

**Рахматуллаева М.М.,
Султанова Н.А.**

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ПРОФИЛАКТИКЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ВАГИНОЗА У ЖЕНЩИН, ПРИМЕНЯЮЩИХ РАЗЛИЧНЫЕ ВИДЫ КОНТРАЦЕПЦИИ

Бухарский медицинский институт (ректор - проф. Ахмедов Р.М.)

За последнее десятилетие большую клиническую значимость приобрела проблема бактериальных инфекций влагалища, этиологическим агентом которых представлены условно- патогенные бактерии и грибы, являющиеся составной частью нормальной микрофлоры. Общеизвестна также высокая социальнобиологическая значимость этих инфекций, последствия которых негативно отражаются на менструальной, репродуктивной функции и в целом на качестве жизни женщины [1,4, 7].

Бактериальный вагиноз (БВ) представляет собой патологию экосистемы влагалища, вызванную дисбалансом, проявляющимся уменьшением количества ферментирующих лактобактерий с одновременным увеличением количества условно-патогенных микроорганизмов, что способствует развитию воспалительных заболеваний органов малого таза, создает благоприятные условия для колонизации мочевого тракта возбудителями инфекций, передаваемых половым путем (ИППП) и активации скрыто протекающих вирусных инфекций гениталий. Большинство из причин возникновения БВ связаны с истощением адаптационных и компенсаторных механизмов в различных звеньях системы иммунной защиты, способствуя формированию вторичных иммунодефицитных состояний. Эти состояния, как правило, и приводят к затяжному течению БВ со склонностью к частым рецидивам [6, 10].

Частота рецидивов бактериального вагиноза через 3-6 месяцев после лечения составляет 15-30%, а в течение 1 года рецидивы можно выявить у 50-70% пациенток [10]. Недостаточная эффективность применяемых методов лечения БВ, а также значительное число рецидивов, побуждает на поиск новых подходов к профилактике данной патологии. Учитывая вышеуказанные обстоятельства, обоснование профилактики бактериального вагиноза среди групп риска, в том числе среди женщин, применяющих различные методы контрацепции, является актуальным и, несомненно включает в себя изучение функциональной активности защитных барьеров организма.

Целью настоящего исследования явилось: определить клинико-диагностическое значение уровня провоспалительных цитокинов в развитии бактериального вагиноза у женщин, применяющих различные виды контрацепции.

Материал и методы. В обследование включены 110 женщин с бактериальным вагинозом, составившие основную группу и 10 женщин с нормальным состоянием микрофлоры влагалища, составившие

контрольную группу.

Критериями отбора в основную группу явились: репродуктивный возраст; отсутствие беременности и лактации; отсутствие системной и местной антибактериальной терапии в течение I месяца до настоящего обследования: исключение полового контакта в последние 72 часа до обследования; исключение ИППП; клинико-микроскопическое подтверждение диагноза БВ (наличие положительных диагностических критериев, предложенных R. Amsel).

Проведены микроскопическое исследование влагалищных мазков, окрашенных по Граму, культуральное исследование вагинального отделяемого на факультативноанаэробную флору и лактобактерии, определение провоспалительных цитокинов - интерлейкина-6 (IL-6) и фактора некроза опухоли-α (TNF-α) в крови и смывах из влагалища методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Учитывая показания и противопоказания к применению методов контрацепции женщины основной группы после лечения бактериального вагиноза распределены на группы:

I группа - 50 женщин, принимающие комбинированный оральный контрацептив «Риге-видон»;

II группа - 30 женщин с внутриматочной контрацепцией (ВМС Т Си380А);

III группа - 30 женщин, использующие барьерные методы контрацепции (презервативы).

Все женщины обследованы при первом обращении к врачу, в пролиферативную фазу менструального цикла. Повторные обследования проведены через 3 и 6 месяцев после применения контрацептивных средств.

Результаты и обсуждение. Анализ структуры жалоб больных БВ показал, что наиболее частыми были жалобы на повышенное количество выделений из половых путей (85,4%) и «рыбный» запах влагалищных выделений (82,3%). Несколько реже больные отмечали дискомфорт в области гениталий (20,8%), зуд или жжение в области влагалища (13,1%), дизурию (5,4%) и диспареунию (6,2%).

Следует особо обратить внимание на то, что 51,5% женщин имели перечисленные жалобы в течение 1-2 месяцев до момента обращения в клинику, 22,3% отмечали давность жалоб более 6 месяцев, 14,6% отмечали рецидивы, несмотря на неоднократные лечения, а 11,5% женщин не предъявляли никаких из вышеуказанных жалоб, хотя при этом имели патологический характер выделений из половых путей.

Клинические симптомы бактериального вагиноза проявлялись следующим образом: наблюдались

жидкие (94,6%), гомогенные (87,7%), обильные (73,8%), серо-белого цвета (65,4%) выделения из половых путей. При осмотре слизистой влагалища и влагалищной части шейки матки выявлена обычная бледно-розовая окраска их слизистой (62,3%), несколько реже легкая гиперемия влагалища без признаков воспалительной реакции (37,7%).

Характерные для БВ клиниколабораторные признаки - положительный аминный тест наблюдался у 95,4%, значения pH влагалищной среды в диапазоне 4,5-6 - у 72,3% и pH > 6 - у 27,7% женщин основной группы.

При микроскопическом исследовании влагалищных мазков, окрашенных по Граму выявлены: лейкоциты единичные (31,5%) и менее 10 в поле зрения (60,8%), эпителиальные клетки в умеренном (38,5%) и большом (60,0%) количествах, «ключевые клетки» (98,5%), микроорганизмы в большом (Ю'-Ю' в п/зр) (43,1%) и массивном (>10' в п/зр) (54,6%) количествах. Выявлено отсутствие или незначительное число лактобактерий в мазках, тогда как грамотрицательные палочки доминировали в 52,3%, представители кокковой микрофлоры в 31,6% мазках. Дрожжеподобные грибы рода *Candida* обнаружены в 16,1% мазках в виде почкующихся форм - промежуточной фазе вегетации.

Учитывая, что при микроскопии мазков можно выявить микроорганизмы, присутствующие в биоматериале в количестве, обычно превышающем 1(Г КОЕ/мл, диагностику БВ обоснованно можно базировать на данных микроскопии, так как при этой патологии морфотипы грамотрицательных анаэробных бактерий выявляются в мазках в массивном количестве, как ни при какой другой патологии [2]. Однако, морфотипы факультативно-анаэробных бактерий однотипны у многих видов и родов. Поэтому для характеристики факультативно-анаэробной части микробиоценоза и лактобактерий, которые по морфологии бывают сходными со многими видами грамположительных облигатно-анаэробных бактерий, мы проводили посев вагинального отделяемого.

Лактобактерии высевались в пограничной концентрации (10^6 - 10^7 КОЕ/мл) в 48,5% посевах. Кокковая микрофлора (*Staphylococcus spp.* и *Streptococcus spp.*) выделялась в 23,9% клинического материала, причем в 10,0% - выше 10^6 - 10^7 КОЕ/мл. *E.coli* превышала допустимые величины роста (< 10^4 КОЕ/мл) в 7,7% посевах, *Enterobacteriaceae* - в 2,3%. Дрожжеподобные грибы рода *Candida* выявлены в 16,1% посевах. Рост условно-патогенных микроорганизмов выше предельного уровня не сопровождался с воспалительной лейкоцитарной реакцией, что подтверждало состояние вагинального дисбиоза.

Как известно, неотъемлемыми модуляторами иммунного ответа являются цитокины, которые

регулируют разнообразные функции лимфоидной и миелоидной линий клеток и, связываясь со специфическими рецепторами на мембране клеток-мишеней, влияют на пролиферацию, дифференцировку, активацию и хемотаксис клеток [3]. Цитокины представляют собой семейство пептидов, к которым относятся интерлейкины, интерфероны, колониестимулирующие факторы, трансформирующие факторы роста, факторы некроза опухолей и ростовые факторы. Нарушения микробиоценоза запускают продукцию клетками цитокинов, что способствует развитию иммунной реакции, направленную на сохранение постоянства внутренней среды организма.

Фактор некроза опухоли- α - один из основных цитокинов, способных оказывать прямое повреждающее действие на клетки-мишени и лизировать клетки, инфицированные вирусом, является необходимым и в то же время достаточным индуктором местных и системных воспалительных реакций. Локальное повышение синтеза TNF α вызывает появление основных клинических симптомов воспаления, усиливает и пролонгирует воспалительные изменения за счет активации других клеток, способных секретировать цитокины, оксид азота, свободные радикалы кислорода, которые потенцируют воспалительный процесс и усугубляют повреждение тканей [3].

При инфекционном процессе последовательно секретируются TNF α , IL-1 и IL-6. Затем IL-6 начинает подавлять секрецию TNF α и IL-1, индуцирует секрецию белков острой фазы

воспаления, стимулирует гипоталамо- гипофизарно- надпочечниковую систему, окончательное созревание В-лимфоцитов в плазматические клетки. что способствует регуляции инфекционно- воспалительного процесса. В этом смысле IL-6 можно рассматривать и как провоспалительный, и как противовоспалительный цитокин [9].

У женщин контрольной группы уровень TNFα в сыворотке крови находился в пределах 16,6-36,3 пкг/мл, что в среднем составило 25,8±2,2 пкг/мл. У женщин с БВ уровень TNFα составил 116,0±11,3 пкг/мл. что в 4.5 раза выше контрольных значений (P<0,001).

В пролиферативной фазе менструального цикла в сыворотке крови практически здоровых женщин IL-6 содержался в среднем 33,5±1,9 пкг/мл с размахом индивидуальных значений от 23,7 до 44,2. У женщин с БВ уровень IL-6 составил 100,6±7,7 пкг/мл, что в 3 раза превышало контрольные показатели (P<0,001).

Известно, что возникновение, развитие и частота рецидивов бактериального вагиноза зависят от ряда факторов, решающим из которых является состояние местного иммунитета. Исходя из изложенного, нами было проведено исследование уровня цитокинов в смывах из влагалища. Уровни IL-6 и TNFα у женщин с БВ составили 146,3±9,4 и 171,5±10,6 пкг/мл, что соответственно в 3.8 и 5.8 раза выше значений контрольной группы (P<0,001).

Все женщины основной группы получили метронидазол перорально по 500 мг 2 раза в день и «Метрогил плюс» гель интравагинально в течение 5 дней. На втором этапе с целью восстановления микробиоценоза влагалища применялись свечи «Лактобактерии» интравагинально в течение 10 дней.

Дальнейшие наши исследования посвящены изучению динамики клинколабораторных показателей через 3 и 6 месяцев после лечения в зависимости от вида использованных контрацептивных средств.

После лечения БВ, подкрепленного трехмесячным приемом комбинированных оральных контрацептивов (КОК) у женщин I группы выявлено нивелирование критериев R. Amsel: отрицательный аминный тест, pH влагалищной среды ниже 4,5, отсутствие «ключевых» клеток в мазках. Общее количество микроорганизмов снизилось до 10^2 в п/зр в 82,0±5,4% мазках (P<0,001) за счет элиминации грамотрицательных палочек, кокков и грибов. Лактобактерии доминировали в 82,0±5,4% мазках.

Культуральное исследование, проведенное после трехмесячного приема КОК выявило позитивные качественные и количественные изменения в микробиоценозе влагалища, что выражалось, прежде всего, увеличением содержания лактобактерий с минимальных (< 10^4 КОЕ/мл) и пограничных (10^6 - 10^5 КОЕ/мл) значений до физиологических (> 10^7 КОЕ/мл) в 75,0±9,7% посевах, и после шестимесячного приема - в 80,0±6,7% посевах. Частота обнаружения *E. coli* снизилась до 5,0±4,9%, *Streptococcus spp.* - до 10,0±6,7% в гитах меньше 10^4 КОЕ/мл. Рост *Staphylococcus spp.* и *Enterobacteriaceae* не выявлен.

В отличие от других членов условно- патогенной микрофлоры после шестимесячного приема КОК наблюдался рост дрожжеподобных грибов рода *Candida* выше 10^4 КОЕ/мл в 20,0±8.9% посевах, т.е. у тех женщин, у которых они были обнаружены при исходном обследовании.

Таблица 1

Уровень цитокинов у женщин I группы

Группы	В сыворотке крови		В смывах	
	IL-6	TNFα	IL-6	TNFα
Контрольная группа	33,5±1,9	25,8±2,2	38,6±3,3	29,3±1,0
До презервативов	113,5±9,1***	116,0±11,3***	146,3±9,4***	171,5±10,6***
Через 3 мес (ВМС)	41,5±2,9***АЛЛ	29,0±1,3***ЛЛЛ	51,5±5,0***ЛЛЛ	32,9±1,2*АЛЛ
Через 6 мес. (ВМС)	52,6±2,4***ААА	32,1±1,8***ААА	60,6±3,0*ЛЛЛ	46,0±4,3***ЛЛЛ

* -различия относительно данных контрольной группы значимы (*-P<0,05, ***-P<0,001), А-различия относительно данных группы до приема КОК значимы (ААА-P<0.001)

Для выяснения причин, приводящих к усилению колонизации *Candida* и рецидиву дисбиоза мы обратили внимание на состояние иммунной защиты организма. Применение КОК способствовало нормализации уровня IL-6 и TNFα в сыворотке крови, и снижению во влагалищных смывах в 2,8 и 5,2 раза соответственно (табл.1).

Выявлено достоверное снижение уровня TNFα во влагалищных смывах после трехмесячного приема КОК (-0,67, P<0,05). Депрессия провоспалительного звена цитокинов дер

жалась и после шестимесячного приема контрацептива. Однако, в 20% случаях значения IL-6 и TNFα во влагалищных смывах были несколько повышенными.

Нами установлено, что увеличение популяции грибов *Candida* в вагинальном биотопе наблюдалось исключительно у женщин канди- доносителей с повышенным уровнем провос- палительных цитокинов. Исходя из этого можно сделать вывод, что развитие, течение и исход дисбиоза влагалища зависит не только от степени нарушения вагинального биотопа, но определяется, прежде всего, качеством и характером иммунного реагирования, в том числе состоянием местной защиты слизистой влагалища.

Полученные нами данные относительно грибов *Candida* согласуются с результатами исследований, проведенными рядом авторов, которые доказали, что экзогенно введенные эстрогены оказывают непосредственное стимулирующее воздействие на рост их биомассы. Увеличению их популяции также

способствуют особенности метаболизма и высокая адаптивная способность грибов *Candida* к условиям вагинального биотопа [7, 8].

У женщин II группы через 3 и 6 месяцев после установления ВМС признаков БВ, согласно критериям R. Amsel не выявлено. Лейкоциты в мазках были менее 10 в поле зрения (93,3±4,6%), общее число микроорганизмов в умеренном (10-10' в п/зр) количестве (83,3±6,8%), (P<0,001). Лактобактерии доминировали в 76,7±7,7% мазках.

Рост лактобактерий в физиологических значениях отмечался в 70,0±10.0% посевах. Условно-патогенные микроорганизмы (*Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *E. coli*) дали рост ниже 10⁴ КОЕ/мл.

Значения IL-6 и TNFα в крови и смывах из влагалища в большинстве случаев были сопоставимы с диапазоном колебаний уровня цитокинов практически здоровых женщин. Снижение уровня IL-6 и TNFα до контрольных значений наблюдалось у 80% женщин 2-ой группы. У 20% женщин уровень цитокинов был выше референтных значений (табл. 2).

Таблица 2

Уровень цитокинов у женщин II группы

Группы	В сыворотке крови		В смывах	
	IL-6	TNFα	IL-6	TNFα
Контрольная группа	33,5±1,9	38,6±3,3	25,8±2,2	29,3±1,0
До презервативов	100,6±7,0***	154,2±23,3***	95,8±9,6***	173,9±16,0***
Через 3 мес (ВМС)	55,9±6,5*** ^{ЛЛЛ}	56,3±3,4 ^{ЛАА}	39,7±3,3*** ^{ЛАЛ}	41,7±3,1 ^{ЛЛЛ}
Через 6 мес. (ВМС)	56,4±4,2*** ^{ЛЛЛ}	60,3±4,2 ^{ААА}	35,4±1,4*** ^{ЛЛ}	40,2±3,1*** ^{ЛЛА}

-различия относительно данных контрольной группы значимы (*-P<0,05, ***-P<0,001), ^Л-различия относительно данных группы до лечения значимы (^Л-P<0,05, ^{ААЛ}-P<0,001)

У женщин III группы, использующих как контрацептивное средство презервативы, выявлены отрицательный аминный тест, кислая среда влагалища (pH<4,5), лейкоциты менее 10 в поле зрения (93,3±4,6%), отсутствие «ключевых» клеток в мазках вагинального отделяемого. Общее количество микроорганизмов было умеренным в 73,3±8.1% мазках (P<0,001). Содержание лактобактерий выросло с минимальных и пограничных концентраций до физиологических в 70,0±10.0% посевах. Частота обнаружения и концентрация представителей условно-патогенной микрофлоры резко снизилась.

Уровни IL-6 и TNFα в крови и в смывах из

вагины достоверно снизились до контрольных значений (P<0,001) (табл. 3).

Таблица 3

Уровень цитокинов у женщин III группы

Группы	В сыворотке крови		В смывах	
	IL-6	TNFα	IL-6	TNFα
Контрольная группа	33,5±1,9	25,8±2,2	38,6±3,3	29,3±1,0
До презервативов	117,7±8,9***	107,8±15,1***	147,5±14,2***	166,2±15,5***
Через 3 мес (презервативы)	36,0±2,4*** ^{ЛЛА}	85±1,4*** ^{ЛЛ}	45,5±2,9*** ^{ЛЛЛ}	43,3±2,2*** ^{АЛЛ}
Через 6 мес. (презервативы)	41,7±2,8*** ^{ЛЛЛ}	38,8±1,2*** ^{ЛЛА}	47,1±3,6*** ^{ААА}	39,6±3,1*** ^{ААА}

*-различия относительно данных контрольной группы значимы (**-P<0,01, ***-P<0,001), ^А-различия относительно данных группы до использования презервативов значимы (^{ЛАА}-P<0,001)

Отмечалось достоверное снижение концентрации TNF α в смывах из влагалища после трехмесячного использования презервативов ($-0,14, P<0,05$).

Таким образом, проведенные исследования показали, что при бактериальном вагинозе наблюдаются изменения как со стороны клинико-лабораторных параметров, так и показателей системной и местной защиты организма. При адекватно проведенной терапии БВ и использовании контрацептивных мер, как правило, рецидива заболевания не происходит. И в этом плане изучение уровня медиаторов иммунного ответа является прогностическим критерием физиологических границ уровня интерлейкина-6 и фактора некроза опухоли.

По результатам изучения уровня IL-6 и TNF α , мы рассчитали пределы нормы согласно показателю $M\pm 25$, поскольку в этих пределах располагается свыше 95% вариант всего вариационного ряда. Такой подход позволил определить частоту отклонений от нормы изучаемых показателей в группе обследованных женщин. Оказалось, что для IL-6 в сыворотке крови уровень 45 пкг/мл и во влагалищных смывах - 50 пкг/мл является нижней границей нормы. Для TNF α в сыворотке крови уровень 50 пкг/мл и во влагалищных смывах - 55 пкг/мл являются референтными значениями. Т.е., у женщин, у которых уровни IL-6 и TNF α были равны или выше этих значений, наблюдался рецидив бактериального вагиноза: возобновлялись жалобы на обильные выделения с неприятным запахом, выделения становились жидкими, гомогенными или творожистыми и приобретали серо-белый цвет, отмечались «ключевые» клетки в мазках, повышение pH влагалищной среды и положительный аминный тест.

Таким образом, определение уровня IL-6 и TNF α дает важную информацию о состоянии иммунной

системы не только на момент обследования, но и позволяет прогнозировать степень излеченности бактериального вагиноза у женщин, использующих различные виды контрацепции, т.е. может служить надежным прогностическим и диагностическим критерием рецидивов бактериального вагиноза.

Выводы. Применение комбинированного орального контрацептива «Ригевидон» способствует нормализации IL-6 и TNF α в сыворотке крови и снижению во влагалищных смывах в 2,8 и 5,2 раза соответственно. После шестимесячного его приема в 20% случаях (а именно, у кандидоносителей) значения IL-6 и TNF α во влагалищных смывах превышают референтные значения, что свидетельствует о рецидиве дисбиоза влагалища.

Использование ВМС (Т Си 380А) после лечения БВ в течение 6 месяцев не приводит к нарушению микробиоценоза влагалища. При этом уровень провоспалительных цитокинов в сыворотке крови и влагалищных смывах снижается до контрольных значений у 80% женщин.

Применение презервативов способствует позитивным изменениям в микробиоценозе влагалища. Уровни IL-6 и TNF α в сыворотке крови и влагалищных смывах. Уровни IL-6 и TNF α в крови и в смывах из влагалища достоверно снизились до контрольных значений ($P<0,001$) и не имели тенденции к повышению в течение 6 месяцев использования презервативов.

Повышение уровня IL-6 в сыворотке крови более 45 пкг/мл и во влагалищных смывах - 50 пкг/мл, а также TNF α - в сыворотке крови выше 50 пкг/мл и во влагалищных смывах - 55 пкг/мл является фактором риска рецидива бактериального вагиноза и может рассматриваться как прогностический критерий.

Литература

1. Алекшеева Л.Ж., Абдукахарова М.Ф. Нормальная микрофлора влагалища и цервикального канала и ее функциональное значение // Медицинский журнал Узбекистана. - Ташкент, 2005. - №2. - С. 10-114.
2. Анкирская А.С., Муравьева В.В., Аюбян Т.Э., Байрамова Г.Р. Оценка чувствительности и специфичности ускоренных методов диагностики бактериального вагиноза // Клин. лаб. диагностика. - 1997. - №7. - С.41-45.
3. Долгушин И.И., Телешова Л.Ф., Савочкина А.Ю., Маркина О.В. Провоспалительные цитокины цервикального секрета и сыворотки крови у женщин с генитальной инфекцией // Микробиология. - 2004. - №4. - С.43-46.
4. Кира Е.Ф., Муслимова С.З. Современный взгляд на нетрансмиссионные инфекции «влагалища и вульвы» у женщин репродуктивного возраста // Акушерства и гинекологии. - Т. 2008. - №1. - С.3-6.
5. Мальцева Л.И., Шустова Л.В., Гафарова Е.А. Особенности применения различных внутриматочных контрацептивов у женщин с бактериальным вагинозом в анамнезе // Журнал акушерства и женских болезней. - 2009. - №1. - С.21-24.
6. Серов В.Н. и др. Современные представления о бактериальном вагинозе // Вопросы акушерства, гинекологии и перинатологии. - 2005. - Т.4, №1. - С.66-71.
7. Татарова Н.А., Петрова С.В. Состояние микробиоценоза влагалища у женщин репродуктивного возраста, использующих комбинированную гормональную контрацепцию // Гинекология. - 2009. - Т.11, №4. - С. 13-16.
8. Фадинова Ю.П. Влияние гормональной контрацепции на частоту и клинические особенности кандидозного вульвовагинита у женщин репродуктивного возраста // Проблемы мед. микологии. - 2008. - Т. 10. №2. - С.85-86.
9. Lyson K., McCann S.M. The effect of interleukin-6 on pituitary hormone release in vivo and in vitro // Neuroendocrinology. 1991. - Vol.54. - P.262-266.
10. Wilson J. Managing recurrent bacterial vaginosis // Sex. Transm. Infect. -2004. - Vol.80. - P.8-11.