

pH środowiska pochwy i mikroskopia fazowo-kontrastowa rozmazów cytologicznych u kobiet po menopauzie

The pH of the vaginal environment and phase-contrast microscopy of cytological smears in women after menopause

Andrzej Malarewicz, Jadwiga Szymkiewicz, Michał Sola, Marta Błaszczak

Zakład Perinatologii i Pielęgniarstwa Położniczego Instytutu Pielęgniarstwa i Położnictwa Uniwersytetu im. Jana Kochanowskiego w Kielcach; kierownik Zakładu: prof. zw. dr hab. n. med. Andrzej Malarewicz

Przeгляд Menopauzalny 2011; 3: 222–227

Streszczenie

Wstęp: Mając na uwadze fakt, że do tej pory nie określono jednoznacznie granicznej wartości indeksu dojrzenia (*maturation index* – MI), powyżej której można z całą pewnością stwierdzić w ustroju hipostrogenizm, i nie określono takiej granicy również dla pH środowiska pochwy, postanowiono przekonać się, jak zachowują się wartości wspomnianych wskaźników u kobiet w różnym okresie po menopauzie. Autorzy zdecydowali się również sprawdzić, jak zachowują się w pochwie pałeczki *Lactobacillus vaginalis* w różnym okresie po menopauzie.

Materiał i metody: Badania przeprowadzono u 114 kobiet. Ocenę pH pochwy wykonano paskowym wskaźnikiem kolorymetrycznym firmy Merck KGaA (Germany). Pobierano rozmazy pochwowe i w mikroskopie fazowo-kontrastowym obliczano wskaźniki dojrzenia oraz oceniano zachowanie się drobnoustrojów *Lactobacillus* i liczono je, stosując skalę Nugenta.

Wnioski:

1. Oglądanie rozmazów pochwowych w mikroskopie fazowo-kontrastowym jest szybkim i dokładnym sposobem ilościowej oceny zachowania się poszczególnych rodzajów komórek nabłonka wielowarstwowego płaskiego pochwy i oceny kolonizacji pochwy pałeczkami kwasotwórczymi – *Lactobacillus vaginalis*.
2. Stwierdzenie w rozmazach pochwowych ponad 15% komórek pochodzących z warstwy przypodstawnej i nie więcej niż 7% komórek powierzchniowych nabłonka wielowarstwowego płaskiego oraz wartości kwasoty środowiska pochwy powyżej pH 5,0 jest charakterystyczne dla kobiet w okresie ponad 5 lat po menopauzie.
3. W przebiegu starzenia się kobiet, począwszy od 5 lat po menopauzie, w miarę upływu lat znikają z pochwy prawidłowe formy *Lactobacillus vaginalis* i stwierdza się bytujące w pochwie tylko formy polimorficzne i inwolucyjne oraz zupełny ich brak u kobiet w senu (ponad 25 lat po menopauzie).

Słowa kluczowe: menopauza, biocenoza pochwy, mikroskopia fazowo-kontrastowa, cytologia menopauzy, pH środowiska pochwy.

Summary

Taking into account the fact that so far the boundary value of the maturation index (MI), above which hypoestrogenism in the organism can be found with absolute certainty, has not been unambiguously determined and that such a boundary has also not been determined for the pH of the vaginal environment, it was decided to find out how the values of the mentioned indices behave in women at different periods after the menopause. We also decided to determine how the *Lactobacillus vaginalis* bacteria behave at different periods after the menopause. The investigation was conducted in 114 women in total. The vaginal pH was assessed using colorimetric indicator strips (Merck, Germany). After collecting the vaginal smears both the maturation indices of the epithelial cells and the behaviour of *Lactobacillus* bacteria were appraised under the phase-contrast microscope, and the number of bacteria was determined using a Nugent scale. The analyses of the results of our research permit the following conclusions: 1. The inspection of vaginal smears using phase-contrast microscopy

is a fast and precise way of quantitative assessment of the behaviour of different kinds of stratified squamous epithelium of the vagina and the degree of colonization of the vagina with the acid-forming bacteria *Lactobacillus vaginalis*. 2. The finding that more than 15% of cells originated from the basal layer and no more than 7% from the surface of the stratified epithelium in the vaginal smears and that the values of acidity of the vaginal environment are above pH 5 is characteristic for women more than five years after the onset of the menopause. 3. In the course of aging of the women as the years go by, starting from 5 years after menopause, the normal forms of *Lactobacillus vaginalis* tended to disappear and only the polymorphic and involution forms lived in the vagina, and a complete lack of them was revealed in the senior women (more than 25 years after the menopause).

Key words: menopause, ecosystem of the vagina, phase-contrast microscopy, cytology of menopause, pH of vaginal environment.

Wstęp

W celu szybkiego i dokładnego sposobu oceny biocenozy pochwy i aktualnej sytuacji hormonalnej w ustroju kobiety wielu autorów proponuje przede wszystkim dokonywanie pomiarów pH środowiska pochwy [1]. Dokładność takiej oceny można zwiększyć, uzupełniając ją o oglądanie świeżych, nieutrwalonych cytologicznych rozmazów pochwowych w mikroskopie fazowo-kontrastowym, określając wskaźnik dojrzewania komórek nabłonkowych oraz zwracając uwagę na zawartość i zachowanie się w treści pochwowej drobnoustrojów *Lactobacillus vaginalis* [3–5]. Zdaniem García-Clossas i wsp. [6], stwierdzenie u kobiet w okresie dojrzałości płciowej pH pochwy poniżej 4,2 wyklucza istnienie zakażenia drobnoustrojami chorobotwórczymi. Natomiast wartości pH powyżej 4,5 sugerują istnienie zakażenia pochwy lub są wyrazem obecności w pochwie krwi, nasienia albo zmniejszonego stężenia estrogenów. Nilsson i wsp. [7] zaobserwowali, że u kobiet miesiączkujących pH 4,0–5,0 jest charakterystyczne dla prawidłowego środowiska pochwy.

Malander i wsp. [8], Malander [9] oraz Milsom i wsp. [10] sugerują, że wartości pH pochwy ściśle korelują ze stężeniem estrogenów w surowicy krwi. Brizzolara i wsp. [11] zaobserwowali, że im mniejsze jest stężenie estrogenów w ustroju kobiety, tym pH treści pochwowej jest większe. Caillouette i wsp. [12] twierdzą, że u kobiet w wieku po menopauzie pH pochwy 5,0–6,5, po wykluczeniu bakteryjnego zakażenia pochwy (*bacterial vaginosis* – BV), jest charakterystyczne dla prawidłowego przebiegu tego okresu życia kobiety. Wspomniani autorzy zanotowali, że w przypadkach stężenia estrogenów w surowicy mniejszych niż 40 pg/ml pH pochwy było zawsze większe niż 4,5 i najczęściej osiągało wartości w granicach pH 6.

Wiadomo też, że wyrazem hipoestrogenizmu u kobiet jest stwierdzana w pochwowych rozmazach cytologicznych większa niż w normoestrogenizmie liczba komórek przypadkowych nabłonka wielowarstwowego płaskiego [13]. Cytologiczny indeks dojrzewania (*maturation index* – MI) jest w niedoborze estrogenów wysoki. Do tej pory nie określono jednak jednoznacznie granicznej wartości MI, powyżej której można z całą pewnością stwierdzić w ustroju hipoestrogenizm [11], i nie określono również takiej granicy dla pH środowiska pochwy. Wprawdzie Brizzolara i wsp. [11], Caillouette i wsp. [12] oraz Nilsson

i wsp. [7] sądzą, że stwierdzenie w rozmazie pochwowym co najmniej 20% komórek przypadkowych i wartości pH wyższych niż 4,5 może być sygnałem rozpoczynającego się w ustroju kobiety niedoboru estrogenów, to wyrażają jednocześnie przekonanie, że nadal niezbędne są dalsze badania nad tym zagadnieniem, by móc, w oparciu o omawiane metody, podejmować w klinice decyzje o wdrożeniu u kobiet w wieku okołomenopauzalnym np. hormonalnej terapii zastępczej (HTZ).

Z wartościami pH środowiska pochwy wiąże się obecność lub brak w pochwie fizjologicznej flory bakteryjnej, jaką jest pałeczka kwasotwórcza *Lactobacillus vaginalis* [14, 15]. Obecność pałeczek kwasotwórczych w pochwie ma być z kolei ściśle związana z sytuacją hormonalną w ustroju kobiety [16]. Najlepsze warunki do kolonizacji powierzchni błony śluzowej pochwy tymi pałeczkami istnieją w okresie dojrzałości płciowej [17]. Kuczyńska [18] zaobserwowała, że u kobiet z niedoborem estrogenów, jak ma to miejsce po menopauzie, początkowo dochodzi do tworzenia się form inwolucyjnych i polimorficznych *Lactobacillus vaginalis*, a następnie pałeczki znikają ze środowiska pochwy [16]. Zdaniem Kuczyńskiej [18] jest to charakterystyczna reakcja tych bakterii na niezadawalające warunki bytowania. Wydaje się więc, że nieobecność w treści pochwowej prawidłowych pałeczek kwasotwórczych (po wykluczeniu zakażenia pochwy drobnoustrojami chorobotwórczymi) może być też jednym z kryteriów określających hipoestrogenizm.

Mając na uwadze powyższe sformułowania i fakt, że do tej pory nie określono jednoznacznie granicznej wartości MI, powyżej której można z całą pewnością stwierdzić w ustroju hipoestrogenizm [11], jak również nie określono takiej granicy dla pH środowiska pochwy, autorzy chcieli przekonać się, jak zachowują się wartości wspomnianych wskaźników u kobiet w różnym okresie po menopauzie. Postanowiono sprawdzić także, jak zachowują się w pochwie po menopauzie pałeczki kwasotwórcze.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono u 114 kobiet. Po wyeliminowaniu z badań 30 kobiet z zaburzoną biocenozą pochwy, do dalszego postępowania diagnostycznego zakwalifikowano ostatecznie 84 kobiety. Kobiety te nigdy

nie przyjmowały leków hormonalnych, na 3 dni przed badaniem nie odbywały stosunków płciowych, nie dokonywały irygacji pochwy, nie stosowały kremów dopochwowych i nie plamiły krwią.

Grupę kontrolną stanowiło 16 kobiet w wieku 28–35 lat prawidłowo miesiączkujących. Materiał do badań w tej grupie kobiet pobierano w II fazie cyklu miesiączkowego, pomiędzy 18. a 25. dniem. Ostatecznie grupę badaną stanowiło 68 kobiet w wieku 55–75 lat. Najmłodsze kobiety grupy badanej nie miesiączkowały co najmniej 5 lat.

Grupę badaną podzielono na pięć podgrup – zależnie od wieku, jaki upłynął od menopauzy: a) 5–10 lat – 12 kobiet; b) 10–15 lat – 14 kobiet; c) 15–20 lat – 13 kobiet; d) 20–25 lat – 14 kobiet; e) ponad 25 lat – 15 kobiet.

Ocenę pH pochwy przeprowadzano papierkiem lakmusowym firmy Merck KGaA (Germany) pozwalającym na ocenę pH w zakresie 4,0–7,0 z dokładnością 0,2–0,3. Po założeniu wziernika do pochwy, postępując się pęsetą, papierek lakmusowy umieszczano na 3 sekundy w tylnym sklepieniu pochwy, po czym wartość pH odczytywano na skali kolorymetrycznej [19].

Następnie plastikową szczoteczką (Cytobrush) pobierano z tylnego sklepienia pochwy treść do oceny cytologicznej. Rozprowadzano ją równomiernie na szkiełku podstawowym, przygotowując rozmaz cytologiczny do oglądania w mikroskopie fazowo-kontrastowym. Rozmaz zamykano w kropli roztworu fizjologicznego NaCl [20, 21]. W przyżyciowo oglądanych rozmazach obliczano MI komórek, czyli zawartość procentową poszczególnych rodzajów komórek nabłonka wielowarstwowego płaskiego oraz zwracano uwagę na obecność w rozmazach pałeczek kwasu mlekowego, ich wygląd lub ich brak.

Indeks dojrzewania przedstawiono w sposób następujący: S/I/P, gdzie: S – komórki powierzchniowe (superficyjne); I – komórki warstwy pośredniej (intermedialne); P – komórki przypodstawne (parabazalne).

Po ocenie rozmazu w mikroskopie fazowo-kontrastowym szkiełko nakrywkowe splukiwano z powierzchni preparatu kilkoma kroplami soli fizjologicznej, rozmaz utrwalano nad płomieniem, barwiono metodą Grama i oglądano w mikroskopie świetlnym pod powiększeniem 1000 × [14, 18]. W przygotowanym w ten sposób preparacie oceniano bakterioskopowo biocenozę pochwy, określając stopnie czystości wg Manu af Heurlina w modyfikacji Kuczyńskiej [14–16, 22, 23], zwracano uwagę na ewentualną obecność komórek jeżowych (*clue cells*) oraz drożdżaków [24, 25]. W ten sposób wykluczono z badań pacjentki ze stwierdzonymi zapaleniami lub zakażeniami pochwy.

W zabarwionych metodą Grama rozmazach, u zakwalifikowanych do badań pacjentek, liczone pod immersją prawidłowe pałeczki mlekowe oraz zwracano uwagę na ich kształt i wielkość. Liczbę pałeczek określano w skali 0–4 zaproponowanej przez Nugenta i wsp. [26]. Skala ta odpowiadała konkretnej liczbie prawidło-

wych pałeczek kwasu mlekowego widocznych w polu widzenia (p.w.) mikroskopu:

- 0 – brak pałeczek kwasu mlekowego w p.w. mikroskopu;
- 1 – obecna jedna pałeczka w p.w.;
- 2 – 2–4 pałeczki w p.w.;
- 3 – 5–30 pałeczek w p.w.;
- 4 – ponad 30 pałeczek w p.w.

Wyniki badań

Osiągnięte wyniki badań przedstawia tabela I.

W grupie kontrolnej, którą stanowiło 16 kobiet, w rozmazach oglądanych w mikroskopie fazowo-kontrastowym obserwowano tylko komórki powierzchniowe i pośrednie nabłonka wielowarstwowego płaskiego. Komórki powierzchniowe miały kształt wielokątny, brzegi proste lub pofałdowane oraz dobrze widoczne, zbite, błyszczące, pyknotyczne jądra otoczone niewielkim przejaśnieniem cytoplazmy. Komórki warstwy pośredniej były mniejsze od powierzchniowych, miały kształt wielokątny, wrzecionowaty, a niektóre osetkowaty oraz pęcherzykowate jądra. Niektóre z nich miały nieco zarte zarysy i zwakuolizowaną cytoplazmę. Tworzyły one mniejsze lub większe skupiska. Indeks dojrzewania wahał się w granicach od 28/72/0 do 57/43/0.

Obok komórek nabłonkowych, w tle preparatu, dobrze widoczne były prawidłowe formy *Lactobacillus vaginalis*. Występowały one w dużej liczbie, miały niewielką długość i cylindryczny kształt. W rozmazach barwionych metodą Grama pałeczki te były Gram-dodatnie. Zwracały uwagę albo zupełny brak leukocytów, albo ich pojedyncze występowanie. W niektórych rozmazach można było spoznać pojedyncze Gram-dodatnie bakterie ziarenkowane.

Obliczona w p.w. mikroskopu 1000 × liczba prawidłowych pałeczek kwasu mlekowego u wszystkich kobiet grupy kontrolnej była większa niż 30 drobnoustrojów (4 punkty w skali Nugenta).

Oznaczona w tej grupie kobiet kwasota pochwy wskazywała wartości pH 4,0–4,4.

W podgrupie a (5–10 lat po menopauzie) obserwowano w rozmazach komórki ze wszystkich warstw nabłonka wielowarstwowego płaskiego z przewagą ko-

Tab. I. Wyniki badań

Grupa	Wskaźnik dojrzewania	pH	Skala Nugenta
k	28/72/0 57/43/0	4,0–4,4	4
a	3/82/15 7/68/25	5,0–6,1	3–4
b	2/77/21 5/66/29	5,0–6,1	3
c	2/78/20 4/66/29	5,5–6,5	2
d	1/74/25 3/37/60	5,5–7,0	0
e	1/45/47 0/20/80	6,1–7,0	0

k – grupa kontrolna; a, b, c, d, e – podgrupy badanych kobiet.

mórek warstwy pośredniej. Oglądane w mikroskopie fazowo-kontrastowym komórki przypodstawne były mniejsze od komórek pośrednich, miały kształt owalny, pęcherzykowate jądra i leżały w rozmazach pojedynczo lub w niewielkich skupieniach. Indeks dojrzewania w tej podgrupie wyniósł od 3/82/15 do 7/68/25 (tab. I), co oznaczało, że na 100 komórek 15–20 pochodziło z warstwy przypodstawnej i 3–7 z warstwy powierzchniowej.

Obecne w rozmazach pałeczki kwasu mlekowego różniły się między sobą wyglądem i wielkością. W treści pochwowej 7 kobiet występowały małe, średnie i duże morfologicznie prawidłowe formy *Lactobacillus vaginalis*. U pozostałych 5 kobiet, obok prawidłowych form pałeczek kwasu mlekowego, zaobserwowano ich formy polimorficzne. Rozgałęzione pałeczki układały się w preparacie na kształt chińskich liter.

W p.w. mikroskopu notowano 5–30 prawidłowych pałeczek kwasu mlekowego (3. i 4. stopień w skali Nugenta).

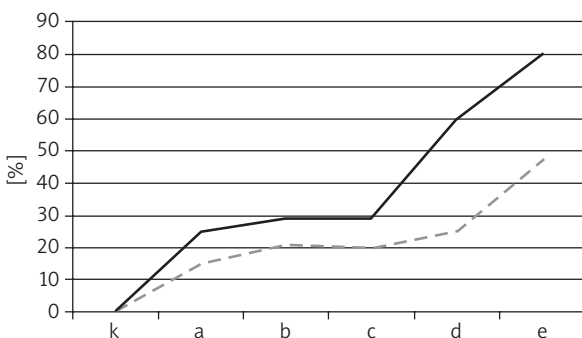
Wartości pH treści pochwowej w tej grupie kobiet wahały się w granicach 5,0–6,1.

W podgrupie b (10–15 lat po menopauzie) obserwowano w rozmazach komórki pochodzące ze wszystkich warstw nabłonka wielowarstwowego płaskiego z ogromną przewagą komórek warstwy pośredniej, większą liczbę niż w grupie poprzedniej komórek przypodstawnych i niewielką liczbę komórek powierzchniowych. Indeks dojrzewania wyniósł od 2/77/21 do 5/66/29.

W treści pochwowej 6 kobiet stwierdzono niewielką liczbę prawidłowych pałeczek kwasu mlekowego (5–10 w p.w. – 3. stopień w skali Nugenta), a większość obecnych w rozmazach pałeczek stanowiły formy polimorficzne i olbrzymie formy inwolucyjne.

U 8 kobiet tej podgrupy nie zaobserwowano prawidłowych pałeczek, a jedynie mniejszą lub większą liczbę form polimorficznych i inwolucyjnych. Wartości pH treści pochwowej wahały się w granicach 5,0–6,1.

W podgrupie c (15–20 lat po menopauzie) MI u poszczególnych kobiet wyniósł od 2/78/20 do 4/56/40. Większość komórek w rozmazach stanowiły komórki warstwy pośredniej nabłonka. Zanotowano większą niż w grupie poprzedniej liczbę komórek przypodstawnych.



k – grupa kontrolna, a, b, c, d, e – podgrupy badanych kobiet

Ryc. 1. Zawartość procentowa komórek przypodstawnych

W treści pochwowej 11 kobiet nie zaobserwowano prawidłowych form pałeczek kwasu mlekowego. Występowały tu tylko formy polimorficzne i inwolucyjne. W rozmazach 2 kobiet (spośród 13), obok form polimorficznych i inwolucyjnych, można było zaobserwować pojedyncze formy prawidłowe *Lactobacillus vaginalis*. W polu widzenia mikroskopu notowano 3–5 prawidłowych *Lactobacillus vaginalis* (2. stopień w skali Nugenta).

Wartości pH treści pochwowej wynosiły 5,5–6,5.

W podgrupie d (20–25 lat po menopauzie) obecne były w rozmazach pojedyncze komórki z warstwy powierzchniowej i liczne z warstwy przypodstawnej oraz pośredniej. Indeks dojrzewania wyniósł u tych kobiet od 1/74/25 do 3/37/60.

W rozmazach obecne były tylko polimorficzne i inwolucyjne pałeczki kwasu mlekowego (0. stopień Nugenta). Oznaczone wartości pH w tej podgrupie wyniosły 5,5–7,0.

W podgrupie e (ponad 25 lat po menopauzie) obserwowano w rozmazach 6 kobiet pojedyncze komórki powierzchniowe (MI u tych kobiet wyniósł 1/45/54). U 9 kobiet (spośród 15) notowano tylko komórki przypodstawne i komórki warstwy pośredniej nabłonka wielowarstwowego płaskiego (MI wyniósł w tych przypadkach od 0/53/47 do 0/20/80). W tle rozmazu w 6 przypadkach zaobserwowano pojedyncze inwolucyjne i polimorficzne pałeczki kwasu mlekowego. W rozmazach 9 kobiet pałeczki były nieobecne (0. stopień w skali Nugenta). Wartości pH wahały się w granicach 6,1–7,0.

Omówienie wyników i dyskusja

Oglądane w mikroskopie fazowo-kontrastowym obrazu cytologiczne rozmazów pochwojących pobranych u kobiet grupy badanej różniły się znacznie od obrazów obserwowanych u kobiet grupy kontrolnej. W rozmazach grupy kontrolnej obecne były komórki dwóch warstw nabłonka wielowarstwowego płaskiego – powierzchniowej i pośredniej. Brak było komórek przypodstawnych. Natomiast w rozmazach kobiet grupy badanej, w miarę upływu lat od menopauzy, nie tylko pojawiały się komórki przypodstawne, ale ich liczba stopniowo zwiększała się do tego stopnia, że gdy w podgrupie kobiet 5–10 lat po menopauzie MI wynosił 3/82/15 do 7/68/25 (tab. I), to w podgrupie najstarszej (ponad 25 lat po menopauzie) składowe MI przesunięte były wyraźnie na korzyść komórek warstwy przypodstawnej (0/53/47 do 0/20/80). Analizując dane przedstawione na rycinie 1., można zauważyć, że u każdej kobiety grupy badanej zawartość procentowa komórek przypodstawnych w rozmazach była zawsze równa lub wyższa od 15%. Milsom i wsp. [10] twierdzą, że o niedoborze estrogenów w ustroju świadczy więcej niż 5% komórek przypodstawnych w rozmazie. Hustin i Van den Eynde [27] oraz Fantl i wsp. [28] zaobserwowali, że wzrastająca wraz z wiekiem, w okresie po menopauzie, liczba komórek przypodstawnych znacznie spada w rozmazach po wdrożeniu terapii hormonalnej.

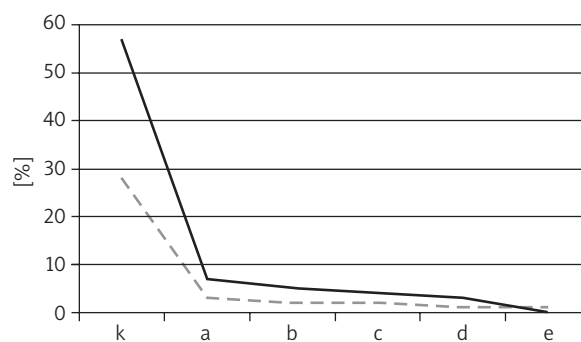
Współzależność taką nie do końca widzieli James i wsp. [29] oraz Sjöberg i wsp. [21]. Notowali oni niekiedy brak korelacji pomiędzy procentową zawartością w rozmazie komórek przynależnych i wiekiem kobiety.

W badaniach własnych zwrócono również uwagę na niewielki odsetek stwierdzanych w rozmazach komórek powierzchniowych. U żadnej kobiety grupy badanej procentowa zawartość komórek powierzchniowych w rozmazach nie przekroczyła 7%. Taką wartość zanotowano tylko u kilku kobiet w grupie 5–10 lat po menopauzie. W następnej podgrupie kobiet starszych wartości te nie przekroczyły 5% i w miarę starzenia się kobiet obserwowano w rozmazach tylko pojedyncze komórki powierzchniowe – aż do wartości zerowych w grupie najstarszej (ryc. 2).

Zamieszczone w tabeli I i na rycinie 2. dane wskazują, że stwierdzenie w rozmazie pochwowym 7% i mniej komórek powierzchniowych jest charakterystyczne dla kobiet w wieku ponad 5 lat po menopauzie. Przedstawione wyniki są w przybliżeniu zgodne z obserwacjami Milsom i wsp. [9], którzy w badanym materiale własnym w żadnym przypadku nie zanotowali u kobiet po menopauzie więcej niż 5% komórek w rozmazie. Wspomniani autorzy zaobserwowali, że zmniejszająca się liczba komórek powierzchniowych korelowała ze wzrastającymi wartościami pH środowiska pochwy. Z tabeli I wynika też, że w badanej grupie kobiet, wraz ze spadkiem w rozmazach liczby komórek powierzchniowych, w miarę upływu lat od menopauzy zwiększały się wartości pH pochwy w granicach 5,0–7,0.

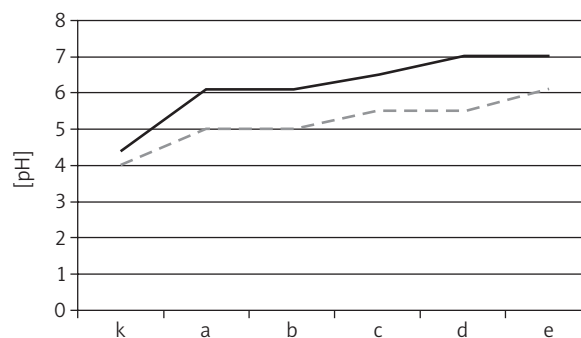
Zachowanie się pH pochwy w poszczególnych podgrupach kobiet przedstawia rycina 3. Wynika z niej, że u wszystkich kobiet, począwszy od 5 lat po menopauzie, oznaczone wartości kwasoty pochwy nie spadały nigdy poniżej pH 5,0 i wzrastały w miarę starzenia się, a w podgrupie kobiet w wieku ponad 25 lat po menopauzie pH wynosiło 6,1–7,0.

Zaobserwowano, że wraz z upływem lat po menopauzie zmniejszała się liczba prawidłowych pałeczek kwasotwórczych w pochwie. Wraz ze spadkiem liczby prawidłowych pałeczek pojawiały się stopniowo ich formy polimorficzne i inwolucyjne (tab. I). U kobiet w wieku 15–20 lat po menopauzie nie notowano już prawidłowych *Lactobacillus vaginalis* w rozmazach. Po 25 latach od menopauzy zniknęły też ze środowiska formy polimorficzne i inwolucyjne. U większości kobiet w tym wieku nie było w treści pochwowej jakiegokolwiek flory bakteryjnej. Obserwacje te zgodne są z obserwacjami Kuczyńskiej [18], która zanotowała, że u kobiet z deficytem estrogenowym dochodziło do znikania ze środowiska pochwy drobnoustrojów *Lactobacillus vaginalis*. Zanik ten poprzedzony był pojawianiem się w pochwie ich form polimorficznych i inwolucyjnych. Kuczyńska i wsp. [16] zaobserwowali, że leczenie hormonalne zapewniało ciągłość bytowania prawidłowych morfotypów *Lactobacillus vaginalis* u kobiet po menopauzie. Po leczeniu hor-



k – grupa kontrolna, a, b, c, d, e – podgrupy badanych kobiet

Ryc. 2. Zawartość procentowa komórek powierzchniowych



k – grupa kontrolna, a, b, c, d, e – podgrupy badanych kobiet

Ryc. 3. pH pochwy

monalnym wspomniani autorzy zaobserwowali u kobiet w senu ponowną kolonizację błony śluzowej pochwy pałeczkami kwasotwórczymi.

Przedstawione wyniki badań pozwalają na wysunięcie sugestii, że u kobiet, po wykluczeniu stanu zapalnego pochwy, począwszy od 5 lat po menopauzie, zawartość komórek przynależnych w rozmazach była zawsze wyższa od 15% i korelowała ze stopniowo wzrastającym pH środowiska pochwy od 5,0 u kobiet 5 lat po menopauzie do 7,0 u kobiet najstarszej podgrupy (ponad 25 lat po menopauzie). W miarę upływu lat po menopauzie stopniowo zniknęły ze środowiska pochwy prawidłowe pałeczki kwasotwórcze. Zastępowane były one przez formy polimorficzne i inwolucyjne, które obserwowano w pochwie do 25 lat po menopauzie. Po upływie tego okresu wspomniane formy zniknęły z pochwy zupełnie.

Wnioski

Analiza przedstawionych powyżej wyników badań pozwala na wysunięcie następujących sformułowań:

1. Oglądanie rozmazów pochwy w mikroskopie fazowo-kontrastowym jest szybkim i dokładnym sposobem ilościowej oceny zachowania się poszczególnych rodzajów komórek nabłonka wielowarstwowego

płaskiego pochwy i oceny jej kolonizacji pałeczkami kwasotwórczymi *Lactobacillus vaginalis*.

2. Stwierdzenie w rozmazach pochwowych ponad 15% komórek pochodzących z warstwy przypodstawnej i nie więcej niż 7% komórek powierzchniowych nabłonka wielowarstwowego płaskiego oraz wartości kwasoty środowiska pochwy powyżej pH 5,0 jest charakterystyczne dla kobiet w okresie ponad 5 lat po menopauzie.
3. W przebiegu starzenia się kobiet, począwszy od 5 lat po menopauzie, w miarę upływu lat znikają z pochwy prawidłowe formy *Lactobacillus vaginalis* i stwierdza się bytujące w pochwie tylko formy polimorficzne i inwolucyjne oraz zupełny ich brak u kobiet w senu (ponad 25 lat po menopauzie).

Piśmiennictwo

1. Donders G, Slabbaert K, Vancalsteren K, et al. Can vaginal pH be measured from the wet mount slide? Eur J Obstet Gynecol Repr Biol 2009; 146: 100-3.
2. Malarewicz A, Szymkiewicz J. Zastosowanie mikroskopii fazowo-kontrastującej – sposób na poprawę czułości i swoistości badania cytoonkologicznego. W: Paszkowski T (red.). Zapobieganie szkodom jatrogennym w położnictwie i ginekologii. Instytut Zastosowań Techniki, Lublin 2004; 101-5.
3. Malarewicz A, Florczak K, Szymkiewicz J. Wprowadzenie mikroskopii fazowo-kontrastowej w tok badania kolposkopowego. Studia Medyczne 2010; 17: 7-15.
4. Malarewicz A, Szymkiewicz J, Soszka T, Rogala J. Występowanie clue cells w rozmazach pochwowych kobiet po menopauzie. Ocena w mikroskopie fazowo-kontrastowym. Przegl Menopauz 2008; 2: 77-80.
5. Florczak K, Gross M, Kałużna M, et al. Cytologia fazowo-kontrastowa w diagnostyce atrofii pochwy i szyjki macicy. Gin Prakt 2007; 15: 2-10.
6. García-Closas M, Herrero R, Bratti C, et al. Epidemiologic determinants of vaginal pH. Am J Obstet Gynecol 1999; 180: 1060-5.
7. Nilsson K, Risberg B, Heimer G. The vaginal epithelium in the postmenopause-cytology, histology and pH as methods of assessment. Maturitas 1995; 21: 51-6.
8. Malander U, Milsson I, Ekelund P, et al. Effect of oral oestriol on vaginal flora and cytology and urogenital symptoms in the post-menopause. Maturitas 1990; 12: 113-20.
9. Malander U. Urinary incontinence and related urogenital symptoms in elderly women. Acta Obstet Gynecol Scand Suppl. 1993; 158: 1-22.
10. Milsom J, Arvidsson L, Ekelund P, et al. Factors influencing vaginal cytology, pH and bacterial flora in elderly women. Acta Obstet Gynecol Scand 1993; 72: 286-91.
11. Brizzolara S, Killeen J, Severino R. Vaginal pH and parabasal cells in postmenopausal women. Obstet Gynecol 1999; 94: 700-3.
12. Caillouette JC, Sharp CF Jr, Zimmerman GJ, Roy S. Vaginal pH as a marker for bacterial pathogens and menopausal status. Am J Obstet Gynecol 1997; 176: 1270-7.
13. Hammond D. Cytological assessment of climacteric patients. Clin Obstet Gynecol 1977; 4: 49-70.
14. Malarewicz A. Ilustrowana cytodiagnostyka ginekologiczna. Polska Oficyna Wydawnicza BGW, Warszawa 1994.
15. Kuczyńska K. Biocenoza pochwy kobiet w świetle mikrobiologicznych badań treści pochwowej. Med Dośw Mikrobiol 1993; 45: 361-71.
16. Kuczyńska K, Wołczyński S, Janusik-Gacuta M, Zbroch T. Wpływ hormonalnej terapii zastępczej na biocenozę pochwy kobiet w okresie okołoi postmenopauzalnym. Gin Pol 2001; 72: 816-24.
17. Szamatowicz M. Zmiany atroficzne sromu i pochwy u kobiet. Medipress Ginekologia, Położnictwo 1998; 4: 22-5.
18. Kuczyńska K. Występowanie i morfologiczne właściwości *Lactobacillus vaginalis* w różnych okresach życia organizmu żeńskiego. Gin Pol 1973; 44: 859-67.
19. Donders GG, Caeyers T, Tydhof P, et al. Comparison of two types of dipsticks to measure vaginal pH in clinical practice. Eur J Obstet Gynecol Repr Biol 2007; 134: 220-4.
20. Malarewicz A, Florczak K. Cytologia fazowo-kontrastowa w diagnostyce ginekologicznej. Digital Medicine in the Future, Gdańsk 2006.
21. Sjöberg I, Cajander S, Rylander E. Morphometric characteristics of the vaginal epithelium during the menstrual cycle. Gynecol Obstet Invest 1988; 26: 136-44.
22. Ludwin I, Ludwin A, Basta A. Wpływ mikroflory pochwy na obecność i utrzymywanie się w czasie 3-letniej obserwacji atypowych komórek płaskonabłonkowych (ASC) oraz atypowych komórek gruczolowych (AGC) w rozmazach szyjkowych. Gin Pol 2010; 81: 364-9.
23. Malarewicz A. Ujednolicenie postępowania w rozpoznawaniu zakażeń szyjki macicy i pochwy. Studia Medyczne Akademii Świętokrzyskiej 2003; 1: 55-9.
24. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, et al. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. Am J Medicine 1983; 74: 14-22.
25. Malarewicz A. Cytodiagnostyka patologii szyjki macicy. Blackhorse, Warszawa 2002.
26. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. J Clin Microbiol 1991; 29: 297-301.
27. Hustin J, Van den Eynde J. Cytologic evaluation of the effect of various estrogens given in postmenopause. Acta Cytol 1977; 21: 225-8.
28. Fantl JA, Bump RC, Robinson D, et al. Efficacy of estrogen supplementation in the treatment of urinary incontinence. The Continence Program for Women Research Group. Obstet Gynecol 1996; 88: 745-9.
29. James CE, Breeson AJ, Kovacs G, et al. The symptomatology of the climacteric in relation to hormonal and cytological factors. Br J Obstet Gynaecol 1984; 91: 56-62.