

ЗНАЧЕНИЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН С БАКТЕРИАЛЬНЫМ ВАГИНОЗОМ В ПРЕДУРЕЖДЕНИИ РЕЦИДИВОВ ЗАБОЛЕВАНИЯ

**ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России», кафедра акушерства и гинекологии, г. Томск*

Ключевые слова: рецидивирующий бактериальный вагиноз, беременность, неспецифический иммунитет.

Резюме: Профилактическое лечение беременных женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом рекомбинантным человеческим интерфероном альфа-2b оказывает модулирующее влияние на неспецифический иммунитет влагалища усиливая выработку HBD-2, ИЛ-6, ИЛ-10, ИНФ-γ и способствуя увеличению содержания лактобактерий, что может быть использовано при лечении пациенток с рецидивирующим бактериальным вагинозом.

Resume: The prophylactic treatment of pregnant women with recurrent bacterial vaginosis with recombinant human interferon alfa-2b affected on the vaginal innate immunity by enhancing the production of HBD-2, IL-6, IL-10, IFN-γ and lactobacillus. It can be used in treatment patients with recurrent bacterial vaginosis.

Актуальность. Бактериальный вагиноз (БВ) во время беременности является не только основной причиной нарушения биоценоза женского репродуктивного тракта, но и может приводить к развитию таких осложнений беременности как преждевременные роды, преждевременный разрыв плодных оболочек, хориоамнионит, внутриутробное инфицирование, рождение детей с низкой массой тела [1].

Основной причиной рецидивирующего течения бактериального вагиноза является недостаточность функции неспецифического иммунитета влагалища, в частности его антимикробного, цитокинового и бактериального звеньев [5]. Являясь самостоятельными компонентами общей системы, они, в то же время, способны взаимодействовать между собой, повышая эффективность защиты организма при внедрении патогена [2]. Бактериальное звено, представленное лактобациллами, играет важную роль в поддержании нормального биоценоза половых путей женщины, и создает условия для адекватного функционирования неспецифического иммунитета влагалища [3, 4].

Ведение беременных женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом представляет особую проблему. В настоящее время отсутствуют обоснованные методы противорецидивного лечения данного заболевания у женщин в период гестации, что возможно, обусловлено недостаточностью знаний о причинах возникновения повторных эпизодов вагиноза. Разработка таких методов является актуальной задачей современного акушерства, поскольку способствует оптимизации тактики ведения пациенток и улучшению перинатальных исходов.

Цель: изучение особенностей неспецифического иммунитета влагалища у беременных женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом.

Задачи: Провести анализ показателей неспецифического иммунитета влагалища у беременных женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом до и после профилактического лечения препаратом рекомбинантного человеческого интерферона альфа-2b и сравнить эти показатели со здоровыми женщинами в период гестации.

Материал и методы исследования. В исследование были включены 80 беременных женщин в сроке гестации $14,8 \pm 2,0$ нед (от 13 до 20 нед), которые составили две группы наблюдения. В основную группу вошли 40 пациенток с рецидивирующим бактериальным вагинозом в период ремиссии, с наличием как минимум двух эпизодов бактериального вагиноза за истекший период гестации. Здоровые беременные женщины ($n=40$) составили контрольную группу наблюдения. В исследование не включались беременные женщины с наличием инфекционно-воспалительных заболеваний нижнего отдела репродуктивного тракта другой этиологии, в числе которых заболевания передающиеся половым путем, кандидоз, аэробные вагиниты.

Забор материала для лабораторного исследования осуществляли на этапе включения. В основной группе контрольный анализ проводили спустя 2 недели после профилактического лечения, с использованием препарата рекомбинантного человеческого интерферона альфа-2b (Генферон Лайт), применяемого по 1 суппозиторию (250 000 МЕ) интравагинально 2 раза в день в течение 10 дней

Проводили анализ клинических и лабораторных характеристик биоценоза, качественного и количественного состава влагалищной флоры, определение содержания β -дефензина-2 (HBD-2), интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-10 (ИЛ-10), интерферона- γ (ИНФ- γ) в смывах из влагалища. Количественную и качественную оценку микрофлоры влагалища осуществляли методом полимеразной цепной реакции. Содержание микроорганизмов выражали в виде десятичного логарифма абсолютного количества ДНК. Относительное количество отдельных видов бактерий вычисляли как логарифм отношения определяемого микроорганизма к величине общей бактериальной массы (ОБМ). Состояние нормоценоза определялось содержанием лактобактерий. При этом логарифм содержания лактобактерий в значениях от 0 до -0,1 расценивали как состояние нормоценоза. Величины от -0,1 до -0,7 соответствовали состоянию умеренного дисбиоза, показатели менее -0,8 характеризовали состояние выраженного дисбиоза. Содержание анаэробов в значениях менее -2 расценивалось как доля этих бактерий в ОБМ менее 1%. Величины от -2 до -1, от -1 до -0,4, и от -0,4 и выше указывало на долю анаэробов в ОБМ 1-10%, 10-40% и более 40% соответственно.

Определение уровня HBD-2 и цитокинов проводили с помощью иммуноферментного анализа наборами ELISA и Bender MedSystems (БиоХимМак) по рекомендуемой производителями методике.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью лицензионной программы Statistica 8,0 (StatSoft). Использовались методы описательной статистики с вычислением центральных тенденций и их размаха для ко-

личественных переменных, процентной доли признака для качественных данных. Результаты выражали в виде медианы и интерквартильного интервала, среднего арифметического, его стандартного отклонения и в процентах. Для сравнения исследуемых групп по количественным переменным применяли непараметрический критерий Манна-Уитни для независимых выборок и Вилкоксона для зависимых групп. По качественным признакам группы сопоставляли с использованием критерия χ^2 Пирсона. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Беременные женщины, вошедшие в исследование, не отличались по возрасту и паритету. Исследование лабораторных критериев бактериального вагиноза показало присутствие отдельных признаков дисбиоза у женщин основной группы в отличие от контрольной. При сравнении пациенток с рецидивирующим БВ до и после профилактического лечения, статистически значимой разницы не было получено (табл. 1).

Таблица 1. Присутствие отдельных лабораторных критериев Амселя у беременных женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом до и после профилактического лечения и у здоровых женщин в период гестации

Критерии	Основная группа (n=40)		p*	Контрольная группа (n=40)	p#
	До лечения	После лечения			
pH влагалища > 4,4	32 (80,0%)	30 (75,0%)	0,480	6 (17,5%)	<0,001
Ключевые клетки	11 (27,5%)	9 (22,5%)	0,617	5 (12,5%)	0,096
Положительный аминный тест	13 (32,5%)	11 (27,5%)	0,614	3 (7,5%)	0,005

* - сравнение между пациентками основной группы до и после лечения (здесь и далее).

- сравнение между пациентками основной группы до лечения и пациентками контрольной группы (здесь и далее).

Наличие изолированных лабораторных признаков дисбиоза влагалища свидетельствует о существовании повышенного риска возникновения очередного эпизода заболевания. Отсутствие статистически значимых различий данных характеристик у женщин до и после лечения, вероятно, свидетельствует о предопределяющей роли микроорганизмов влагалища в создании биоценоза.

Среди большого количества бактерий в женском репродуктивном тракте, главная роль в создании нормальной флоры во влагалище принадлежит лактобактериям. В настоящем исследовании не смотря на значительное снижение общего количества лактобацилл у пациенток с рецидивирующим БВ, после лечения наблюдалось статистически значимое увеличение содержания лактобактерий без изменения ОБМ (табл. 2).

Таблица 2. Содержание лактобактерий и общая бактериальная масса во влагалище у беременных женщин исследуемых групп

Показатели, lg	Основная группа (n=40)		p*	Контрольная группа (n=40)	p#
	До лечения	После лечения			
Общая бактериальная масса	7,0±0,6	7,1±0,3	0,082	7,6±0,3	<0,001
<i>Lactobacillus spp.</i>	6,7±0,5	6,9±0,3	<0,001	7,6±0,2	<0,001

При этом если у 80% женщин основной группы до лечения выявлялся умеренный дисбиоз, то после воздействия препарата интерферона данный показатель уменьшился до 67,5 % (p<0,001), за счет увеличения частоты нормоценоза.

Преобладающими видами лактобактерий являлись *L. crispatus* и *L. iners* в контрольной и основной группах соответственно. После профилактической терапии произошло увеличение абсолютных значений обоих видов лактобактерий. Но, не смотря на это, уровень *L. crispatus* у пациенток основной группы был значительно ниже, чем у здоровых беременных женщин (табл. 3).

Таблица 3. Содержание отдельных видов лактобактерий во влагалище у беременных женщин исследуемых групп

Показатели, lg	Основная группа (n=40)		p*	Контрольная группа (n=40)	p#
	До лечения	После лечения			
<i>L. crispatus</i>	5,8±1,3	6,5±0,8	0,001	7,5±0,2	<0,001
<i>L. iners</i>	6,2±0,9	6,6±0,7	<0,001	4,3±0,9	<0,001

При этом у пациенток основной группы с нормоценозом после лечения содержание *L. crispatus* было значительно выше (lg=7,1±0,4), а *L. iners* ниже (lg=5,6±1,4), в сравнении с остальными женщинами, биоценоз которых рассматривался как умеренный дисбиоз. К тому же, прослежена ассоциация между высоким содержанием *L. iners* и значением pH влагалищного содержимого более 4,4, что объясняет изменение кислотности влагалища у большей части женщин в период ремиссии.

У беременных женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом имеются особенности микрофлоры влагалища, характеризующиеся увеличением относительного содержания видов *Megasphaera*, *Veilonella*, *Dialister*, *Sneathia*, *Leptotrihia*, *Fusobacterium*. Изучение влияния препарата интерферона на анаэробные микроорганизмы не показало статистически значимого уменьшения их количества (табл. 4).

Таблица 4. Относительное содержание анаэробных микроорганизмов во влагалище у беременных женщин исследуемых групп

Виды бактерий, lg[N/ОБМ]*	Основная группа (n=40)		p*	Контрольная группа (n=40)	p#
	До лечения	После лечения			

Gardnerella vaginalis/ Prevotella bivia/ Porphyromonas spp.	-2,6±0,7	-2,7±0,4	0,095	-3,0±0,5	0,067
Atopobium vaginae	-2,6±0,8	-2,7±0,6	0,066	-2,9±0,4	0,078
Mobiluncus spp./ Corynebacterium spp.	-2,7±0,7	-2,8±0,4	0,646	-3,1±0,7	0,118
Megasphaera spp./ Veilonella spp./ Dialister spp.	-0,7±0,3	-0,9±0,6	0,055	-3,6±0,7	<0,001
Sneathia spp./ Leptotrihia spp./ Fusobacterium spp.	-0,9±0,2	-0,9±0,3	0,813	-3,6±0,7	<0,001
Eubacterium spp.	-2,8±0,7	-2,9±0,5	0,823	-3,1±0,4	0,086
Peptostreptococcus spp.	-2,7±0,7	-2,8±0,4	0,502	-3,0±0,3	0,215
Lachnobacterium spp./ Clostridium spp.	-2,7±1,0	-2,7±0,7	0,838	-3,0±0,4	0,144

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

При сравнении основной и контрольной групп по уровню ИЛ-6, ИЛ-10, ИНФ- γ , HBD-2 до начала терапии выявлено статистически значимое уменьшение количества изученных цитокинов и антимикробного пептида у беременных женщин с рецидивирующим БВ. На фоне проводимого в последующем профилактического лечения препаратом интерферона альфа-2 β наблюдалось увеличение концентрации во влагалище как про- так и противовоспалительных цитокинов, наряду с ростом содержания HBD-2 (табл. 5).

Таблица 5. Содержание ИЛ-6, ИЛ-10 и ИНФ- γ , HBD-2 во влагалище у беременных женщин исследуемых групп, Ме [25%-75%]

Показатели	Основная группа (n=40)		p*	Контрольная группа (n=40)	p#
	До лечения	После лечения			
ИЛ-6, пг/мл	0 [0-13,5]	0,9 [0-19,8]	<0,001	19,6 [0-32,4]	0,001
ИНФ- γ , пг/мл	3,5 [0-15,5]	4,0 [0-17,4]	0,009	9,3 [0-31,1]	0,012
ИЛ-10, пг/мл	14,0 [0-43,6]	21,7 [0-53,4]	<0,001	35,9 [0-63,2]	0,040
HBD-2, пг/мл	284 [0-762,0]	738,5 [73,0-948,0]	<0,001	1409,5 [312-1709,5]	<0,001

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

При оценке степени изменения концентраций изучаемых факторов неспецифического иммунитета у пациенток с рецидивирующим БВ на фоне интерферонотерапии отмечено почти трехкратное увеличение уровня HBD-2. Концентрация противовоспалительного ИЛ-10 возросла в 1,5 раза, в то время как, уровни провоспалительных цитокинов ИНФ- γ и ИЛ-6 росли в меньшей степени (табл. 5). Выявленные изменения позволяют предположить о наличии иммуностимулирующего действия препарата интерферона на неспецифический иммунитет влагалища, при котором происходит активация

преимущественно противовоспалительного звена. При этом описанные изменения микрофлоры влагалища, вероятно, являются результатом взаимодействия бактериального, цитокинового и антимикробного звеньев неспецифического иммунитета влагалища, индуцированное интерфероном альфа-2 β .

Выводы. Таким образом, для пациенток с рецидивирующим бактериальным вагинозом в период ремиссии характерно наличие потенциального риска обострения заболевания, что проявляется состоянием умеренного дисбиоза, преобладанием *Lactobacillus iners* и отдельных видов анаэробов. Назначение препарата интерферона альфа-2 β приводит к увеличению содержания ИЛ-6, ИЛ-10 и ИНФ- γ , HBD-2, что, возможно, ведет к изменению в составе бактериальной флоры в сторону увеличения содержания лактобацилл и имеет значение в профилактике рецидивов бактериального вагиноза.

Литература

1. Bacterial vaginosis and adverse outcomes among full-term infants: a cohort study / A.S. Dingen, T.S. Fairfortune, S. Reed, C. Mitchell // BMC Pregnancy Childbirth. – 2016. – Vol. 16(1). - P. 278.
2. IL-10 inhibits while calcitriol reestablishes placental antimicrobial peptides gene expression / A. Olmos-Ortiz, N. Noyola-Martínez, D. Barrera, V. Zaga-Clavellina, E. Avila, A. Halhali, B. Biruete, F. Larrea, L. Díaz // J Steroid Biochem Mol Biol. – 2015. – Vol. 148. – P. 18
3. Lactobacillus crispatus mediates antiinflammatory cytokine interleukin-10 induction in response to Chlamydia trachomatis infection in vitro / A. Rizzo, M. Fiorentino, E. Buommino, G. Donnarumma, A. Losacco, N. Bevilacqua // Int J Med Microbiol. – 2015. – Vol.305(8). – P.815-27.
4. Lactobacillus crispatus strain SJ-3C-US induces human dendritic cells (DCs) maturation and confers an anti-inflammatory phenotype to DCs / S. Eslami, J. Hadjati, E. Motevaseli, R. Mirzaei, S. Farashi Bonab, B. Ansaripour, M.R. Khoramizadeh // APMIS. – 2016. - 124(8). P. 697-710.
5. Mendling W. Vaginal Microbiota // Adv Exp Med Biol. - 2016. – Vol. 902. – P. 83-93.