половым путем [3].

Таким образом, совместно с ВПЧ действуют и другие факторы. Недавно было высказано предположение, что аномальный микробиом влагалища играет важную роль в персистенции ВПЧ и соответствующем развитии новообразований шейки матки. Под аномальным в отношении женской половой системы следует понимать увеличенное видовое разнообразие бактерий, населяющих влагалище. В отличие от кишечника и ротовой полости, разнообразие микробиома влагалища в здоровом состоянии низкое и связано с доминированием одного или нескольких видов лактобактерий. Исследования, основанные на секвенировании нового поколения, облегчили детальную характеристику здорового вагинального микробиома и показали, что существует 5 основных типовых состояний сообщества микробиома (TCCM). В TCCM I, II, III и V преобладают *Lactobacillus crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners* и *L. jensenii* соответственно, тогда как TCCM IV имеет характерно низкое количество лактобактерий и увеличенное разнообразие анаэробных бактерий, ответственных за развитие бактериального вагиноза (БВ) [4]. Бактериальный вагиноз является наиболее распространенной причиной аномальных выделений из влагалища, поражающих женщин репродуктивного возраста. Эта патология характеризуется потерей лактобактерии-доминантного микробиома и сопутствующим массивным избыточным ростом анаэробных бактерий. Непосредственно TCCM IV ответственно за развитие БВ и характеризуется лактобактерии-дефицитной микрофлорой. TCCM IV содержит гетерогенную группу, которая разделена на 2 подгруппы (TCCM IV-A и TCCM IV-B). TCCM IV-A имеет низкую долю лактобактерий и значительное содержание анаэробных бактерий, таких как *Atopobium*, *Prevotella*, *Parvimonas*, *Gardnerella*, *Megasphaera*, *Ruminococcaceae*, *Mobiluncus*, *Sneathia*, в то время как TCCM IV-B имеет более высокую долю анаэробных бактерий и отсутствие лактобактерий. Как было показано в исследовании Shannon B. et al. [5], у здоровых женщин TCCM I и V являются доминирующим микробиомом. Они также продемонстрировали, что сообщество, наиболее часто переходящее в неблагоприятное TCCM IV, было TCCM III с преобладающими в нем *L. iners*. По их данным, распространенность TCCM IV, сопровождающегося симптомами БВ, в США может достигать 29%.

Существует множество механизмов, объясняющих, каким образом лактобактерии-доминантный микробиом влияет на поддержание местного иммунитета влагалища и элиминацию ВПЧ. В то же время имеются исследования, которые не обнаружили положительной корреляции между аномальным микробиомом влагалища и развитием ЦИН либо результаты которых характеризовались низкой валидностью ($p > 0,005$).

Используемые диагностические тесты, гетерогенность исследований вызывают сомнения и указывают на субъективность систем оценки. В нашем обзоре использовался разносторонний подход как к выбору самой литературы, так и к приведенным в ней результатам.

■ ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА СОСТАВ ВЛАГАЛИЩНОГО МИКРОБИОМА

Вагинальный микробиом является динамической структурой. Считается, что женщины европеоидной и азиатской расы демонстрируют большую распространенность лактобактерии-доминантного микробиома по сравнению с темнокожими женщинами. Этот факт можно объяснить социально опосредованными практиками, применяемыми в обществе, такими как вагинальное спринцевание, встречающееся в 2 раза чаще среди темнокожих женщин по сравнению с европеоидными [4].

Женские половые гормоны также оказывают большое влияние как на структуру, так и на стабильность микробных сообществ влагалища. Материнские эстрогены, циркулирующие в крови новорожденного, обеспечивают колонизацию первоначально стерильного влагалища лактобактериями. Через 3–4 недели уровень эстрогенов снижается и происходит увеличение видового разнообразия влагалища с обогащением анаэробами и кишечными видами, сохраняющимися до полового созревания [6]. Повышенная секреция эстрогена и прогестерона, предшествующая менархе, снижает разнообразие микробиома влагалища и увеличивает относительную численность лактобактерий. Изменение видового состава микробиома также коррелирует с циклической секрецией эстрогена и прогестерона в разные фазы менструального цикла женщины. Наибольшая стабильность структуры микробиома влагалища в течение менструального цикла наблюдается во время пика эстрогена, за которым через несколько дней следует пик прогестерона. Наибольшее разнообразие и нестабильность отмечаются во время менструации, когда уровень эстрогена и прогестерона самый низкий [7]. Mitra A. et al. недавно показали, что послеродовой период, характеризующийся 100–1000-кратным снижением концентрации циркулирующих эстрогенов, связан со значительным увеличением разнообразия и богатства вагинального микробиома [8]. Механизм, с помощью которого эстрогены влияют на доминирование микробиома с преобладающими лактобактериями, по-видимому, связан с эстроген-зависимым созреванием вагинального эпителия, что приводит к накоплению в нем гликогена. Присутствующая в слизистой оболочке влагалища α -амилаза хозяина метаболизирует гликоген до простых сахаристых продуктов, таких как мальтоза, мальтотриоза и мальтотетраоза, которые, по-видимому, поддерживают колонизацию влагалища лактобактериями [9]. Метаанализ, проведенный Vodstrcil L. et al., показал, что использование как комбинированных, так и монопрогестероновых гормональных контрацептивов одинаково снижали частоту БВ, связанного с увеличением разнообразия микробиома влагалища, на 32% [10].

На состав вагинального микробиома посредством эстроген-опосредованного механизма также влияет микробиом кишечника, а именно эстроболом. Эстроболом – это совокупность кишечных бактерий и их генов, секретирующих β -глюкуронидазу и β -глюкозидазу, которые приводят к деконъюгации конъюгированных в печени эстрогенов и, следовательно, вызывают их реабсорбцию в кровообращение. Образованный эстроген аналогичным образом приводит к увеличению производства гликогена, выработке слизи и утолщению эпителия, как и было описано ранее [11].

■ МЕХАНИЗМЫ ВЛИЯНИЯ МИКРОБИОМА ВЛАГАЛИЩА НА ВПЧ-ИНДУЦИРОВАННЫЕ КЛЕТКИ ЭПИТЕЛИЯ

На сегодняшний день точно неизвестно, что является первопричиной элиминации ВПЧ. Многие исследователи считают, что именно состав влагалищного микробиома влияет на состояние местного иммунитета и определяет тот факт, произойдет ли элиминация или же, наоборот, персистенция вируса приведет к развитию ЦИН. Nicolò S. et al. предположили, что различные виды бактерий, представленные влагалищным микробиомом, по-разному влияют на трансляцию генов и соответствующую экспрессию белков онкосупрессоров в ВПЧ-зараженных клетках [12]. Исследования, проведенные *in vitro*, подтвердили, что различные виды бактерий из вагинальной микробиоты по-разному влияют на продукцию онкопротеинов E6 и E7, а также соответствующих онкосупрессоров p53 и pRb в клетках, инфицированных ВПЧ 16-го типа. В их исследовании культуру клеток SiHa, трансформированных ВПЧ 16-го типа, использовали в качестве экспериментальной модели клеток и культивировали совместно с живыми бактериальными клетками в течение 6 часов. Так, было получено, что *L. crispatus* и *L. gasseri* снижают базальную экспрессию онкогенов E6 и E7 более эффективно по сравнению *L. iners*. *P. bovia* был единственным видом анаэробных бактерий, который значительно снижал базальную экспрессию E7 онкогена. *G. vaginalis*, *M. micronuciformis* увеличили базальную экспрессию онкогена E7; количество белка гена E6 было значительно ниже только в культурах *L. crispatus*, а продукция белка гена E7 значительно снижалась в культурах с *L. crispatus* и *L. gasseri*. Неожиданно было обнаружено увеличение содержания белка гена E7 в культурах с *L. iners*. Продукция защитных белков p53 и pRb не изменилась или увеличилась в культуре с вагинальными лактобациллами, количество этих онкосупрессоров было значительно ниже в культурах с *M. micronuciformis*, что позволяет предположить, что этот вид может вызывать дерегуляцию клеточного цикла. Данное исследование показывает, что, помимо TCCM IV, TCCM II, представленное *L. iners*, также является отрицательным прогностическим фактором, влияющим на местный иммунитет влагалища.

Сомнительное влияние *L. iners* также продемонстрировало исследование Pleckaityte M. Было обнаружено, что *L. iners* вырабатывает инеролизин, который представляет собой холестерин-зависимый порообразующий цитотоксин, создающий поры в эпителии влагалища и способствующий проникновению патогенов [13]. Наибольшее количество вагинолизина, другого холестерин-зависимого цитотоксического белка, секретируется преимущественно *G. vaginalis* из TCCM IV, что может вызвать лизис клеток, разрушение тканей и способствовать развитию бактериального вагиноза [14].

Не менее важно помнить, что может происходить переход между TCCM. Во влагалище наиболее часто наблюдается переход от TCCM III к TCCM IV, т. е. от *L. iners*-доминируемого микробиома к микробиому, преобладающему при БВ. Это позволяет предположить, что *L. iners* могут быть менее способны ингибировать колонизацию строгих анаэробов типа *Atopobium*, *Prevotella* и др., вызывающих БВ, по сравнению с другими видами лактобактерий и, соответственно, могут являться отрицательным прогностическим фактором для развития БВ и персистенции ВПЧ ВКР. Исследования Romero R. et al. показывают, что *L. iners* кажутся более способными к выживанию в условиях широкого диапазона pH и в других условиях, связанных с метаболическим

стрессом, вызванных персистенцией ВПЧ [15]. Метаанализ Norenhag J. et al. также показал, что женщины с вагинальным микробиомом, не содержащим лактобациллы, или с вагинальным микробиомом, в котором доминируют *L. iners*, имели в 2–3 раза более высокие шансы на наличие ВПЧ ВКР и неоплазию шейки матки и в 3–5 раз более высокий риск наличия ВПЧ в общем, чем у женщин с вагинальным микробиомом, в котором доминируют *L. crispatus* [16]. Те же результаты подтверждаются в метаанализе Wang H. et al., где показано, что *L. crispatus*, в отличие от *L. iners*, связаны со снижением выявления ВПЧ высокого риска и дисплазии [17].

В исследовании Nicolò S. et al., проведенном *in vitro*, сообщалось, что короткоцепочечные жирные кислоты, синтезируемые бактериями, по-разному влияют на метаболизм эпителиальных клеток и выраженность воспалительной реакции [18]. Ацетат, пропионат, бутират и изовалерат чаще всего обнаруживаются во влагалищной среде. Провоспалительная уксусная кислота оказалась доминирующей короткоцепочечной жирной кислотой, продуцируемой всеми вагинальными бактериями. Было обнаружено, что все вагинальные лактобактерии продуцируют меньшее количество уксусной кислоты, чем *G. vaginalis*, ответственная за развитие БВ. С другой стороны, вагинальные лактобактерии продуцируют масляную и валериановую кислоты, обладающие противовоспалительным действием на эпителий шейки матки, в большем количестве, чем *G. vaginalis*. Также обнаружено, что супернатанты всех культур лактобактерий индуцировали значительное увеличение продукции АТФ клетками SiHa. Лизаты бактерий вагинального дисбактериоза и *L. iners* вызывали снижение жизнеспособности клеток SiHa, характеризующееся уменьшением продукции клетками АТФ, на 20–50%. Все данные свидетельствуют о том, что большинство вагинальных лактобактерий лучше всего поддерживают жизнеспособность и метаболическую активность эпителиальных клеток шейки матки, за исключением *L. iners*. Напротив, бактерии вагинального дисбактериоза продуцируют факторы, снижающие жизнеспособность эпителиальных клеток и потенциально нарушающие цервикальный барьер.

Известно, что лактобактерии синтезируют ферменты, способные расщеплять гликоген. Таким образом, в ходе самого метаболизма лактобактерий в эстрогенизированном эпителии шейки матки и влагалища образуется большое количество молочной кислоты, что существенно снижает pH. В исследовании с участием 9165 женщин из Коста-Рики было показано, что pH влагалища более 5 связан со значительным увеличением (на 10–20%) риска положительного результата ВПЧ у женщин в пременопаузе [19]. Кислая среда способствует подавлению роста патогенных видов, таких как *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* и *G. vaginalis*, обеспечивая при этом адекватную метаболическую поддержку эпителия шейки матки и влагалища. Микробиом с низким pH, наблюдаемый в лактобактерии-доминируемой среде, которому способствует молочная кислота, можно считать в целом защитным. На развитие ЦИН может дополнительно влиять химическая структура самой молекулы молочной кислоты. Молочная кислота представляет собой хиральное соединение с D- и L-изомером, причем первый преимущественно продуцируется *L. crispatus*, *L. gasseri* и *L. jensenii*. L-изомер молочной кислоты вырабатывается эпителием влагалища, *L. iners* – различными анаэробами, связанными с дисбактериозом. Таким образом, у женщин с ТССМ III и IV наблюдается более высокое соотношение L-лактата, что может привести к увеличению экспрессии индуктора металлопротеиназы внеклеточного матрикса

(ИМПВМ) и активации матричной металлопротеиназы-8 (ММП-8). Эта экспрессия может привести к изменению целостности шейки матки и способствовать проникновению ВПЧ в базальные кератиноциты, где вирус процветает [20]. Более того, ИМПВМ и ММП-8 участвуют в метастазировании рака [21]. В то же время высокие концентрации D-лактата, вырабатываемого *L. crispatus*-доминируемым микробиомом, увеличивают вязкость цервикальной слизи и усиливают ее способность улавливать вирусные частицы [22].

Биосурфактанты представляют собой еще одну группу пептидов, выделяемых бактериями, которые могут изменять поверхностное натяжение и, следовательно, бактериальную адгезию, тем самым предотвращая образование биопленок, которые связаны с чрезмерным ростом патогенных анаэробов, в частности *G. vaginalis*. В исследованиях Ojala T. et al. было показано, что *L. crispatus* выделяет эпителиальный адгезин лактобактерий – соединение, которое опосредует адгезию к слизистой оболочке кишечника и половых органов, но дополнительно ингибирует пилус-опосредованную адгезию *G. vaginalis*. У *L. iners* синтез биосурфактантов отсутствовал, что позволяет предположить причину высокой скорости перехода *L. iners*-доминируемого TCCM III в TCCM IV, доминируемое анаэробами [23].

Некоторые бактерии, ассоциированные с TCCM IV, такие как *Atopobium*, могут активировать транскрипцию провоспалительного ядерного фактора-kB, фактора некроза опухоли- α , интерлейкинов-6 и -8 и макрофагального воспалительного белка-3 α [24–26]. Таким образом, преобладание анаэробов в микробиоме влагалища приводит к активации провоспалительных цитокинов в слизистой шейки матки. *Fusobacterium*, еще одна бактерия, ассоциированная с TCCM IV, секретирует фермент сиалидазу и вызывает расщепление слизи, следовательно, предрасполагает эпителий шейки матки к вирусной инфекции [27]. Этот вид бактерий также активирует сигнальный путь *wnt*, продуцируя фактор вирулентности *fad* A. Сигнальный путь *wnt* является решающим путем выживания и пролиферации, который обнаруживается при раке шейки матки [28, 29]. Исследования Mima K. et al., изучающие кишечную микрофлору, также обнаружили, что уровни ДНК вида *F. nucleatum*, наблюдаемого в аномальном микробиоме влагалища, обратно пропорциональны количеству CD3+-Т-клеток в слизистой толстой кишки [30]. Интересно, что aberrantная функция CD3+-Т-клеток наблюдалась при рецидивах рака шейки матки в исследованиях Cheriyan T. et al. [31].

■ РЕЗУЛЬТАТЫ СОВРЕМЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследование Lee J. et al., проведенное с участием 68 монозиготных корейских близнецов, дискордантных по ВПЧ, с использованием секвенирования нового поколения показало, что ВПЧ-положительные близнецы имели TCCM IV, т. е. снижение количества лактобактерий и увеличение *F. sneathia*, в то время как их ВПЧ-отрицательные близнецы имели TCCM I, II и IV, обогащенные лактобактериями [32]. Американское исследование Brotman R. et al. подтвердило корейский опыт и показало, что обогащенный различными бактериями микробиом (TCCM IV) связан с самой медленной регрессией ВПЧ, тогда как *L. gasseri*-доминируемый микробиом (TCCM II) – с наиболее быстрыми темпами регрессии ВПЧ [33]. Такое исследование доказывает, что *L. gasseri* может использоваться в терапевтических целях для поддержания нормального состояния шейки матки и является положительным прогностическим

фактором в регрессии ВПЧ. Оно также демонстрирует, что в целом женщины с ТССМ III и ТССМ IV имеют большую вероятность быть ВПЧ-положительными (в 71 и 72% случаев соответственно), чем женщины с ТССМ I, II или V.

Изучение микробиома у женщин с подтвержденной неоплазией на фоне имеющегося ВПЧ ВКР проводилось значительно реже. Одним из таких явилось индийское исследование Mitra A. et al. [11]. Исследователи заметили связь разнообразия микробиома влагалища с тяжестью интраэпителиальной неоплазии: они обнаружили двукратное увеличение частоты вагинального микробиома ТССМ IV среди ВПЧ-положительных женщин с плоскоклеточной интраэпителиальной неоплазией низкой степени (LSIL) (21%), почти трехкратное увеличение среди женщин с плоскоклеточной интраэпителиальной неоплазией высокой степени (HSIL) (27%) и четырехкратное увеличение среди пациенток с инвазивным раком (40%) по сравнению с контрольной группой, представленной ВПЧ-отрицательными женщинами с отсутствующей неоплазией шейки матки, у которых ТССМ IV встречалось в 10% случаев. То есть нарастание тяжести ВПЧ-индуцированной ЦИН прямо пропорционально коррелировало с большей частотой разнообразного влагалищного микробиома со снижением относительной численности лактобактерий (ТССМ IV). Данное исследование также было направлено на выявление конкретных бактериальных таксонов, связанных с заболеваниями шейки матки. В группе из 169 женщин они выявили, что 3 микроорганизма, ассоциированных с БВ, – *Sneathia sanguinegens* ($p<0,01$), *Anaerococcus tetradius* ($p<0,05$) и *Peptostreptococcus anaerobius* ($p<0,05$) – были значительно более распространены в вагинальном микробиоме пациенток с HSIL, чем у пациенток с LSIL.

Исследование Audirac-Chalifour A. et al. (всего $n=32$; контрольная группа без неоплазии: $n=10$ ВПЧ-отрицательных; $n=10$ ВПЧ-положительных; ВПЧ-ассоциированные LSIL $n=4$ и РШМ $n=8$) также обнаружило значительную разницу в разнообразии влагалищного микробиома у ВПЧ-положительных женщин из группы контроля по сравнению с женщинами с плоскоклеточной интраэпителиальной неоплазией (SIL) и РШМ ($p=0,006$ и $p=0,036$ соответственно) [34]. Так, у ВПЧ-отрицательных женщин из группы контроля наблюдалась более высокая доля *L. crispatus* (46%) и меньшая – *Lactobacillus iners* (14,9%), тогда как у ВПЧ-положительных женщин из той же группы эти доли составляли 13,3 и 2,1% соответственно. Аналогично *L. crispatus* была обнаружена в меньших количествах при SIL (14,4%) и РШМ (1,3%), а количество *L. iners* снизилось до 2,1% при SIL и не было обнаружено у пациенток с РШМ. У женщин с нормальной цитологией преобладающими бактериями были *L. crispatus* и *L. iners*, тогда как для SIL – *Sneathia* spp. и для РШМ – *Fusobacterium* spp. Бактерии порядка *Fusobacteriales* обнаружены только в группах SIL и РШМ. В группе SIL *Fusobacterium* spp. продемонстрировали относительную численность 6,3%; *Sneathia* spp. – 26,6%; *Shuttleworthia satelles* – 8,7%; *Megasphaera elsdenii* – 10,4%; тогда как относительное обилие тех же микроорганизмов в группе РШМ было следующим: 14; 12,9; 0 и 2,2% соответственно. *Fusobacterium necrophorum* наблюдались только в группе РШМ (14,2%). Также обнаружены более высокие средние уровни мРНК IL-4 и TGF- β 1 в шейке матки в ТССМ, где доминировали *Fusobacterium* spp. В данном исследовании, так же как и в вышеупомянутых, было показано, что *L. crispatus* (ТССМ I) и *L. gasseri* (ТССМ II) являются наиболее частыми видами у ВПЧ-отрицательных женщин, тогда как ТССМ III и IV часто связаны с наличием инфекции ВПЧ и развитием предракового

поражения и рака. Из нового было предположено, что *L. gasseri* (TCCM II) может быть связана с наиболее быстрым темпом элиминации ВПЧ-инфекции.

Исследование Łaniewski P. et al. (всего $n=100$; контрольная группа без неоплазии ВПЧ-отрицательные: $n=20$, ВПЧ-положительные: $n=31$; LSIL: $n=12$; HSIL: $n=27$; РШМ: $n=10$) аналогичным образом показало, что у пациенток с предраковыми поражениями и раком наблюдалось снижение количества лактобактерий и увеличение уровня разнообразия влагалищного микробиома ($p<0,05$) [35]. Так, например, частота лактобактерии-доминантного микробиома (определяемая как относительная численность видов *Lactobacillus* $\geq 80\%$) была значительно снижена, тогда как частота дисбиотического нелактобактерии-доминируемого микробиома была увеличена при LSIL (67%), HSIL (56%) и РШМ (80%) по сравнению с контрольными ВПЧ-отрицательными (32%) или ВПЧ-положительными (40%) ($p=0,04$). Также определялось специфическое обогащение *Sneathia* spp., представителем типа *Fusobacteria*, в обеих группах предраковых заболеваний (LSIL и HSIL). *Sneathia* был единственным микроорганизмом, который накапливался у женщин на протяжении всего континуума канцерогенеза шейки матки. Поскольку эти данные согласуются с предыдущими сообщениями Mitra A. [11] и Audirac-Chalifour A. [34], в которых также было установлено, что этот микроорганизм связан с дисплазией шейки матки, присутствие *Sneathia* в вагинальном микробиоме может быть метагеномным маркером персистенции ВПЧ и прогрессирования ЦИН. В этом же исследовании определяли pH у 94 женщин. Примечательно, что увеличение pH влагалища ($p=0,01$) было связано с тяжестью ЦИН и тесно коррелировало с истощением количества *Lactobacillus* spp. В контрольной ВПЧ-отрицательной группе был самый низкий уровень аномального pH (55,0%). Затем процент пациенток с аномальным pH увеличился до 77,8% в контрольной ВПЧ-положительной группе и до 72,7% в группе LSIL соответственно. Самые высокие показатели аномального pH наблюдались в группах HSIL и РШМ, соответственно 92,6 и 100%, что было значительным увеличением по сравнению с контрольной ВПЧ-отрицательной группой. Интересно, что анализ pH влагалища в группах латиноамериканских и неиспаноязычных пациенток показал, что у 89,1% (41/46) латиноамериканских женщин наблюдается аномальный pH по сравнению с 68,8% (33/48) у неиспаноязычных женщин ($p=0,02$). Исследователи также определили, что для любой нелактобактерии-доминируемой среды были характерны определенные биомаркеры воспаления: провоспалительные (IL-36 γ) и хемотаксические (интерферон- γ -индуцированный белок 10, макрофагальный воспалительный белок 1 β), гемопоэтические (лиганд FLT3) и цитокины адаптивного иммунного ответа (интерлейкин-2, интерлейкин-4 и растворимый лиганд CD40) ($p<0,05$).

В исследовании Caselli E. et al. было изучено влияние микробиома влагалища на элиминацию ВПЧ у 85 женщин, которым проводилась процедура электрохирургического петлевого иссечения (ЭХПИ) [36]. Протокол исследования включал PAP-тест, кольпоскопию и тест на ВПЧ перед ЭХПИ и последующий контроль через 6 месяцев после удаления очага поражения. До процедуры петлевого иссечения 18/72 (25,0%) вагинальных микробиомов были идентифицированы как TCCM I, 4/72 (5,5%) – TCCM II, 22/72 (30,6%) – TCCM III, 23/72 (32,0%) – TCCM IV, 5/72 (6,9%) – TCCM V. В дальнейшем в исследование включили только ВПЧ-положительных женщин с LSIL и HSIL (72). Статистически значимое увеличение процента TCCM IV было обнаружено у пациенток с HSIL по сравнению с пациентками с LSIL (44% против 17%, $p<0,001$). Аналогично здесь же наблюдалось сопутствующее снижение процента TCCM I (39% в LSIL против

16% в HSIL, $p < 0,001$). В подгруппе LSIL в микробиоме по-прежнему доминировали лактобактерии, хотя и с более высоким содержанием анаэробных грамотрицательных БВ-ассоциированных бактерий. Напротив, в микробиомах HSIL наблюдалось снижение количества лактобактерий, за исключением *L. iners*, при этом сохранялось высокое содержание анаэробов. Так, происходило снижение *L. crispatus* с 70% в группе LSIL до 47% в группе HSIL. По сравнению с пациентками с LSIL в подгруппе HSIL значительно увеличилась частота *G. vaginalis* (75 против 63%) и *Atop. vaginae* (52 против 29%). Большинство пациенток успешно завершили 6-месячное наблюдение после хирургического вмешательства (66/72, 91,6%). Персистенция ВПЧ ВКР была обнаружена у 14 пациенток (21,2%), причем у 4 из них наблюдался клинический рецидив; вместо этого 78,8% пациенток были отрицательными по ВПЧ ВКР и клинических рецидивов у них не было. Более того, через 6 месяцев после ЭХПИ наблюдались значительные изменения распределения TCCM среди всех образцов по сравнению с первоначальными профилями со значительным увеличением TCCM I (37 против 25%, $p < 0,001$) и сопутствующим снижением TCCM IV (15 против 33%, $p < 0,0001$). В частности, снижение TCCM IV по сравнению с первоначальным уровнем было более выражено при HSIL (с 44 до 12%, $p < 0,001$) по сравнению с группой LSIL (с 17 до 13%, $p < 0,05$). Женщины с персистирующим ВПЧ ВКР после ЭХПИ сохраняли профиль TCCM IV. Увеличение TCCM I было выше в группе HSIL (с 16 до 29%, $p < 0,001$), чем в группе LSIL (с 39 до 45%, $p < 0,01$); TCCM III было более распространено у пациенток с HSIL по сравнению с пациентками с LSIL (47 против 29%, $p < 0,001$). Видовой анализ показал общее увеличение количества лактобактерий, в основном за счет *L. crispatus* (увеличение в 930 раз по сравнению с контрольным уровнем). Также уменьшилось количество анаэробов. Через 6 месяцев после ЭХПИ у 4 пациенток с персистирующей ВПЧ-инфекцией наблюдался рецидив LSIL или HSIL и им потребовалось дальнейшее хирургическое лечение. Таким образом, можно сделать вывод, что петлевое иссечение, убрав источник неоплазии и хронического воспаления, способствовало нормализации микрофлоры. При этом остается неясным, что непосредственно повлияло на элиминацию ВПЧ – как нормализованная микрофлора, так и удаление источника неоплазии могло способствовать исчезновению вируса. Дальнейшие исследования необходимы для изучения данного вопроса и определения первопричины элиминации ВПЧ.

Следует отметить, что во всех представленных исследованиях изучалась динамика подтипов ВПЧ исключительно высокого риска, что, хотя и наиболее клинически значимо, не отрицает важности дальнейших исследований по поводу ВПЧ низкого риска.

■ ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ

Новые подходы, такие как использование пробиотиков и трансплантация влагалищного микробиома, могут быть полезными в модуляции бактериального разнообразия влагалища и привести к регрессу поражений и повышению эффективности терапии по поводу ЦИН [37, 38].

Актуальность использования пробиотиков определяется тем фактом, что, даже снизив плотность анаэробов с помощью антибиотикотерапии, непонятно, как заселить влагалище лактобактериями. *L. iners* часто считается преобладающим видом

после антибиотикотерапии. Учитывая высокую частоту рецидивов БВ в случае *L. iners*-доминируемого микробиома, необходимо изучать возможности применения пробиотиков после/совместно со стандартным лечением по поводу интраэпителиальной неоплазии шейки матки и влагалища. Исследования *in vitro* Cha M. et al. показали, что лечение клеток SiHA, инфицированных ВПЧ 16, с помощью *Bifidobacterium teenis* значительно снизило выработку мРНК Е6 и Е7, что позволяет предположить, что этот вид может представлять собой новый терапевтический препарат для трансформированных вирусом клеток [39]; однако эффективность этого вида в качестве пробиотика еще не доказана на людях. Palma E. et al. провели рандомизированное исследование на 2 группах женщин с подтвержденной ВПЧ-инфекцией и клиническими признаками БВ, получающих помимо стандартного лечения по поводу имеющейся неоплазии дополнительную терапию лактобактериями: первая группа по короткому (3 месяца, $n=60$), вторая – по длительному (6 месяцев, $n=57$) курсу [40]. Лактобактерии вводили вагинально в виде суппозитория, содержащих 10×4 КОЕ *L. rhamnosus* BMX 54, по следующей схеме: 1 раз в день в течение 10 дней, 1 раз в 3 дня в течение 20 дней и далее 1 раз в 5 дней в течение остальных либо 2 месяцев по короткому курсу, либо 5 месяцев по длительному курсу. Медиана времени наблюдения составила 14 месяцев (диапазон 9–30 месяцев). Через 3 месяца не было статистически значимых различий между 2 группами. В конце периода исследования, т. е. по истечении 6-месячного лечения, частота нормализации влагалищного микробиома была в 2 раза выше в группе, длительно использующей *L. rhamnosus* (79,4 против 37,5%, $p=0,041$). При этом общий клиренс ВПЧ составил 11,6% ($n=7$) у пациенток с коротким протоколом лечения по сравнению с 31,2% ($n=18$) у женщин, длительно принимающих пробиотики ($p=0,044$). Несмотря на статистически значимые результаты, малый размер выборки и короткое время наблюдения представляют собой ограничения в единогласном признании результатов исследования. Однако продемонстрированный потенциальный эффект длительного вагинального применения лактобактерий в устранении аномалий шейки матки представляет большой интерес и требует дальнейших исследований в данной области.

Трансплантация влагалищного микробиома является еще одним вариантом лечения женщин с аномальным микробиомом влагалища. В настоящее время 2 клинических исследования I и II фазы в США (NCT03769688 и NCT04046900) и 1 клиническое исследование в Израиле (NCT02236429) набирают участников ($n=10$ –126) для оценки безопасности и эффективности этой процедуры у женщин с БВ. Пилотное исследование 2019 г. ($n=5$) продемонстрировало возможность использования ТВМ от здоровых доноров в качестве терапевтического средства для женщин с не поддающимся лечению антибиотиками и рецидивирующим БВ. У 4 из 5 женщин, прошедших ТВМ, была длительная ремиссия при наблюдении через 5–21 месяц после трансплантации, определяемая как выраженное улучшение симптомов и восстановление лактобактерии-доминируемого микробиома. У 1 женщины наблюдалась частичная ремиссия (отсутствие симптомов заболевания и положительная динамика лабораторных показателей). Чтобы добиться стойкого клинического ответа, повторная ТВМ потребовалась 3 из 5 женщин. Авторы не наблюдали побочных эффектов, связанных с ТВМ, однако долгосрочные его последствия остаются неизвестными. Из-за потенциальных рисков этой процедуры, таких как передача устойчивых к противомикробным препаратам микроорганизмов, передача спермы, что может привести

к непреднамеренной беременности, важно, чтобы были определены точные критерии включения/исключения образцов для трансплантации, такие как всестороннее тестирование донорских образцов, тест Уиффа, измерение pH, микроскопическая оценка и секвенирование нового поколения. Это новый подход к изучению влагалищного микробиома. Необходимы дополнительные исследования для определения эффективности или побочных эффектов трансплантации влагалищного микробиома [41].

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71:209–249.
2. IARC Working Group. Human Papillomaviruses: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. International Agency for Research on Cancer. Accessed May 2, 2021.
3. Franco E, Villa L, Sobrinho JP, et al. Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high-risk area for cervical cancer. *J Infect Dis*. 1999;180:1415–1423.
4. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011;108 (Suppl 1):4680–4687.
5. Shannon B, Yi T.J., Perusini S., Gajer P., Ma B., Humphrys M.S., Thomas-Pavanel J., Chiezza L., Janakiram P., Saunders M., et al. Association of HPV infection and clearance with cervicovaginal immunology and the vaginal microbiota. *Mucosal Immunol*. 2017;10:1310–1319. doi: 10.1038/mi.2016.129
6. Mirmonsef P, Hotton A. L., Gilbert D., Burgad D., Landay A., Weber K. M., et al. Free glycogen in vaginal fluids is associated with Lactobacillus colonization and low vaginal pH. *PLOS One*. 2014;9(7):e102467. doi: 10.1371/journal.pone.0102467
7. Hickey R.J., Zhou X., Settles M.L., Erb J., Malone K., Hansmann M.A., et al. Vaginal microbiota of adolescent girls prior to the onset of menarche resemble those of reproductive-age women. *MBio*. 2015;6:e00097–15. doi: 10.1128/mBio.00097-15
8. Mitra A., MacIntyre D.A., Marchesi J.R., Lee Y.S., Bennett P.R., Kyrgiou M. The vaginal microbiota, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: what do we know and where are we going next? *Microbiome*. 2016;4:58–15. doi: 10.1186/s40168-016-0203-0
9. Spear GT, French AL, Gilbert D, Zariffard MR, Mirmonsef P, et al. Human α -amylase present in lower-genital-tract mucosal fluid processes glycon to support vaginal colonization by Lactobacillus. *J Infect Dis*. 2014;210:1019–1028. doi: 10.1093/infdis/jiu231
10. Vodstrcil LA, Hocking JS, Law M, Walker S, Tabrizi SN, Fairley CK, Bradshaw CS. Hormonal contraception is associated with a reduced risk of bacterial vaginosis: a systematic review and meta-analysis. *PLOS One*. 2013;8:e73055. doi: 10.1371/journal.pone.0073055
11. Mitra A., MacIntyre D. A., Lee Y. S., Smith A., Marchesi J. R., Lehne B., et al. Cervical intraepithelial neoplasia disease progression is associated with increased vaginal microbiome diversity. *Sci. Rep*. 2015;5:1–11. doi: 10.1038/srep16865
12. Nicolò S, Antonelli A, Tanturli M, et al. Bacterial species from vaginal microbiota differently affect the production of the E6 and E7 oncoproteins and of p53 and p-Rb oncosuppressors in HPV16-infected cells. *Int J Mol Sci*. 2023;24(8).
13. Pleckaityte M. Cholesterol-Dependent Cytolysins Produced by Vaginal Bacteria: Certainties and Controversies. *Front Cell Infect Microbiol*. 2019;9:452. doi: 10.3389/fcimb.2019.00452
14. Nowak RG, Randis TM, Desai P, et al. Higher levels of a cytotoxic protein, vaginolysin, in lactobacillus-deficient community state types at the vaginal mucosa. *Sex Transm Dis*. 2018;45(4):e14–e17. doi: 10.1097/OLQ.0000000000000774
15. Romero R, Hassan SS, Gajer P, Tarca AL, Fadrosch DW, Nikita L, et al. The composition and stability of the vaginal microbiota of normal pregnant women is different from that of non-pregnant women. *Microbiome*. 2014;2(1):4. doi: 10.1186/2049-2618-2-4
16. Norenhag J, Du J, Olovsson M, Verstraeten H, Engstrand L, Brusselaers N. The vaginal microbiota, human papillomavirus and cervical dysplasia: a systematic review and network meta-analysis. *BJOG: an Int J Obstet Gynaecol*. 2020;127(2):171–180. doi: 10.1111/1471-0528.15854
17. Wang H, Ma Y, Li R, et al. Associations of cervicovaginal lactobacilli with high-risk human papillomavirus infection, cervical intraepithelial neoplasia, and cancer: A systematic review and meta-analysis. *J Infect Dis*. 2019;220:1243–1254. doi: 10.1093/infdis/jiz325
18. Nicolò S, Tanturli M, Mattiuz G, et al. Vaginal lactobacilli and vaginal dysbiosis-associated bacteria differently affect cervical epithelial and immune homeostasis and anti-viral defenses. *Int J Mol Sci*. 2021;22(12):6487. doi: 10.3390/ijms22126487
19. Clarke MARA, Gage JC, et al. A large, population-based study of age-related associations between vaginal pH and human papillomavirus infection. *BMC Infect Dis*. 2012;12:33. doi: 10.1186/1471-2334-12-33
20. Witkin SS, Mendes-Souares H, Linhares IM, Jayaram A, Ledger WJ, Forney LJ. Influence of vaginal bacteria and D- and L-lactic acid isomers on vaginal extracellular matrix metalloproteinase inducer: implications for protection against upper genital tract infections. *mBio*. 2013;4(4). doi: 10.1128/mBio.00460-13
21. Tang J, Wu YM, Zhao P, Yang XM, Jiang JL, Chen ZN. Overexpression of HAB18G/CD147 Promotes Invasion and Metastasis via Alpha3beta1 Integrin Mediated FAK-Paxillin and FAK-PI3K-Ca2+ Pathways. *Cell Mol Life Sci*. 2008;65(18):2933–42. doi: 10.1007/s00018-008-8315-8
22. Nunn KL, Wang YY, Harit D, Humphrys MS, Ma B, Cone R, et al. Enhanced trapping of HIV-1 by human cervicovaginal mucus is associated with Lactobacillus Crispatus-dominant microbiota. *mBio*. 2015;6(5):e01084–15. doi: 10.1128/mBio.01084-15
23. Ojala T, Kankainen M, Castro J, Cerca N, Edelman S, Westerlund-Wikstrom B, Paulin L, Holm L, Auvinen P. Comparative genomics of Lactobacillus Crispatus suggests novel mechanisms for the competitive exclusion of Gardnerella Vaginalis. *BMC Genomics*. 2014;15:1070.
24. Doerflinger S.Y., Throop A.L., Herbst-Kralovetz M.M. Bacteria in the Vaginal Microbiome Alter the Innate Immune Response and Barrier Properties of the Human Vaginal Epithelia in a Species-Specific Manner. *J. Infect. Dis*. 2014;209:1989–1999. doi: 10.1093/infdis/jiu004
25. Libby EK, Pascal KE, Mordechai E, Adelson ME, Trama JP. Atopobium vaginae triggers an innate immune response in an in vitro model of bacterial vaginosis. *Microbes Infect*. 2008;10(4):439–446. doi: 10.1016/j.micinf.2008.01.004
26. Libertucci J., Young V.B. The role of the microbiota in infectious diseases. *Nat. Microbiol*. 2019;4(1):35–45. doi: 10.1038/s41564-018-0278-4

27. Borgdorff H, Gautam R, Armstrong SD, et al. Cervicovaginal microbiome dysbiosis is associated with proteome changes related to alterations of the cervicovaginal mucosal barrier. *Mucosal Immunol.* 2016;9(3):621–633. doi: 10.1038/mi.2015.86
28. Uren A, Fallen S, Yuan H, Usubütün A, Küçükali T, Schlegel R, Toretzky JA. Activation of the canonical Wnt pathway during genital keratinocyte transformation: a model for cervical cancer progression. *Cancer Res.* 2005;65:6199–6206.
29. Garrett WS. Cancer and the microbiota. *Science.* 2015;348:80–6. doi: 10.1126/science.aaa4972
30. Mima K, Sukawa Y, Nishihara R, Qian Z. R., Yamauchi M., Inamura K., et al. *Fusobacterium nucleatum* and T cells in colorectal carcinoma. *JAMA Oncol.* 2015;1(5):653–661. doi: 10.1001/jamaoncol.2015.1377
31. Cheriyan V.T., Krishna S.M., Kumar A., Jayaprakash P.G., Balaram P. Signaling defects and functional impairment in T-cells from cervical cancer patients. *Cancer Biother. Radiopharm.* 2009;24(6):667–673. doi: 10.1089/cbr.2009.0660
32. Lee JE, Lee S, Lee H, et al. Association of the vaginal microbiota with human papillomavirus Infection in a Korean twin cohort. *PLOS One.* 2013;8(5):e63514. doi: 10.1371/journal.pone.0063514
33. Brotman R.M., et al. Interplay between the temporal dynamics of the vaginal microbiota and human papillomavirus detection. *The Journal of Infectious Diseases.* 2014;210(11):1723–1733. doi: 10.1093/infdis/jiu330
34. Audirac-Chalifour A, Torres-Poveda K, Bahena-Román M, Téllez-Sosa J, Martínez-Barnette J, Cortina-Ceballos B, et al. Cervical Microbiome and Cytokine Profile at Various Stages of Cervical Cancer: A Pilot Study. *PLOS One.* 2016;11(4):e0153274. doi: 10.1371/journal.pone.0153274
35. Łaniewski P, Ilhan ZE, Herbst-Kralovetz MM. The microbiome and gynaecological cancer development, prevention and therapy. *Nat Rev Urol.* 2020;17:232–50. doi: 10.1038/s41585-020-0286-z
36. Caselli E., D'Accolti M., Santi E., Soffritti I., Conzadori S., Mazzacane S., et al. Vaginal microbiota and cytokine microenvironment in HPV clearance/persistence in women surgically treated for cervical intraepithelial neoplasia: an observational prospective study. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2020;10:1–15. doi: 10.3389/fcimb.2020.540900
37. López-Moreno A, Aguilera M. Vaginal probiotics for reproductive health and related dysbiosis: Systematic review and meta-analysis. *J Clin Med.* 2021;10(7):1461.
38. Machado D., Castro J., Palmeira-de-Oliveira A., Martinez-de-Oliveira J., Cerca N. Bacterial Vaginosis Biofilms: Challenges to Current Therapies and Emerging Solutions. *Front. Microbiol.* 2015;6:1528. doi: 10.3389/fmicb.2015.01528
39. Cha M., Lee D., An H., Lee S., Shin S., Kwon J., Kim K., Ha N. Antiviral Activity of Bifidobacterium Adolescentis SPM1005-A on Human Papillomavirus Type 16. *BMC Med.* 2012;10:72. doi: 10.1186/1741-7015-10-72
40. Palma E, Recine N, Domenici L, Giorgini M, Pierangeli A, Panici PB. Long-term Lactobacillus rhamnosus BMX 54 application to restore a balanced vaginal ecosystem: a promising solution against HPV-infection. *BMC Infect Dis.* 2018;18(1):13. doi: 10.1186/s12879-017-2938-z
41. Lev-Sagie A, et al. Vaginal microbiome transplantation in women with intractable bacterial vaginosis. *Nat. Med.* 2019;25:1500–1504. doi: 10.1038/s41591-019-0600-6