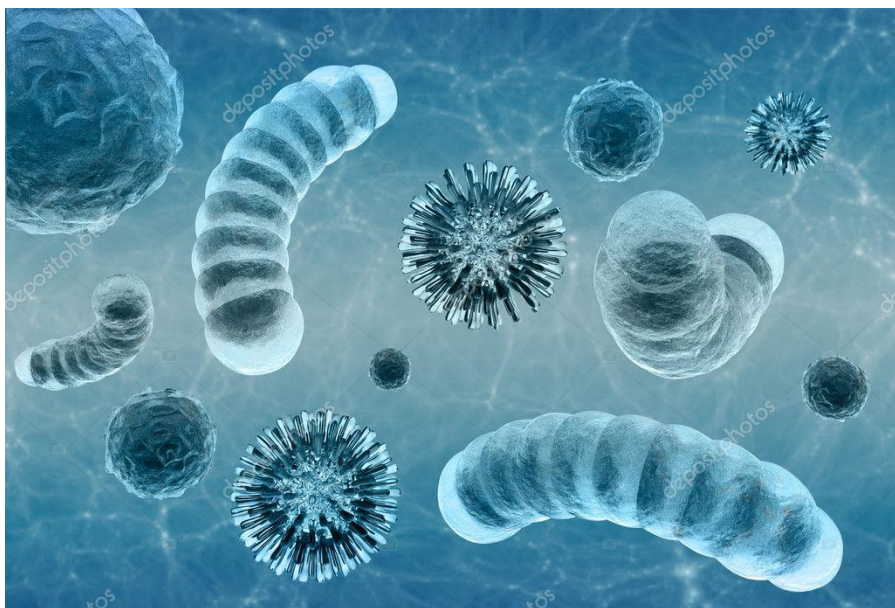


МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ
КАЗАХСТАН

НАО «ЗАПАДНО-КАЗАХСТАНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ МАРАТА ОСПАНОВА»

Нургалиева Р.Е., Калдыбаева А.Т., Жексенова А.Н.,
Балмагамбетова Ф.К., Таскожина Г.Е., Аманжолқызы А.,
Топчубаева Т.М.

ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЦЕНОЗА У ЖЕНЩИН С РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ



Актобе 2020

УДК 618.19-006.6:579.8(035.3)
ББК 55.6я73
О 75

Рецензенты:

Ижанов Е.Б.- д.м.н., руководитель Центра абдоминальной онкологии АО «Казахский научно-исследовательский институт онкологии и радиологии», г. Алматы

Уразаев О.Н. – MD PhD, доцент кафедры онкологии НАО «Западно-Казахстанский медицинский университет имени Марата Оспанова»

О 75 Особенности микробиоценоза у женщин с раком молочной железы: Монография / Р.Е. Нургалиева, А.Т. Калдыбаева, А.Н. Жексенова, Ф.К. Балмагамбетова, Ф.К. Таскожина, А. Аманжолқызы, Т.М. Топчубаева Т.М.– Актобе, 2020. – 42 с.

ISBN 978-601-7311-92-6

Настоящая монография описывает биоценоз влагалища женщин до и после приема химиотерапии при раке молочной железы (РМЖ). Проведение химиотерапии женщинам с РМЖ сопровождается нарушением биоценоза влагалищной среды. Корреляционные связи биоценоза с иммунологическими реакциями клеточного и гуморального звена рассматриваются в качестве предикторов для оценки реагирования на химиотерапию при РМЖ.

Издание монографии рекомендовано решением Ученого совета НАО «ЗКМУ им. Марата Оспанова» от 17.09.2020 г. № 1 (777)

Монография будет полезна онкологам, гинекологам, патофизиологам, микробиологам, иммунологам, широкому кругу медицинских работников, специалистам практического здравоохранения.

УДК 618.19-006.6:579.8(035.3)

ISBN 978-601-7311-92-6

ББК 55.6я73

© Калдыбаева А.Т., Нургалиева Р.Е.,
Жексенова А.Н., Балмагамбетова Ф.К. и другие,
2020

ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

В настоящем монографии применяют следующие термины с соответствующими определениями

ТНФ - больные с трижды негативным фенотипом - в данном случае, когда опухоль не содержит рецепторов стероидных гормонов (отрицательны по рецепторам эстрогенов и прогестерона), не имеет ни гиперэкспрессии Her2/neu, ни амплификации Her2/neu статуса.

ЭР, ПР, Her-2/neu, ki67 - рецепторный статус при раке молочной железы: стандартизованное иммуногистохимическое исследование. Выполняется только при наличии готового микропрепарата на предметном стекле и образца ткани в парафиновом блоке.

ОМЖ - опухоли молочной желез

РМЖ - рак молочной железы

ЗН - злокачественное новообразование

ТНМ - международный противораковый союз

СД4+ - хелперные Т лимфоциты

СД8+ - цитотоксический лимфоцит

СД20+ - В лимфоциты

ИРИ - Иммунорегуляторный индекс

АЛТ - аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

ПЦР - полимеразная цепная реакция

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	5
Основная часть.....	12
1. Состояние биоценоза влагалища у женщин с РМЖ.....	14
2. Иммунологические показатели у женщин с РМЖ.....	22
3. Связь состояния биоценоза с иммунологическими показателями	26
Заключение.....	31
Список использованных источников.....	36

ВВЕДЕНИЕ

Неуклонный рост заболеваемости раком молочной железы в мире, а также в Республике Казахстан диктует проведение и продолжение различных исследований, несмотря на то, что изучению проблемы рака молочной железы (РЖМ) посвящено много исследований. В структуре онкологической заболеваемости женщин экономически развитых стран рак молочной железы находится на первом месте, существенно опережая удельный вес других новообразований. Ежегодно в мире заболевают раком молочной железы более 2 000 000 женщин (10-18% от всех злокачественных новообразований). В Республике Казахстан ежегодно выявляется до 4 000 новых случаев этого онкологического заболевания, при этом отмечается омоложение состава женщин. РМЖ страдает наиболее трудоспособная, социально-активная и репродуктивная часть женского населения города. Поэтому актуальность проблемы определяется ростом заболеваемости раком молочной железы по всему миру, а также в странах СНГ и в нашей республике. Интерес к этой проблеме обоснован также тем, что РМЖ в структуре смертности женщин от злокачественных новообразований занимает ведущее место[1].

РМЖ — это неоднородная группа опухолей, отличающихся по морфологии, клиническому течению и чувствительности к лечению. Изучение корреляции между экспрессией генов и иммуногистохимическими маркерами в опухоли позволило выделить несколько молекулярных субтипов РМЖ. На основе иммуногистохимического исследования экспрессии клетками карциномы молочной железы рецепторов к эстрогену и прогестерону (ER и PR), а также рецептора эпидермального фактора роста 2-го типа (HER2/neu, ErbB2) РМЖ можно классифицировать на 4 молекулярных подтипа, которые отличаются между собой по прогнозу течения и чувствительностью к медикаментозной терапии [2,3].

Выделяют люминальный, HER2 2 Neu + и трижды негативный (Triplenegative) молекулярные подтипы РМЖ. К люминальным относятся опухоли, экспрессирующие рецепторы к ER и PR, и в

зависимости от экспрессии HER2/Neu их классифицируют на LuminalA (не экспрессируютHER2/Neu) и LuminalB (экспрессируютHER2/Neu). HER2 Neu + называются опухоли с гиперэкспрессией Her2/Neuи отсутствием ER и PR. Опухоли, негативные по 3 выше названным признакам, относятся к Tripplenegative РМЖ. Известно, что люминальные типы связаны с менее агрессивным течением и хорошим прогнозом по сравнению с HER2 Neu + и Tripplenegative подтипами РМЖ [4]. Tripplenegative подтип связан с высокой частотой мутации BRCA1, агрессивным течением, отсутствием реакции на химиотерапию и гормонотерапию, низкой выживаемостью [5,6].

Для определения биологических подтипов РМЖ проводится иммуногистохимическое исследование, при котором происходит определение рецепторов эстрогена и прогестерона, гиперэкспрессии HER2 или амплификации онкогена C-ERBB2 и маркера клеточной пролиферации Ki-67- показатель степени злокачественности опухоли. На основании полученных результатов выделяют люминальный А, люминальный В, HER2-позитивный и трижды негативный подтипы РМЖ.

Микробиоценоз различных частей тела человека играет важную роль в физиологии, при этом большинство микробов считаются симбионтами организма или условно-патогенными. Известно, что при различных изменениях в организме некоторые бактерии становятся патогенными для здоровья человека, в том числе организмы, связанные с раком и другими заболеваниями, характеризующимися aberrантным воспалением. Эти данные составляют основу для исследования основного микробного сообщества и микробного дисбактериоза в связи со здоровьем и болезнями, включая рак и инфекцию[2]. Нормальная микрофлора влагалища – это совокупность нормофлоры и условно – патогенной микрофлоры, обеспечивающие определенную рН – среду для оптимальной жизнедеятельности микроорганизмов и создает условия для адекватного функционирования неспецифического иммунитета влагалища [7,8].

Микробиоценоз является своеобразным чувствительным индикатором, реагирующим количественными и качественными

изменениями на любые сдвиги внешней и внутренней среды. Изменение численности того или иного вида микроорганизмов в биотопе или появление не свойственных данному месту обитания бактерий служит сигналом об адаптивных или необратимых изменениях в соответствующем звене микрoэкологической системы. Функционирование и слаженное взаимодействие всех звеньев встроенной в организм микрoэкоcистемы микрoбов обеспечивается слаженной деятельностью иммунной, эндокринной систем, отражает их функциональное состояние и зависит от факторов как внутренней, так и внешней среды. Полонка в одном из этих звеньев неизменно вызывает нарушение микрoэкологии влагалища, которое в дальнейшем может привести к развитию воспалительных процессов генитального тракта, как локальных, так и системных, что в значительной степени влияет на развитие и прогрессирование опухолей[9,10].

В Проекте «Микробиом человека» (HumanMicrobiomeProject) инициированный Национальным институтом здоровья США, исследовались 900 полных геномов микрoбов, населяющих организм 300 здоровых добровольцев. По оценкам Проекта, микрoбы наделяют организм человека еще 8 000 000 генов[11]. Кроме бактериальной флоры, присутствие и вируса папилломы человека (ВПЧ) во влагалище относится к одному из детерминантных факторов в развитии рака молочной железы (РМЖ), которые указывают, что предположительно генотипы ВПЧ 44; 45; 53;73 часто встречаемые и ассоциируемые с различной степенью дисплазии высокого онкогенного риска [12].

Химиотерапия и эндокринная терапия влияют на здоровый микробиоценоз влагалища у женщин при РМЖ, что несомненно отражается на их качестве жизни [13]. Микробиоценоз влагалища вовлечен в канцерогенез рака молочной железы [14].

Дисбактериоз изменяет иммунные и метаболические передачи сигналов и может влиять на признаки рака, включая хроническое воспаление, нарушение эпителиального барьера, изменения клеточной пролиферации и апоптоза, нестабильность генома, ангиогенез и метаболическую дисрегуляцию. Эти патофизиологические изменения могут привести к раку молочной железы. Новые данные показывают,

что генитальный дисбиоз и / или определенные бактерии могут играть активную роль в развитии и / или прогрессировании и метастазировании гинекологических злокачественных новообразований, таких как рак шейки матки, эндометрия и яичников, через прямые и косвенные механизмы, включая модуляцию метаболизма эстрогенов. Лечение рака также может изменить микробиоту на участках по всему телу. В свою очередь, состав микробиоты может влиять на эффективность и токсические эффекты лечения рака, а также на качество жизни после лечения рака [15].

Между раком и микробами существует сложная связь. Несмотря на тот факт, что рак в основном обусловлен генетическими факторами и факторами окружающей среды (например, диетой, алкоголем, курением и радиацией), около 2 миллионов новых случаев рака были вызваны инфекциями [16,17]. Как правило, бактерии могут влиять на канцерогенез четырьмя путями: путем стимуляции пролиферации / или гибели клеток ; нарушения функции иммунной системы ; воздействия на метаболизм в клетке-хозяине [18]; геномной стабильности и повреждение ДНК [19].

В онкогенез могут быть вовлечены несколько механизмов, включая факторы окружающей среды и генетические факторы. Бактерии могут влиять на развитие некоторых видов рака, поскольку бактериальные компоненты, их продукты и метаболиты взаимодействуют с чувствительными тканями. Комменсализм и дисбактериоз - важные потенциальные механизмы, участвующие в онкогенезе [20]. Микробиом может способствовать развитию рака, вызывая неконтролируемую врожденную и адаптивную иммунную систему через специфические эпителиальные рецепторы и проникая в подслизистый слой, который может опосредовать воспалительные реакции через посредников, включая цитокины и хемокины [21]. Существует взаимосвязь между воспалительными заболеваниями органов малого таза, микробиомом влагалища и бактериальным вагинозом. Двухнаправленный эффект имеет место: нарушение микробиома можно рассматривать как косвенный фактор риска рака, но и риск рака может быть снижен за счет косвенного воздействия

микробиома влагалища, модуляции местного иммунного надзора и регионального воспаления. Однако, злокачественные новообразования вызываются множественными взаимодействиями, включая гормональные и иммунные факторы. Кроме того, несколько групп рака детерминированы нарушением микробного сообщества, что называется дисбактериозом [22,23]. С этой точки зрения микробиоценоз влагалища не является исключением, и имеют место возникновение в нем дисбактериоза и развитием бактериальных вагинозов. По мнению некоторых авторов ведущую роль в развитии и течении бактериальных вагинозов играет *Atopobiumvaginae* на фоне снижения нормофлоры *Lactobacillus*spp. Виды *Atopobium* продуцируют большое количество молочной кислоты [24], что напоминает лактобациллы. *Atopobiumvaginae* (Атопобиум) – микроорганизм семейства *Coriobacteriaceae* и является грамположительной анаэробной палочкой, которая при метаболизме выделяет различные органические кислоты (молочную, уксусную, муравьиную, масляную) [25]. Вариабельная морфология клеток *Atopobiumvaginae* делает то, что этот вид может жить полностью замаскированным и, как следствие, не обнаруживаемым среди смеси других видов, присутствующих в бактериальных сообществах. Роль *Atopobiumvaginae* в развитии и течении бактериального вагиноза заключается в том, что *Atopobiumvaginae* является патогенетически значимым микроорганизмом, а также *Atopobiumvaginae* является причиной подавляющего случаев рецидивов бактериальных вагинозов при адекватной эстроген-заместительной терапии и является более специфическим маркером заболевания, чем *Gardnerellavaginalis* [26].

Иммунитет играет важную роль в иммунном надзоре за опухолями и может ограничивать развитие и рост новообразования. У пациентов с раком груди химиотерапия воздействует на лимфоциты и другие клетки иммунной системы. По оценкам, от 2 до 5% диагностированных случаев рака груди связаны с профессиональным воздействием. Воздействие на окружающую среду и определенные компоненты загрязнения воздуха, которые предположительно играют этиологическую роль в развитии рака груди, анализируются, и в

отношении этих данных все еще собираются доказательства. Рентгеновское и γ -излучение связано с достаточными доказательствами рака груди у женщин.

При многих злокачественных новообразованиях наблюдаются значительные нарушения различных звеньев иммунной системы: уменьшение числа Т-лимфоцитов и их субпопуляций, числа и функциональной активности естественных киллеров и т.д.. В противоопухолевой защите организма играют большую роль различные популяции клеток, включающие в себя как клетки эффекторы, так и клетки-супрессоры. В настоящее время большое внимания уделяется исследованию регуляторных клеток, в которой можно выделить CD4+ и CD8+ субпопуляции лимфоцитов, а также NKT-клетки [27]. Данные клетки обладают способностью угнетать развитие клеточного иммунного ответа, а также участвовать в модуляции противоопухолевого иммунитета [28; 29; 30].

Взаимодействие иммунной системы со злокачественной опухолью представляет собой тонкий баланс между процессами иммунной активации и иммунной супрессии. Двойственный характер взаимодействия иммунной системы и опухоли в настоящее время рассматривается как динамический процесс иммуноредактирования. Важную роль в иммунном ответе на опухоль играют различные популяции клеток врожденного и адаптивного иммунитета: NK-, Т-, NKT-клетки, макрофаги и дендритные клетки. Эти популяции являются гетерогенными и содержат в своем составе, как клетки с противоопухолевой активностью, так и регуляторные (супрессорные) клетки, способствующие опухолевой прогрессии [31;32;33].

Специфический клеточный ответ уrogenитальных слизистых оболочек формируется по Т-клеточному, В-гуморальному пути. Т-клеточный иммунный ответ направлен на разрушение внутриклеточных патогенов и опосредуется главным образом CD8⁺ Т-лимфоцитами, которые находятся в строме влагалища, шейки матки и матки под эпителиальным слоем, а также рассеяны между эпителиальными клетками [34;35].

Влияние иммунного статуса, эндокринных факторов, а также некоторых неопластических процессов и их сочетания на формирование дисбиоза влагалища было представлено в целой серии научных работ. Здоровье репродуктивного тракта женщины зависит от сложных механизмов регуляции и кооперации эпителия слизистой оболочки половых путей, местной микрофлоры, клеток иммунной системы и продуцируемой ими биологических активных веществ и гормональной регуляции [36;37]. В данной работе исследованы представители биоценоза влагалища в изоляции и в связи с проявлениями иммунологической системой при РМЖ.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Обследованы 278 женщин больных РМЖ, их средний возраст составил $56,7 \pm 11,1$ лет. Вошедшие в исследование женщины составили две группы наблюдения: в исследовательской группе находились пациенты - 174 (62,5%) получившие химиотерапию; в контрольную группу вошли 104 (37,4%) до применения химиотерапии. Все обследованные женщины дали информированное согласие на обследование.

Анализ качественного и количественного состава влагалищной флоры у женщин с РМЖ был определен методом ПЦР с использованием набора реагентов «Фемофлор». У женщин забор материала производился из заднего свода влагалища. Забор производился универсальным зондом, рабочая часть которого, содержащая исследуемый материал, отрезалась или обламывалась и помещалась в одноразовую пробирку типа Eppendorf с консервирующим раствором (транспортной средой). Эти пробирки в последующем доставлялись в ПЦР лабораторию научно-практического центра (НПЦ) Западно-Казахстанского медицинского университета имени Марата Оспанова, где методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на основе амплификации ДНК осуществляли качественную и количественную оценку микрофлоры влагалища. Содержание микроорганизмов выражали в виде десятичного логарифма абсолютного количества ДНК.

Иммунологические методы исследования включали определение субпопуляций лимфоцитов по уровню экспрессии мембранных антигенов лимфоцитов с использованием набора моноклональных антител специфичных к дифференцировочным антигенам (CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25, CD95). Анализ образцов проводили на проточном цитофлуориметре FACS Calibur (Becton Dickinson, USA) в программе CellQuest. Программное обеспечение CellQuest проточного цитофлуориметра FACS Calibur позволяет проанализировать до 50000 клеток в одном образце одновременно по нескольким параметрам: прямое светорассеяние (FSC), боковое светорассеяние (SSC), а

многоцветная флуоресценция - проводить многопараметровый анализ клеточных популяций [38;39].

Результаты обработаны с помощью лицензионной программы Statistica 10,0. Использовались методы описательной статистики с вычислением центральных тенденций и их размаха для количественных переменных. Результаты выражали в виде медианы и верхнего и нижнего квартиля. Для сравнения исследуемых групп по количественным переменным применяли непараметрический критерий Спирмена для независимых выборок и для оценки связи между порядковыми и количественными признаками. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

1 Состояние биоценоза влагалища у женщин с РМЖ

Результаты биоценоза влагалища в подтипе LuminalA-представитель нормофлоры: *Lactobacillus* spp. – $10^{5.7}[10^{4.4}-10^{6.5}]$ – ниже нормы, что указывает на дисбиоз. Представители факультативно - анаэробной флоры: *Enterobacterium* spp. $10^{3.9}[10^{3.3}-10^{4.9}]$, *Streptococcus* spp. – $10^{3.6}[10^{2.8}-10^{4.5}]$, *Staphylococcus* spp. – $10^{3.3}[10^{3.1}-10^{3.9}]$ – соответствуют норме. Представители облигатно-анаэробной флоры: *Sneathia* spp. – $10^{3.9}[10^{3.6}-10^{5.1}]$, *Mobyluncus* spp. – $10^{3.8}[10^{3.3}-10^{4.4}]$, *Megasphaera* spp. – $10^{3.5}[10^{3.1}-10^{4.7}]$, *Atopobium vaginae* – $10^{3.3}[10^{2.2}-10^{4.9}]$ – соответствуют норме, а другие представители этой же флоры: *Gardnerella vaginalis* – $10^{4.6}[10^{3.5}-10^{5.6}]$, *Eubacterium* spp. – $10^{4.7}[10^{3.6}-10^{5.6}]$, *Lachnobacterium* spp. – $10^{4.1}[10^{3.2}-10^{5.1}]$, *Peptostreptococcus* spp. – $10^{4.5}[10^{3.6}-10^{5.7}]$ – повышены, что указывает на наличие бактериального вагиноза (анаэробного дисбиоза). Представитель дрожжевых грибов: *Candida* spp. – $10^{3.4}[10^{2.4}-10^{4.7}]$ выше нормального уровня, что указывает на вагинальный кандидоз. Представители микоплазм: *Mycoplasma hominis* – $10^{3.3}[10^{2.4}-10^{4.7}]$, *Mycoplasma genitalium* – $10^{3.4}[10^{2.1}-10^{4.2}]$, *Ureaplasma (urealyticum + parvum)* – $10^{3.6}[10^{2.6}-10^{4.7}]$ – имели повышенные показатели, что свидетельствует о наличии микоплазмозов, уреоплазмозов, неспецифического вагинита и уретрита.

В подтипе LuminalB - *Lactobacillus* spp. – $10^{5.0}[10^{3.8}-10^{6.7}]$ – ниже нормального значения. *Enterobacterium* spp. $10^{4.9}[10^{3.6}-10^{6.1}]$ -, наоборот, повышен; *Gardnerella vaginalis* – $10^{4.1}[10^{3.4}-10^{5.1}]$ и *Eubacterium* spp. – $10^{4.3}[10^{3.4}-10^{5.6}]$ – повышены незначительно. В этой группе *Mycoplasma hominis* – $10^{3.4}[10^{2.5}-10^{4.4}]$, *Mycoplasma genitalium* – $10^{3.5}[10^{2.1}-10^{4.7}]$, *Ureaplasma* – $10^{3.7}[10^{2.5}-10^{4.3}]$ – имели повышенные значения.

В подтипе Her 2 Neu + картина биоценоза такова: *Lactobacillus* spp. – $10^{4.2}[10^{3.5}-10^{6.4}]$ – значительно ниже нормы. *Megasphaera* spp. – $10^{4.3}[10^{3.1}-10^{5.1}]$, *Lachnobacterium* spp. – $10^{4.3}[10^{3.3}-10^{5.2}]$, *Mobyluncus* spp. – $10^{4.2}[10^{3.9}-10^{4.7}]$, *Gardnerella vaginalis* – $10^{4.1}[10^{3.5}-10^{5.2}]$, *Eubacterium* spp. – $10^{4.1}[10^{2.8}-10^{5.3}]$ – незначительно повышены, а *Peptostreptococcus* spp. – $10^{5.6}[10^{5.3}-10^{6.4}]$ – значительно повышен.

Candidaspp. – $10^{3,3}[10^{3,1}-10^{3,6}]$, Mycoplasmahominis – $10^{3,1}[10^{1,8}-10^{3,5}]$, Ureaplasma- $10^{3,6}[10^{3,2}-10^{4,4}]$ – незначительно повышены.

В подтипе Tripplenegative – нормофлора снижена по Lactobacillus spp. – $10^{5,3}[10^{4,7}-10^{6,9}]$. Gardnerellavaginalis – $10^{5,2}[10^{3,5}-10^{6,4}]$ – значительно повышен. Eubacterium spp. – $10^{4,1}[10^{3,2}-10^{5,4}]$, Lachnobacterium spp. – $10^{4,4}[10^{3,5}-10^{5,6}]$ – незначительно повышены. Candidaspp. – $10^{3,4}[10^{2,4}-10^{3,9}]$, Mycoplasmahominis – $10^{3,8}[10^{3,2}-10^{6,1}]$, Mycoplasmagenitalium – $10^{3,3}[10^{2,1}-10^{5,4}]$, Ureaplasma – $10^{3,8}[10^{3,3}-10^{4,8}]$ – по аналогии.

Во всех четырех подтипах РМЖ наблюдается выраженный дисбиоз, обусловленный угнетением Lactobacillus spp., которой принадлежит главная роль в создании нормальной флоры во влагалище. Среди большого количества бактерий в женском репродуктивном тракте главная роль в создании нормальной флоры во влагалище принадлежит Lactobacillus spp. [40]. В выполненном настоящем исследовании, несмотря на значительное снижение общего количества Lactobacillus spp., у пациенток с разными подтипами РМЖ не наблюдалось статистически значимых изменений количества микроорганизмов к общей бактериальной массе. При этом Lactobacillus spp. несомненно являются лидирующими представителями, обеспечивающие постоянство количественного и видового состава вагинальной микрофлоры.

Для сравнения исследуемых групп по количественным переменным применяли множественные сравнения переменных по критерию Краскела – Уоллиса, для углубленного сравнения межгрупповых соотношении было произведено при помощи F-критерия Фишера со значимостью $p \leq 0,05$.

По результатам сравнительного анализа среди представителей биоценоза влагалища превалирует представитель облигатно-анаэробной флоры Peptostreptococcus spp. между подтипами Luminal A и Luminal B ($p=0,02$); Luminal B и Her 2 Neu + ($p=0,01$); обнаружено различие, свидетельствующее о благоприятных исходах угнетения среднего значения логарифма отношения определяемого микроорганизма, в том числе в пограничном исходном состоянии

достигнуто максимальное увеличение по отношению к величине общей бактериальной массы, рисунок 1.

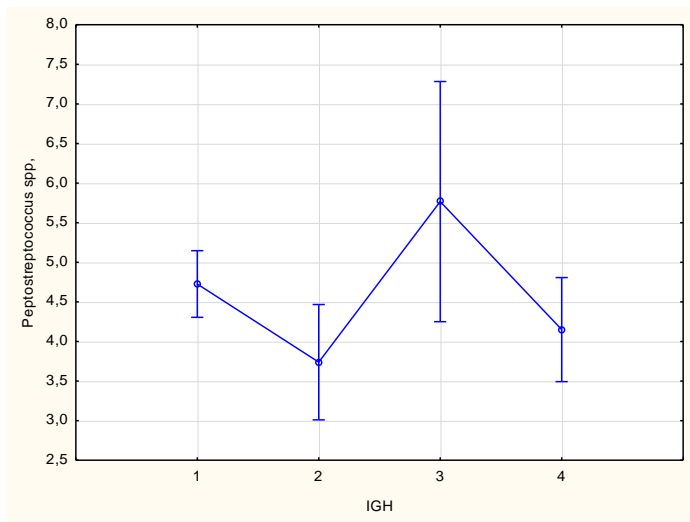


Рисунок 1 Наличие Peptostreptococcus spp. в 4х подтипах РМЖ

Примечание:

1 подтип LuminalA (не экспрессируют HER2/Neu);

2 подтип LuminalB (экспрессируют HER2/Neu);

3 подтип HER2 Neu + (с суперэкспрессией Her2/Neu)

4 подтип Triplenegative (отсутствие ER и PR)

Представитель той же группы облигатно-анаэробной флоры *Lachnobacterium* spp. между подтипами Luminal B и Triplenegative ($p=0,01$) в пограничных зонах между благоприятным и неблагоприятными исходами указывает на значимое повышение логарифма отношения микроорганизма *Lachnobacterium* spp., который чувствителен к снижению неспецифического иммунитета, рисунок 2.

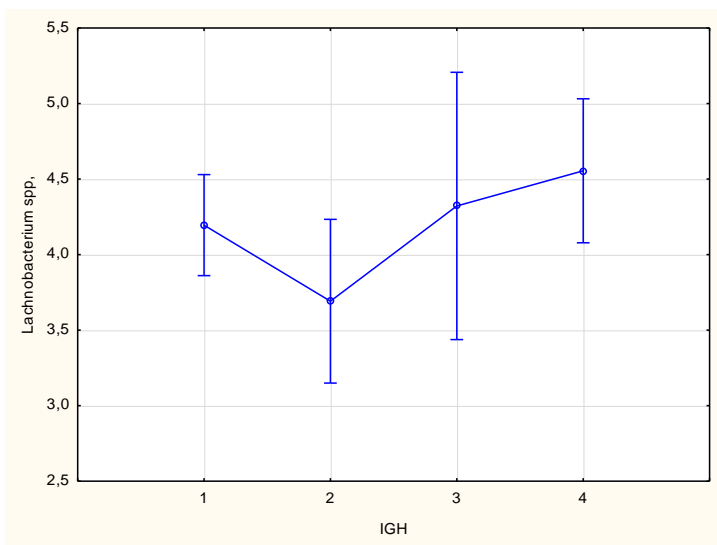


Рисунок 2 Наличие Lachnobacterium spp. в 4х подтипах РМЖ

Примечание:

1 подтип LuminalA (не экспрессируют HER2/Neu);

2 подтип LuminalB (экспрессируют HER2/Neu);

3 подтип HER2 Neu + (с гиперэкспрессией Her2/Neu)

4 подтип Triplenegative (отсутствует ER и PR)

Следующий сравнительный анализ выявил, что представитель факультативно-анаэробной флоры Staphylococcus spp. в неблагоприятных исходах между подтипами Her 2 Neu + и Triplenegative ($p=0,02$) и это свидетельствует о подтипе Triplenegative возрастание среднего значения логарифма отношения определяемого микроорганизма при значимом различии, рисунок 3 .

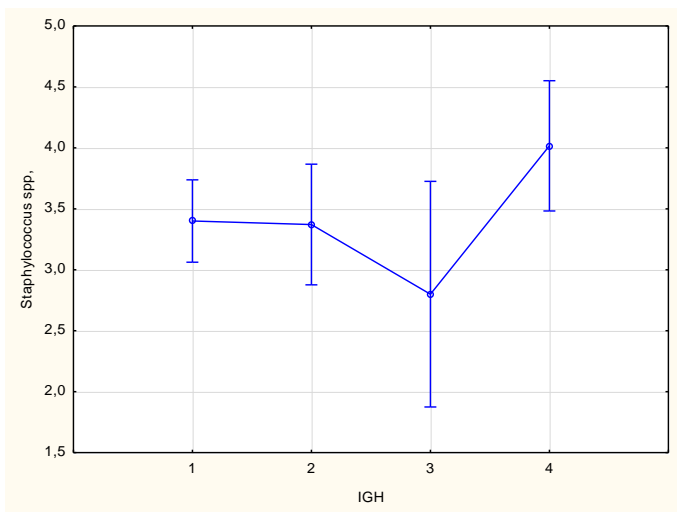


Рисунок 3 Наличие Staphylococcuspp. в 4х подтипах РМЖ

Примечание:

1 подтип LuminalA (не экспрессируютHER2/Neu);

2 подтип LuminalB (экспрессируютHER2/Neu);

3 подтип HER2 Neu + (с гиперэкспрессиейHer2/Neu)

4 подтип Tripleneegative(отсутствие ER и PR)

Среди всех представителей групп Микоплазм, именно *Mycoplasma genitalium* в подтипах Her 2 Neu + и Tripleneegative ($p=0,04$) демонстрирует выше изложенные результаты, которые были представлены по *Staphylococcuspp.*, рисунок 4.

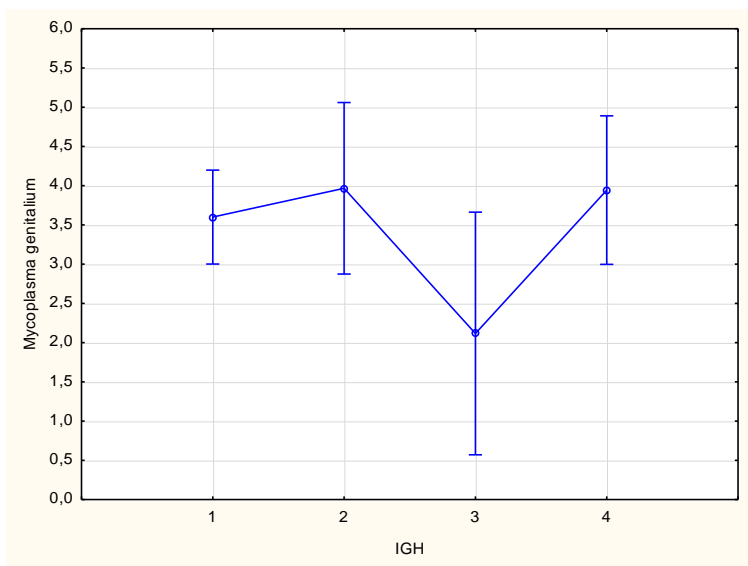


Рисунок 4 Наличие Mycoplasmagenitalium в 4х подтипах РМЖ

Примечание:

1 подтип LuminalA (не экспрессируютHER2/Neu);

2 подтип LuminalB (экспрессируютHER2/Neu);

3 подтип HER2 Neu + (с гиперэкспрессиейHer2/Neu)

4 подтип Triplenegative(отсутствует ER и PR)

Преобладающим представителем нормофлоры является *Lactobacillus* spp., который в основной и контрольной группе снижен на фоне снижения общей бактериальной массы, их биоценоз рассматривается как умеренный дисбиоз. У женщин больных РМЖ в обеих группах имеются особенности микрофлоры влагалища, характеризующиеся увеличением относительного содержания видов *Gardnerella vaginalis*, *Peptostreptococcus* spp., *Candida* spp., *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma*. Сравнении основной и контрольной групп по другим видам выявляет увеличение *Enterobacterium* spp., *Lachnobacterium* spp., *Mycoplasma genitalium* в основной группе, указывающие на наличие у них бактериальных вагинозов, вагинальных кандидозов, микоплазмозов. Можно иметь предположение, что эти

изменения у женщин с РМЖ обусловлены агрессивным влиянием химиотерапии на микрофлору влагалища.

Среди большого количества бактерий в женском репродуктивном тракте главная роль в создании нормальной флоры во влагалище принадлежит *Lactobacillus* spp. [41]. Она подкисляет влагалище молочной кислотой и играет роль в снижении числа вагинальных бактерий. В настоящем исследовании не смотря на значительное снижение общего количества *Lactobacillus* spp. у пациенток между двумя группами РМЖ не наблюдалось достоверных значимых изменений количества микроорганизмов к общей бактериальной массе (таблица 1).

Таблица 1.

Содержание микроорганизмов влагалища у женщин исследуемых групп

Виды бактерий, Ig[N/ОБМ]	Основная группа (n=174)	Контрольная группа (n=104)	p - уровень
Общая бактериальная масса	$10^{6,5}$ [$10^{4,8}$ - $10^{6,7}$]	$10^{7,8}$ [$10^{4,9}$ - $10^{6,8}$]	0,004
	Me – медиана, 25% - нижний квартиль, 75%- верхний квартиль		
<i>Lactobacillus</i> spp.	$10^{5,7}$ [$10^{4,5}$ - $10^{6,7}$]	$10^{5,1}$ [$10^{3,9}$ - $10^{6,2}$]	0,009
<i>Enterobacterium</i> spp.	$10^{3,8}$ [$10^{3,1}$ - $10^{4,6}$]	$10^{4,6}$ [$10^{2,8}$ - $10^{5,1}$]	0,006
<i>Streptococcus</i> spp.	$10^{3,6}$ [$10^{2,8}$ - $10^{4,3}$]	$10^{3,8}$ [$10^{3,1}$ - $10^{4,7}$]	0,003
<i>Staphylococcus</i> spp.	$10^{3,4}$ [$10^{2,9}$ - $10^{3,8}$]	$10^{3,5}$ [$10^{3,2}$ - $10^{3,9}$]	0,005
<i>Sneathiasp.</i>	$10^{3,9}$ [$10^{3,3}$ - $10^{5,2}$]	$10^{3,8}$ [$10^{3,1}$ - $10^{4,1}$]	0,002
<i>Mobylyncussp.</i>	$10^{3,8}$ [$10^{3,3}$ - $10^{4,4}$]	$10^{3,8}$ [$10^{3,4}$ - $10^{4,3}$]	0,009
<i>Megasphaera</i> spp.	$10^{3,8}$ [$10^{3,4}$ - $10^{5,3}$]	$10^{3,5}$ [$10^{3,1}$ - $10^{4,9}$]	0,004
<i>Atopobiumvaginae</i>	$10^{4,0}$ [$10^{2,9}$ - $10^{5,6}$]	$10^{3,1}$ [$10^{2,1}$ - $10^{4,1}$]	0,006*
<i>Gardnerellavaginalis</i>	$10^{4,7}$ [$10^{3,5}$ - $10^{6,0}$]	$10^{4,2}$ [$10^{3,4}$ - $10^{5,5}$]	0,002
<i>Eubacterium</i> spp.	$10^{4,7}$ [$10^{3,4}$ - $10^{5,4}$]	$10^{4,6}$ [$10^{3,3}$ - $10^{5,3}$]	0,004
<i>Lachnobacterium</i> spp.	$10^{4,1}$ [$10^{3,3}$ - $10^{5,1}$]	$10^{3,9}$ [$10^{3,2}$ - $10^{5,2}$]	0,007
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	$10^{4,2}$ [$10^{3,4}$ - $10^{5,5}$]	$10^{4,1}$ [$10^{3,1}$ - $10^{5,6}$]	0,004

Candidasp.	$10^{3,4} [10^{2,2} - 10^{4,7}]$	$10^{3,6} [10^{2,8} - 10^{4,2}]$	0,006
Mycoplasmahominis	$10^{3,3} [10^{2,5} - 10^{4,8}]$	$10^{3,6} [10^{2,8} - 10^{3,9}]$	0,007
Mycoplasmagenitalium	$10^{3,3} [10^{2,1} - 10^{4,9}]$	$10^{2,5} [10^{2,1} - 10^{4,2}]$	0,004
Ureaplasma (urealyticum + parvum)	$10^{3,6} [10^{2,6} - 10^{4,4}]$	$10^{3,8} [10^{2,8} - 10^{4,7}]$	0,004

**Примечание: lg [N/ОБМ] – логарифм отношения количества микроорганизма к общей бактериальной массе.*

Наличие изолированных лабораторных признаков бактериального вагиноза свидетельствует о существовании повышенного риска возникновения очередного эпизода заболевания [42]. Как показано на рисунке 5 представитель облигатно-анаэробной флоры *Atopobiumvaginae* в основной группе был значительно выше, чем у женщин контрольной группы. Статистически значимое различие данной характеристики у женщин до и после лечения химиопрепаратами, свидетельствует о предопреляющей роли микроорганизмов влагалища в создании микробиоценоза, рисунок 5.

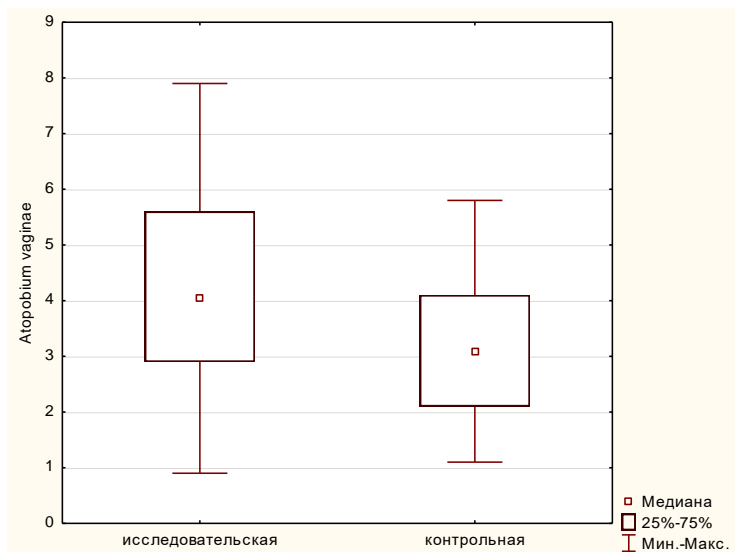


Рисунок 5. Диаграмма размаха *Atopobiumvaginae* между исследовательской и контрольной группами.

2 Иммунологические показатели у женщин с РМЖ

Путем проточной цитометрии проведена оценка клеточного звена иммунной системы, которая не выявила значимых различий в содержании Т-цитотоксических клеток (CD4-CD8) у пациентов, получавших химиотерапию и субъектов без химиотерапии. Данные по CD3 + HLA-DR + (активированные Е-лимфоциты) и Т-лимфоциты были значительно снижены у пациентов до химиотерапии ($M 5,9 \pm 6,9$). Иммуноферментный анализ указал у пациентов после адъювантной терапии на значительное снижение уровня IgG по сравнению с неадъювантной химиотерапией. Существенной разницы в IgA и IgM между пациентами, получавшими химиотерапию и не получавшими химиотерапию, не получено. Однако у пациентов, получавших химиотерапию, было значительное увеличение Т-лимфоцитов (CD3-CD19), тогда как без химиотерапии имели значительно сниженное количество (CD3-CD19) Т-клеток. Заметное различие наблюдалось по В-лимфоцитам (CD3-CD19) у пациентов с химиотерапией и без химиотерапии: $7,8 \pm 5,4$ против $11,0 \pm 5,1$. Пациенты с раком груди без химиотерапии продемонстрировали повышенные уровни NK-клеток по сравнению с пациентами, получавшими химиотерапию. Дальнейший анализ увеличенной субпопуляции Т-клеток показал, что значимое увеличение количества Т-хелперов наблюдалось у пациентов, получавших химиотерапию, по сравнению с пациентами без химиотерапии (рисунок 6,7,8,9).

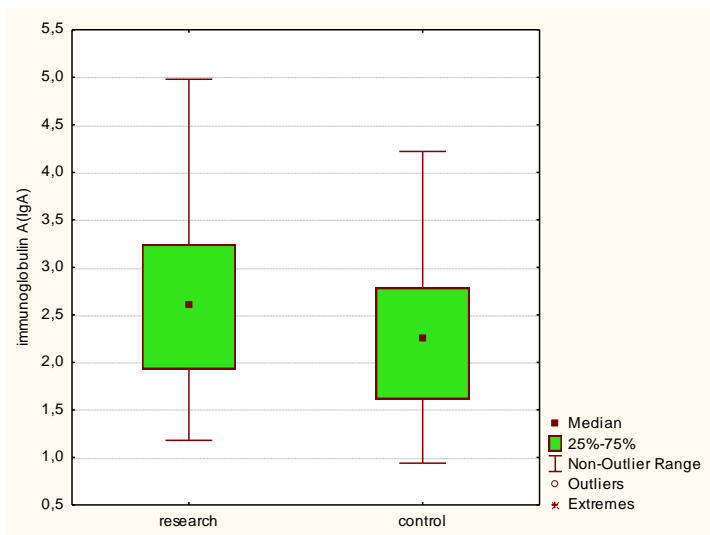


Рисунок 6 IgA у пациентов в исследуемой и контрольной группах

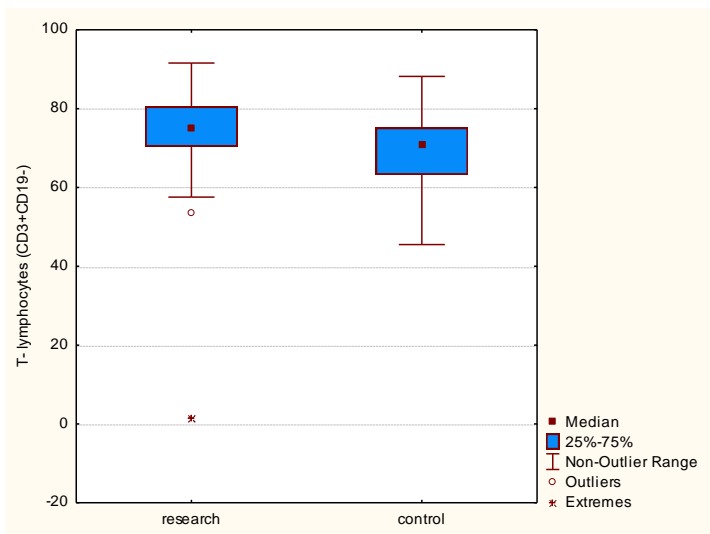


Рисунок 7. Т лимфоциты у пациентов в исследуемой и контрольной группах

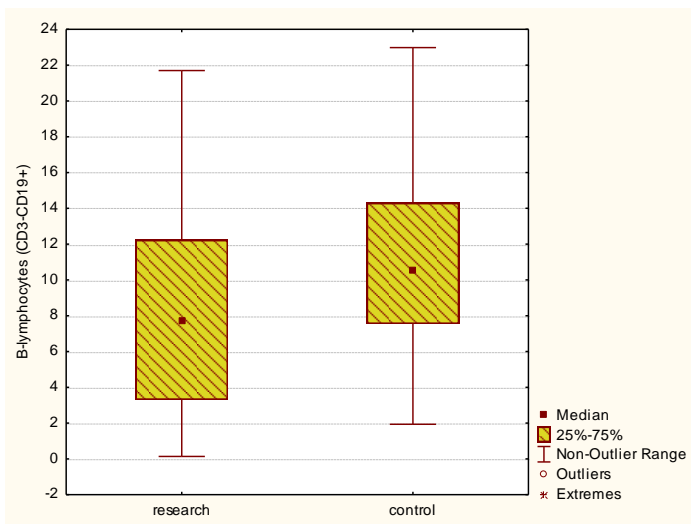


Рисунок 8. В- лимфоциты у пациентов в исследуемой и контрольной группах

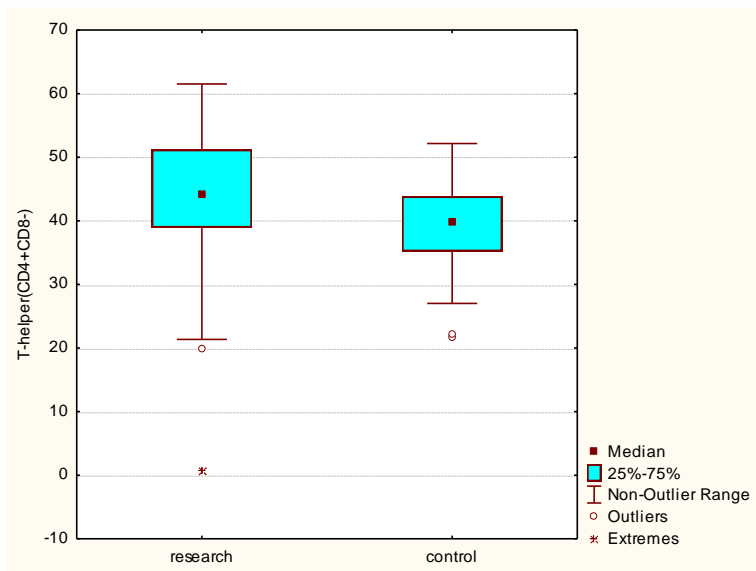


Рисунок 9. Т хелпер у пациентов в исследуемой и контрольной группах

При анализе показателей иммунологического статуса до и после химиотерапии у всех больных выявлено, что практически, все средние содержания клеточного иммунитета по референсным значениям CD3+CD19-; CD4+CD8-; ИРИ; CD3-HLA-DR+; NK(CD16+56+); CD3+/CD16+56+ - были в пределах физиологической нормы, однако CD3-CD19+ было значительно снижено от референсного в исследовательской группе $p \leq 0,0006$, CD4-CD8+ и CD3+HLA-DR+ значительно повышены по сравнению референсного значения в обеих группах (таблица 2).

Таблица 2. Сравнительный анализ специфического иммунитета в двух группах обследованных

Маркеры	Средние показатели		p
	Исследовательская группа	Контрольная группа	
T лимфоцит (CD3+CD19-)	71,7 [66,3;76,7]	71,4 [65,4;75,8]	0,55
B лимфоцит (CD3-CD19+)	7,9 [3,7;12,2]	10,4 [7,8;13,7]	0,0006
T – helper (CD4+CD8+)	40,7 [32,4;45,0]	39,0 [32,1;43,7]	0,36
T-цитотокс (CD4-CD8+)	31,7[25,8;36,8]	28,5[24,5;35,4]	0,08
ИРИ	1,3[0,9;1,6]	1,3[1,0;1,7]	0,74
CD3+HLA-DR+(активированныеT лимфоциты)	8,7 [4,5;14,8]	6,1 [2,0;13,0]	0,03
CD3-HLA-DR+	13,4 [9,8;15,4]	13,6 [11,5;14,9]	0,45
NK(CD16+56+)-натуральные киллеры	11,6[8,0;16,8]	11,3[7,3;18,8]	0,53
T-киллеры (CD3+/CD16+CD56+)	5,8[3,3;9,0]	6,4[4,5;10,0]	0,03

Примечание: Me – медиана, 25% - нижний квартиль, 75%- верхний квартиль

3 Связь состояния биоценоза с иммунологическими показателями

Интересным на наш взгляд является взаимосвязь между показателями иммунной системы и состоянием биоценоза влагалища. По данному вопросу исследованы возможные корреляционные связи между двумя системами в выбранных группах больных женщин с РМЖ.

Корреляционный анализ показал в исследовательской группе среди представителей облигатно-анаэробной флоры: *Megasphaera*spp. имеет среднюю прямую связь между CD4-CD8+ и CD3+HLA-DR+(активированные Е-лимфоциты) ($r = 0,5; p \leq 0,05$); а с соотношением Т-хелперов и Т-супрессоров (ИРИ), CD3-HLA-DR+ среднюю обратную корреляцию ($r = -0,5; p \leq 0,05$), рисунок 10.

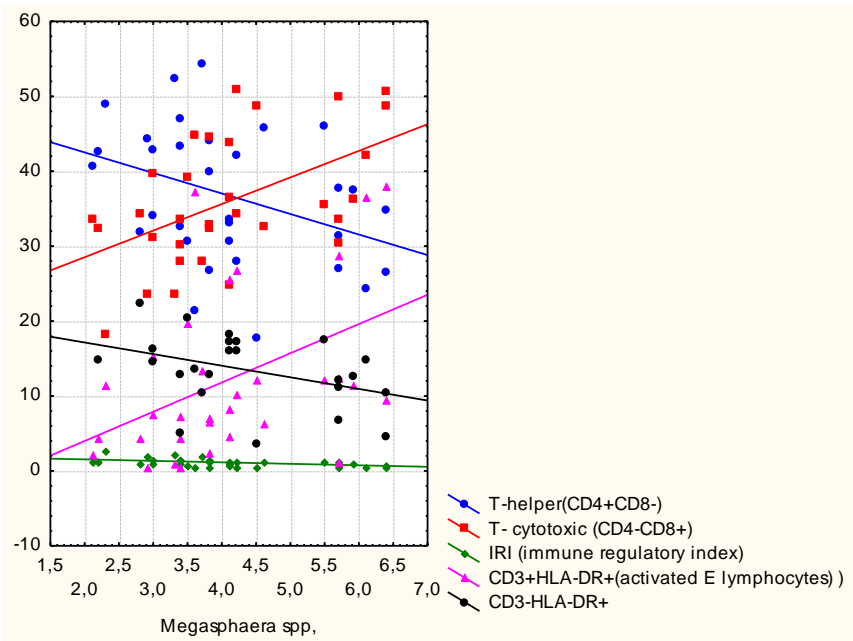


Рисунок 10. Корреляции между показателями специфического иммунитета и *Megasphaera* spp. в исследовательской групп

Выявлены отрицательные слабые корреляционные связи между *Lachnobacterium* spp и Т-цитотокс (CD4-CD8+), CD3+HLA - DR+(активированные Е-лимфоциты) ($r = -0,2$; $r = -0,3$; $p \leq 0,05$); наоборот, положительная связь была с ИРИ ($r = 0,3$; $p \leq 0,05$). Следующие корреляционные связи отмечались между *Mobiluncus* spp. и Т-helper (CD4+CD8-) как слабая прямая ($r = 0,3$; $p \leq 0,05$), а представитель биоценоза *Peptostreptococcus* spp. и с Т-киллерами CD3+/CD16+56+ указали на среднюю прямую связь ($r = 0,4$; $p \leq 0,05$). Представитель группы микоплазм *Ureaplasma* (*urealyticum* + *parvum*) указало на отрицательную слабую связь с В-лимфоцитом (CD3-CD19+) ($r = -0,3$; $p \leq 0,05$). Между единственным представителем факультативно-анаэробной флоры *Enterobacteriaceae* и Т клетками CD3-HLA-DR+ отмечалась сильная положительная корреляция ($r = 0,6$; $p \leq 0,05$), рисунок 11.

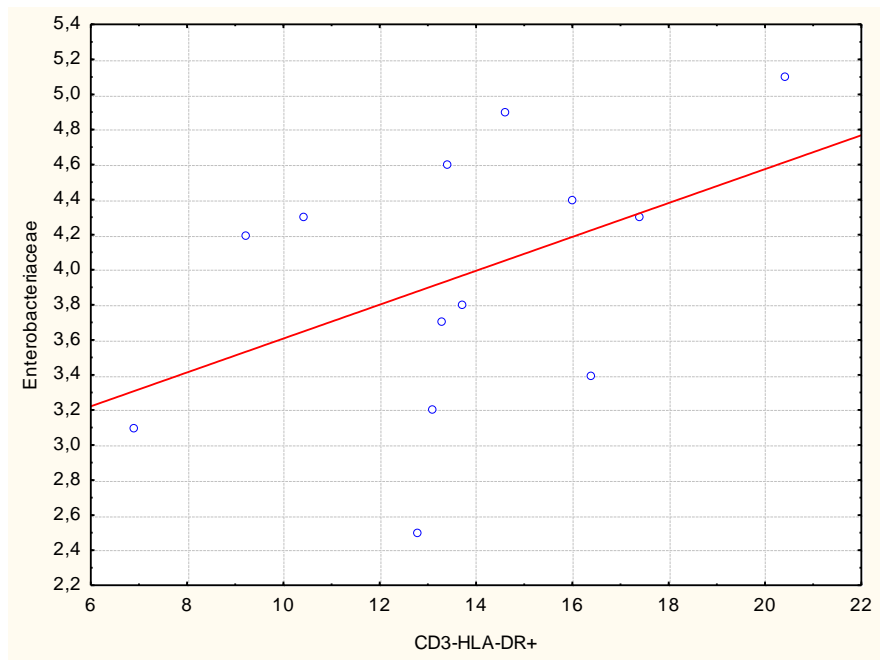


Рисунок 11. Корреляция между иммунитетом и *Enterobacteriaceae* в исследовательской группе

Между единственным представителем факультативно-анаэробной флоры *Streptococcus* spp. и клетками Т-цитотокс (CD4-CD8+) выявлена значимая прямая сильная корреляция в контрольной группе, рисунок 12. Обратная картина была по связи *Sneathia* spp. и Т-цитотокс (CD4-CD8+) - положительная, полярная связь у *Sneathia* spp, рисунок 13.

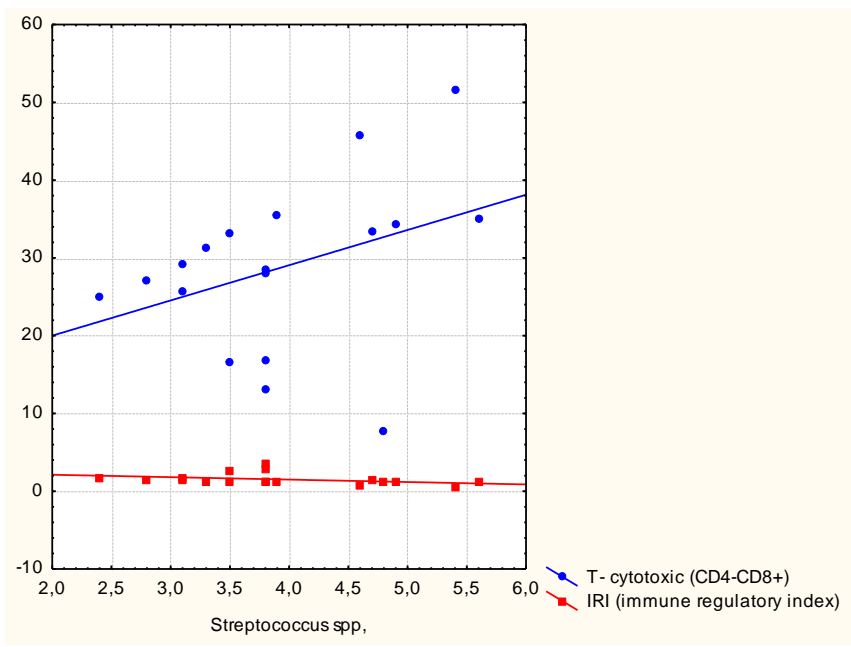


Рисунок 12. Взаимосвязь между клеточным иммунитетом и *Streptococcus* spp. в контрольной группе

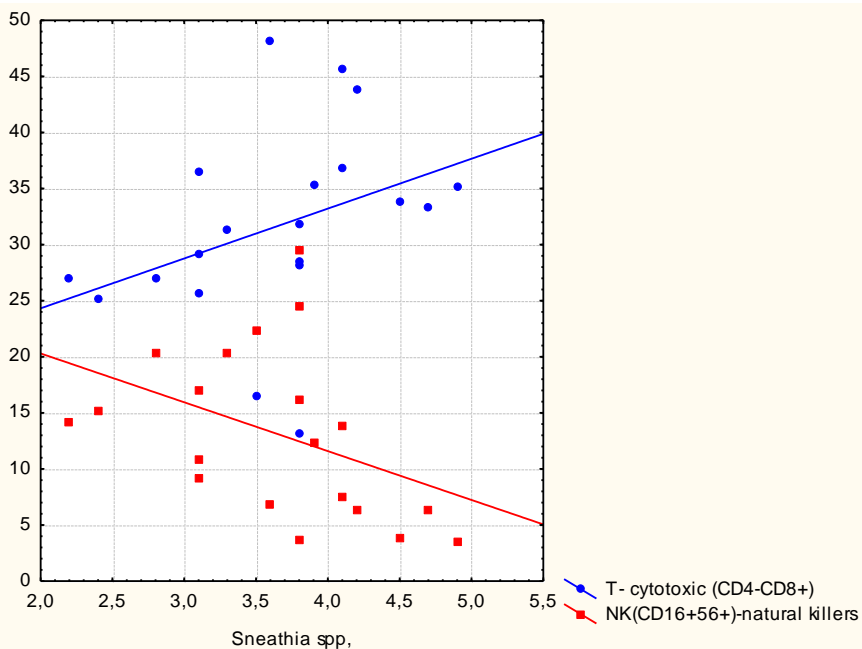


Рисунок 13. Корреляция между показателями иммунитета и *Sneathiaspp.* в контрольной группе

Слабая, но значимая отрицательная связь отмечается между *Gardnerella vaginalis* и CD3+HLA-DR+ (активированные E-лимфоциты) ($r = -0,3$; $p \leq 0,05$). Корреляционный анализ в контрольной группе выявил обратную сильную связь между представителями облигатно-анаэробной флоры: *Peptostreptococcuspp.* и CD3+HLA-DR+(активированные E-лимфоциты) ($r = -0,6$; $p \leq 0,05$), рисунок 14.

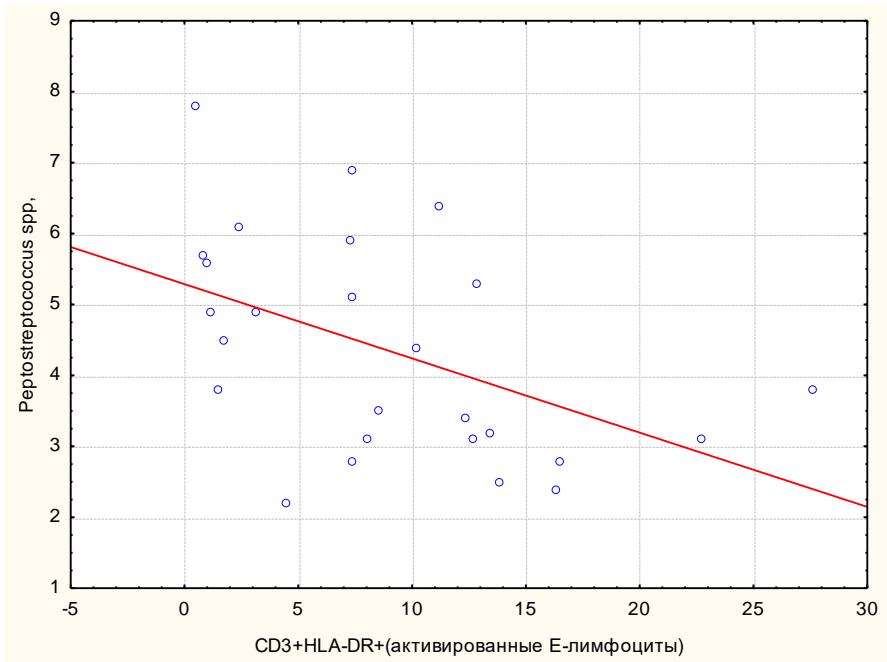


Рисунок 14. Корреляция между показателями иммунитета и Peptostreptococcus spp. в контрольной группе

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате химиотерапии и эстрогенной терапии у женщин с РМЖ происходит угнетение функции яичников, снижение уровня половых гормонов: эстрогена и прогестерона и в последующем оно проявляется в виде воспалительных процессов влагалища - бактериальных вагинозов (БВ), аэробных вагинитов (АВ), вульвовагинальных кандидозов (ВВК). Все эти заболевания объединены в мочеполовой синдром менопаузы, что является распространенным состоянием у пациенток с РМЖ. Мочеполовой синдром менопаузы связан с уменьшением секреции эстрогена, что приводит к истощению лактобацилл и увеличению рН влагалища с последующей колонизацией энтеробактериями [43].

В рандомизированном плацебо-контролируемом двойном слепом экспериментальном исследовании сотрудников кафедры акушерства и гинекологии Венского Медицинского университета (Австрия) было обнаружено, что у женщин с РМЖ получающих химиотерапию в микробиоте влагалища отсутствовали *Lactobacillus* spp., которое расценивалось ни как простой дефицит, а как патологическое состояние. Из-за химиотерапии и эстрогенной терапии у пациенток с БВ повышен риск отсутствия лактобацилл влагалища и их уменьшения [44]. Практически аналогичные результаты имеются в изложенных результатах.

По данным Г.Дондерс с соавторами, у большинства пациенток с РМЖ *Lactobacillus* spp. отсутствовали, только у 14% присутствовали, что указывало на то, что у большинства пациенток с нарушенной флорой в этой группе имеется аэробный вагинит, а не бактериальный вагиноз [45]. В нашем исследовании у пациенток с РМЖ отсутствие *Lactobacillus* spp. составило - 55%, соответственно у 45% пациенток имеется два вида выше указанных воспалительных заболеваний влагалища.

В научных результатах А.В. Подгорной с соавторами описан бактериальный вагиноз, имеющий рецидивирующий характер, и даже в периоды ремиссии было наличие потенциального риска обострения, что проявляется состоянием умеренного дисбиоза, преобладанием

Lactobacillus и отдельных видов анаэробов. [46]. По данным А.Х. Гайдаровой, состав вагинального микробиоценоза у пациенток с вульвовагинитами после радикального лечения и адьювантной терапии рака молочной железы характеризовался преобладанием аэробных представителей семейств *Enterobacterium* spp., *Staphylococcaceae* [47], что перекликается с настоящим описанием, с увеличением значения по *Staphylococcus* spp. в подтипе *Tripplenegative*. При онкологическом заболевании РМЖ обнаруженная микробиота более патогенная.

По данным (Селиванова Е.В., Кубышкиной Т.Ю.) о возбудителях старого заболевания бактериального вагиноза и новой бактерии *Atopobium Vaginae* указывается: наличие *Gardnerellavaginalis* и *Atopobiumvaginae* является высокочувствительным признаком бактериального вагиноза — 96% и 99% соответственно, *Atopobiumvaginae* при этом оказался более специфичным (77%) микроорганизмом для бактериального вагиноза по сравнению с *Gardnerellavaginalis* (35%). У женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом в 100% случаев обнаруживалась *Gardnerellavaginalis*, а *Atopobiumvaginae* — в 75% случаев [48]. В наших исследованиях в контрольной группе содержание *AtopobiumVaginae* были в пределах нормы, в исследовательской группе *AtopobiumVaginae* был выявлен у 76% женщин с высокочувствительным признаком бактериального вагиноза.

В работе Геворкян Н. В. и соавторов исследованы частоты выявления *Atopobiumvaginae* у женщин детородного возраста на наличие резидентной и аэробно-анаэробной микрофлоры. Показано, что *Atopobiumvaginae* достаточно часто включается в ассоциацию с другими анаэробными бактериями у пациенток с декомпенсированным БВ (47%). В то же время при наличии резидентной микрофлоры, представленной *Lactobacillus* spp., в условиях нормоценоза не выявлен [49]. Эти данные совпадают с таковыми в настоящем исследовании и указывают на высокочувствительность *Atopobiumvaginae* в группах женщин после лечения при сниженном показателе *Lactobacillus* spp..

По данным авторов из Уппсальского университета, Швеция, количественное определение наличия *G. vaginalis*, *A. vaginae*,

Eggerthella, Prevotella, BVAB2 и Megasphaera типа 1, а также истощения Lactobacillus указывают о нарушении микробиоты влагалища. Он характеризуется истощением нормальной микробиоты с преобладанием лактобацилл, сопровождающийся сдвигом в сторону более высокого бактериального разнообразия и интенсивным разрастанием комменсальных анаэробных бактерий [50], что описывается и подтверждается в полученных результатах выполненной работы. *A. Vaginae* может быть составной частью - предположительно в небольшом количестве - влагалища человека, возможно, достигая репликативной способности. Получено преобладание в сочетании со снижением уровня лактобацилл при ПРЦ диагностике. Доступная литература, посвященная бактериальному вагинозу, в основном сосредоточена на *G. Vaginalis*, некоторые результаты собственного исследования, такие как обилие *A. vaginae* в нарушенной микрофлоре влагалища и присутствие нескольких новых видов, указывают на то, что еще многое в перспективе предстоит исследовать по составу микрофлоры влагалища и его связи с вагинозом, а также роли в канцерогенезе.

Полученные результаты исследования указывают, что подтип РМЖ LuminalA наиболее часто встречаемый среди всех обследованных пациенток. По показателям биоценоза влагалища у женщин в различных подтипах РМЖ выявляется следующая картина: представитель нормофлоры Lactobacillus spp во всех 4-х подтипах не выявлен в нормальных значениях, что указывает на угнетение облигатной флоры; представители облигатно-анаэробной флоры Peptostreptococcus spp и Lachnobacterium spp. имеют тенденции на значимые повышения в подтипах.

Выявленные особенности микробиоты влагалища у женщин в разных подтипах РМЖ значимо полезны с превентивной целью. По результатам работы подтверждается наличие особого микроба в качественной оценке микробиоценоза влагалища Atopobium Vaginae на фоне сниженного Lactobacillus spp., в двух исследуемых группах.

Значительные различия в микробном составе нижних отделов влагалища у женщин с РМЖ до и после химиотерапии характерны для

женщин исследовательской группы. Описанные сдвиги в микробиоценозе влагалища при РМЖ на фоне до и после химиотерапии и сопоставление с имеющимися данными в литературе трудно связать с влиянием на течение рака молочной железы, поскольку не выявляется определенная детализация по присутствию высокочувствительного патогенного штамма или отсутствию полезного штамма.

Пациенты с химиотерапией имели значительное увеличение циркулирующих Т-лимфоцитов, в то время как Т-хелперные клетки поражались в большей степени у пациентов без химиотерапии. У пациентов, получавших химиотерапию, выявляется значительно меньшее количество В-лимфоцитов по сравнению с пациентами, не получавшими химиотерапию. При изучении взаимосвязи специфического иммунитета с показателем неспецифического иммунитета влагалища, представитель группы облигатно-анаэробной флоры *Megasphaera* spp. имеет корреляцию с основными популяциями лимфоцитов, которые принимают участие в развитии иммунного ответа против инфекции и непосредственно участвуют в уничтожении инфицированных клеток. Снижение иммунорегуляторного индекса (ИРИ) организма в отношении количественного повышения *Megasphaera* spp. во влагалищной флоре указывает на возникновение бактериального вагиноза у пациенток исследовательской группы. Т-активированные лимфоциты с фенотипом CD3+HLA -DR+, являясь маркером поздней активации, свидетельствует об ослаблении защитных сил организма и развития гипоиммунного состояния. У пациентов с РМЖ проявляется взаимосвязь этих показателей с представителями биотопа влагалища - *Megasphaera* spp. и *Enterobacteriaceae*.

Картина биотопа влагалища *Peptostreptococcus* spp., *Sneathia* spp, *Streptococcus* spp, в сторону повышения в ответ на угнетение Т-активированных лимфоцитов с фенотипом CD3+HLA -DR+; а также ИРИ, NK (CD16+56+)-натуральных киллеров в начальной стадии обследованных женщин с РМЖ до химиотерапии указывает на снижение иммунного ответа. В контрольной группе высокие значения представителя облигатно-анаэробной флоры *Enterobacteriaceae* не

имеют корреляционные связи с реактивными показателями иммунной системы; в исследовательской группе отмечается сильная прямая корреляционная связь. В контрольной группе по уровню корреляционной связи превалирует обратная динамика между биотопами влагалища *Peptostreptococcus spp* и *Gardnerella vaginalis* с CD3+HLA -DR+, что позволяет данный факт оценить как ранний маркер неспецифического иммунитета.

Изучение корреляционных связей между показателями биоценозов и иммунной системой свидетельствует о развитии дисбаланса иммунного ответа организма при РМЖ. Приоритетным является неспецифический иммунитет влагалища с преобладанием представителей облигатно-анаэробной флоры и картиной воспаления в виде бактериальных вагинозов.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Абитова А.Ж., Бекмухамбетов Е.Ж., Назарбаева Р.К., Баспақова А.М., Аймагамбетова М.А., Жексенова А.Н. Ақтөбе облысы бойынша сүт безі катерлі ісігінің эпидемиологиясы. Батыс Қазақстан медицина журналы 2018;59(3):4–8.
2. Билялова З.А., Игисинов Н.С., Туремуратова М.А. Эпидемиологические аспекты рака молочной железы в Казахстане. «Молодой ученый», 2011 янв.; 1(24);257–261.
3. Ермагамбетов П.Т. Динамика заболеваемости злокачественными новообразованиями населения Актыубинской области Республики Казахстан. Батыс Қазақстан медицина журналы 2012; 3(35):114.
4. Жумашева А.В. Иммуногистохимическое исследование рака молочной железы у женщин г. Ақтөбе. БатысҚазақстан медицина журналы 2010;2(26):72–7.
5. Меджидова М.К., З.С.Зайдиева, А.А.Вересова. Микробиоценоз влагиалища и факторы, влияющие на его состояние // Медицинский совет-2013.с.118-125.
6. Бабышкина Н.Н., Вторушин С.В., Дронова Т.А., Крахмаль Н.В., Завьялова М.В., Цыганов, М.М., Паталяк С.В., Слонимская Е.М., Чердынцева Н.В. Роль рецептора трансформирующего фактора роста β I типа (TGF- β RI) в прогрессировании люминального подтипа рака молочной железы. // Сибирский онкологический журнал. 2017; 16 (2): 27–35. - DOI: 10.21294/18144861-2017-16-2-27-35.
7. Шатова Ю.С, В.В. Токмаков, Л.Ю. Владимирова, Л.Н. Ващенко Адьювантная химиотерапия первично-операбельного люминального В-подтипа рака молочной железы без гиперэкспрессии HER2/neu у пациенток в постменопаузе: да или нет? // Опухоли женской репродуктивной системы. 4; 2017-том 13, DOI: 10.17650/1994-4098-2017-13-4-29-33.
8. D. Hammerl, M. Smid, A.M. Timmermans, S. Sleijfer, J.W.M. Martens, R. Debets* Breast cancer genomics and immuno-oncological

- markers to guide immune therapies// Seminars in CancerBiology [http:// dx.doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.11.003](http://dx.doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.11.003).
9. Muhammad Akram, MehwishIqbal, Muhammad Daniyal ,AsmatUllah Khan Awareness and current knowledge of breast cancer//Biological Research (2017) 50:33. DOI 10.1186/s40659-017-0140-9.
 10. Farida K.Balmaganbetova, Roza E.Nurgaliyeva, Aiman T.Kaldybaeva, Azhar N. Zheksenova, Ainur.Amanzholkzy Incidence of human papilloma virusgenotypesin case of breast cancer //Minerva Medicavol. 110.suppl.1. №2, april 2019, 88-89p.
 11. Mahdiyeh Shamsi, Jalil Pirayesh Islamian Breast cancer: early diagnosisand effective treatment by drug delivery tracing// Nuclear Medicine Review 2017, 20, 1: 45–48DOI: 10.5603/NMR.2017.0002.
 12. Lisa Ljungma, Johan Ahlgren, Lena Marie Petersson,Kathryn E. Flynn, Kevin Weinfurt, Jessica R. Gorman, Lena Wettergren, Claudia Lampic. Sexual dysfunction and reproductive concerns in young women with breast cancer: Type, prevalence, and predictors of Problems.//Psycho Oncology. 2018;27:2770–2777.DOI: 10.1002/pon.4886.
 13. Baxevanis. C.N., Fortis S.P., Perez S.A. The balance between breast cancer and the immune system: Challengesfor prognosis and clinical benefit from immunotherapies. Semin Cancer Biol. 2019 Dec 24. pii: S1044-579X(19)30418-3.doi: 10.1016/j.
 14. Chen J, Douglass J, Prasath V, Neace M, Atrchian S,Manjili MH, Shokouhi S, HabibiM.The microbiome and breast cancer: a review. Breast Cancer Res Treat. 2019Dec;178(3):493-496. doi: 10.1007/s10549-019-05407-5. 2019.PMID: 31456069.
 15. Shipitsyna E, Roos A, Datcu R, et al. Composition of the vaginal microbiota in women ofreproductive age--sensitive and specific molecular diagnosis of bacterial vaginosis ispossible?. PLoS One. 2013; 8(4): e60670. Published 2013 Apr 9. doi:10.1371 /journal. pone. 0060670.
 16. О.П. Лебедева, П.В. Калущкий, С.П. Пахомов, М.И. Чурносков, П.А. Карпов. Врожденный иммунитет женских половых путей и

его гормональная регуляция (мини-обзор).//Научные ведомости № 12(67) 2009; 25-30. УДК 618.1:612.017.1.

17. .Майоров М.В, Е.А. Жуперкова., С.И.Жученко. О.Л.Черняк. Вагинальный биоценоз. Современные представления о норме и патологии. Медицинские аспекты здоровья женщины. 2017. №1. С.33-40.
18. Майоров М.В., Е.А. Жуперкова., С.И. Жученко. О.Л. Черняк. Местные лечения вагинальных инфекций. Медицинские аспекты здоровья женщины. 2017. №5 (110). С.1-7.
19. Мани С. Микробиота и рак молочной железы. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017; 151: 217–229. ИЦО: 10.1016/bs.pmbts.2017.07.004. Электрон. публикация 31 августа 2017 г. PubMed PMID:29096895.
20. Amir Mehrgou, MansourehAkouchekian. The importance of BRCA1 and BRCA2 genes mutations in breast cancer development.*Medical journal of the Islamic republic of Iran.*2016; 5(30).369.
21. Sharat Chopra. Eleri Lloyd Davies. *Breast Cancer.Medicine.*2020;48(2).113-118.
22. Nurbek Igissinov, Assem Toguzbayeva, Botagoz Turdaliyeva, GulnurIgissinova, Zarina Bilyalova, Gulnur Akpolatova, Murat Vansvanov et al. Breast Cancer in Megapolises of Kazakhstan: Epidemiological Assessment of Incidence and Mortality. *Iran Journal Public Health.*2019; 48(7), 1257-1264.
23. Nur Qodir I, Mulawan Umar, Nopriansyah Darwin, Theodorus. CD8+ Serum as a predictor of Neoadjuvant Chemotherapy Response in Locally Advanced Breast Cancer. *Journal of Physics.* 2019.1246.
24. France Labreche, Mark S.Goldberg, Dana Hashim, ElisabeteWeiderpass. (2020) Breast Cancer.In:Anttila S., Boffetta P. (eds) *Occupational Cancer.* Springer, Cham.
25. N. Wijayahadi., M.R.Haron., J. Stanslas., Z. Yusuf. Changes in Cellular Immunity during Chemotherapy for Primary Breast Cancer with Anthracycline Regimens.*Journal of Chemotherapy.* 2007: 19(6), 716-723.

26. Liyanage UK, Moore TT, Joo HG, Tanaka Y, Herrmann V, Doherty G, Drebin JA, Strasberg SM, Eberlein TJ, Goedegebuure PS, Linehan DC. Prevalence of regulatory T cells is increased in peripheral blood and tumor microenvironment of patients with pancreas or breast adenocarcinoma. *J Immunol.* 2002; 169: 2756 – 2761.
27. Калиева Г. Рак молочной железы: точно, безопасно, эффективно. *Казахстанский медицинский журнал.* 2014;5 (41):27–29.
28. Ed. D. Forman, Btay F., Brewster D.H., Gombe Mbalawa C., Kohler B., Pineros M., Steliarova Foucher E., Swaminathan R. Cancer incidence in Five Continents Vol. X. *J. Cancer J Clin* 2005;55(2):74–108.
29. Билялова З.А., Игисинов Н.С., Туремуратова М.А. Эпидемиологические аспекты рака молочной железы в Казахстане. «Молодой ученый», 2011 янв.; 1(24);257–261.
30. Wang K., Vella A.T..Regulatory T Cells and Cancer: A Two-Sided Story. *Immunol Invest* 2016 Nov; 45 (8):797-812. Epub 2016 Sep 7. PMID:27603750DOI:10.1080/08820139.2016.1197242.
31. Bower J.E., Ganz P.A., Aziz N., Fahey J.L., Cole S.W. T-cell homeostasis in breast cancer survivors with persistent fatigue.*J Natl Cancer Inst.* 2003 Aug 6; 95 (15):1165-8.DOI:10.1093/jnci/djg0019.
32. Палеев Ф.Н., Санина Н.П., Макаров А.И., Мылов Н.М., Островский Е.И., Хишова Н.Н. Иммунологическая характеристика воспалительных заболеваний миокарда вирусной этиологии.// *Альманах клинической медицины.* 2014; 35: 12–2.
33. Byrne A., Savas P., Sant S., Li R., Virassamy B, Luen S.J., Beavis P.A., Mackay L.K., Neeson P.J., Loi S..Tissue-resident memory T cells in breast cancer control and immunotherapy responses. *Nat Rev ClinOncol.* 2020 Feb 28.doi: 10.1038/s41571-020-0333-y.
34. Sumransub N., Jirapongwattana N., Jamjuntra P., Thongchot S., Chieochansin T., Yenchitsomanus P.T., Thuwajit P., Warnnissorn M., O-Charoenrat P., Thuwajit C.. Breast cancer stem cell RNA-pulsed dendritic cells enhance tumor cell killing by effector T

- cells.OncolLett. 2020 Mar;19(3):2422-2430. doi: 10.3892/ol.2020.11338. Epub 2020 Jan 23.
35. Т. А. Григорьева, О. А. Безнос, Н. Н. Тупицын, И. К. Воротников, В. Ю. Сельчук, Д. А. Рябчиков. Субпопуляции лимфоцитов костного мозга больных раком молочной железы// Опухоли женской репродуктивной системы.2015;2:52-55.DOI: 10.17 650 / 1994-4098-2015-11-2-52-55.
 36. О.В. Короткова, Т.Н. Заботина, Л.В. Скотаренко, А.А. Борунова, Н.Ю. Очеева, И.К. Воротников, З.Г. Кадагидзе. Субпопуляции лимфоцитов периферической крови больных РМЖ.//Российский биотерапевтический журнал.№ 3/том 10/2011:95-98.УДК 618.19-006.6:612.42.
 37. Авдеева Ж.И., Солдатов А.А., Киселевский М.В., Бондарев В.П., Меркулов В.А. Противоопухолевые лекарственные препараты моноклональных антител.//Медицинская Иммунология. 2017, Т. 19,157-158.
 38. Liyanage UK, Moore TT, Joo HG, Tanaka Y, Herrmann V, Doherty G, Drebin JA, Strasberg SM, Eberlein TJ, Goedegebuure PS, Linehan DC. Prevalence of regulatory T cells is increased in peripheral blood and tumor microenvironment of patients with pancreas or breast adenocarcinoma. *J Immunol*.2002; 169: 2756 – 2761.
 39. Murta EF, de Andrade JM, Falcao RP, Bighetti S. Lymphocyte subpopulations in patients with advanced breast cancer submitted to neoadjuvant chemotherapy. *Tumori*. 2000;86: 403–407.
 40. БагировН.С., ПетуховИ.Н., ДмитриевН.В., Григорьевская З.В. Микробиом и рак: есть ли связь? Обзор литературы // Злокачественные опухоли 2018; 56-69с.; DOI:10.18027/2224-5057-2018-8-3s1-56-69.
 41. Lamont R.F., SobelJ.D., Akins R.A. etal. The vaginal microbiome: new information about genital tract flora using molecular based techniques. *BJOG*, 2011; 118: 533-549.
 42. Allsworth J.E., Peipert J.F. Severity of bacterial vaginosis and the risk of sexually transmitted infection. *Am J Obstet Gynecol*, 2011; 205 (2): 113.e1-6. 4.

43. Hashmi, Atif Ali et al. "Prognostic parameters of luminal A and luminal B intrinsic breast cancer subtypes of Pakistani patients." World journal of surgical oncology vol. 16,1 1. 2 Jan. 2018, doi:10.1186/s12957-017-1299-9.
44. P.C. Ho, Y.R. Yu Sculpting tumor microenvironment with immune system: from immunometabolism to immune editing <https://doi.org/10.1111/cei.13293> [HTTPS://ONLINELIBRARY.WILEY.COM/JOURNAL/13652249](https://onlinelibrary.wiley.com/journal/13652249).
45. Tsung-Cheng Lin , Cheng-Han Yang , Li-Hsin Cheng , Wen-Tsan Chang , Yuh-Rong Lin , Hung-Chi Cheng Fibronectin in Cancer: Friend or Foe PMID: 31861892 PMID: PMC7016990 DOI: 10.3390/cells9010027.
46. Подгорная А.В., Махмутходжаев А.Ш., Кох Л.И., Михеенко Г.А., Юрьев С.Ю. Неспецифический иммунитет влагалища у беременных женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 1 УДК618.15-022.7-036.65:618.215-097.
47. Komohara Y., Fujiwara Y., Ohnishi K., Takeya M. Tumor-associated macrophages: Potential therapeutic targets for anti-cancer therapy. Adv. Drug Deliv. Rev. 2016;99:180–185. doi: 10.1016/j.addr.2015.11.009. - DOI - PubMed.
48. Селиванов Е.В., Кубышкина Т.Ю. Бактериальный вагиноз и бактерия *Atorobium Vaginae*: новые данные о возбудителях старого заболевания. Вестник «Лаборатории днк-диагностики». 2010; №1. С. 2-4.
49. Геворкян Р.С., Павлович Н.В., Водопьянов А.С. Выявление *Atorobiumvaginae* у женщин детородного возраста с синдромом бактериального вагиноза Клинико-микробиологический журнал, 2011. Том 13. № 1. С 85-89.
50. Verstraelen H., Swidsinski A. The biofilm in bacterial vaginosis: implications for epidemiology, diagnosis and treatment. Curr Opin Infect Dis., 2013; 26(1): 86-9.

Бумага 60x84 1/16.
Усл.пл-18,31
Офсетная печать
Тираж: 500 экз.
Отпечатано в ТОО «Литера-А»
Г.Актобе, ул.Пацаева, 45
Тел.: 54-22-49