

На правах рукописи

ИВАНЦИВ НАИРА САРКИСОВНА

**ВЛИЯНИЕ ВАГИНАЛЬНОГО ДИСБИОЗА НА ТЕЧЕНИЕ
БЕРЕМЕННОСТИ**

3.1.4. Акушерство и гинекология (медицинские науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Карахалис Людмила Юрьевна

Официальные оппоненты:

Зароченцева Нина Викторовна – доктор медицинских наук, профессор РАН (Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» Министерства здравоохранения Московской области), заместитель директора по науке.

Тапильская Наталья Игоревна – доктор медицинских наук, профессор (Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д. О. Отта»), отделение вспомогательных репродуктивных технологий, ведущий научный сотрудник.

Ведущее учреждение:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится « 28 » сентября 2022 г. в 14 часов на заседании диссертационного совета 21.2.016.03, созданного на базе ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения РФ (127473, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20/1)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (127206, г. Москва, ул. Вучетича, д.10а) и на сайте <http://dissov.msmsu.ru>

Автореферат разослан « ___ » _____ 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат медицинских наук

Васильев Александр Олегович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИССЕРТАЦИИ

Актуальность темы исследования. Вагинальная микробиота представляет собой экосистему, а любые её колебания и изменения состава, вызывают инфекции. Дисбиоз влагалища вызывает преждевременные роды (ПР) и невынашивание беременности. Сниженный рост лактобактерий (ЛБ) в вагинальной среде ассоциируется с развитием анаэробной флоры, восходящим внутриутробным инфицированием и дальнейшими осложнениями как беременности, так и родов [D.W. Hilbert, et al., 2016; F. Bretelle, et al., 2015; F. Bretelle, et al., 2015; B.D. Di Giulio, et al., 2015; V. Jespers, et al., 2015; D.H. Chang, et al., 2020].

Недоношенные новорожденные подвергаются высокому риску ранних осложнений, связанных с незрелостью органов и систем, а также неврологических расстройств и нарушения зрения и/или слуха. ПР являются одной из основных причин инвалидности, требующей многолетней реабилитации, которая не гарантирует повышения качества жизни, улучшения состояния здоровья, что требует больших затрат [S. Raz, et al., 2016; R. Romero, et al., 2014; N. Tabatabaei, et al., 2019; K. Hočevvar, et al., 2019].

Современные данные свидетельствуют о том, что к микробным нишам во время беременности присоединяется и плацента. Она содержит микробиом с низкой биомассой, установившийся на ранних сроках беременности, который варьирует в зависимости от инфекционного анамнеза матери, повышая риск антенатальной инфекции и ПР [Д.Г. Дадаева, 2019; Н.Т. Ding, et al., 2017; М.І. Petrova, et al., 2015; G. Gonzalez-Perez, et al., 2016; К.М. Antony, et al., 2016].

Считается, что вагинальные ЛБ повышают местный иммунитет, но конкретные механизмы этого процесса недостаточно изучены. Они могут бороться с патогенной и условно-патогенной флорой (УПФ) за пространство обитания, являясь её противовесом. Это позволяет использовать ЛБ в качестве препаратов терапии для улучшения микрофлоры влагалища. Несмотря на ряд исследований, понимание динамики изменения состава микробиоты влагалища во время беременности отсутствует, как и данные о влиянии

препаратов ЛБ на дисбиоз влагалища. Распространение ЛБ обратно пропорционально гестационному сроку, а УПФ чаще других микроорганизмов влагалища вызывает ПР [А.М. Самоукина, с соавт., 2016; Н.Т. Ding, et al., 2017; S.F. Gilbert, et al., 2015; E. Pelzer, et al., 2017; Н.Е. Vuong, E.Y. Hsiao, 2017], что обуславливает необходимость влиять на микробиоту влагалища беременных с ранних сроков гестации.

Степень разработанности темы.

Использование аутоштаммов ЛБ для коррекции микробиоты влагалища и лечения бактериального вагиноза до сих пор не применяется в практическом здравоохранении, в связи с дорогой и трудоемкой технологией [В.А. Несчисляев, с соавт., 2015; В.А. Мельников, с соавт., 2016]. Актуальна устойчивость ЛБ к антибиотикам [М.В. Николенко, с соавт., 2019; А.Ю. Лиманска, с соавт., 2017; А.К. Туякова, с соавт., 2017; М.М. Рахматуллаева, 2018; D.H. Martin, J.M. Marrazzo, 2016]. Изучено влияние микробиоты влагалища беременных только в I триместре на степень оксидативного стресса и аутофагии эпителиальных клеток [И.В. Опимах, 2017; D. Tyssen, et al., 2018; V. Fuochi, et al., 2019; I.M. Linhares, et al., 2019; A. Pino, et al., 2019]. Имеется наблюдение клинического случая [Н.И. Тапильская с соавт., 2016].

Однако, исследований, посвященных изменению влагалищного биотопа в течении всей беременности и его влиянию на её течение и исходы у беременных с дисбиозом и нормоценозом, не проводилось.

Цель работы: улучшить исходы беременности и родов при вагинальном дисбиозе.

Задачи исследования.

1. Изучить состав микробиоты влагалища в течение беременности при исходном нормоценозе и вагинальном дисбиозе на фоне циклического использования препарата лактобактерий.
2. Выявить изменения рН влагалищной жидкости у обследованных беременных, использующих и не использующих препараты лактобактерий.

3. Определить иммунный статус отделяемого влагалища у обследованных беременных в течение беременности.
4. Изучить влияние лактобактерий на течение беременности, родов и состояние новорожденных обследованных беременных.
5. На основании полученных данных создать программу ведения беременных с дисбиозом влагалища, внедрить её в практику и оценить влияние её на течение беременности.

Научная новизна.

Впервые проведено комплексное сравнительное исследование состояния влагалищного биотопа при использовании локально препарата лактобактерий в течение беременности при исходном дисбиозе влагалища и без использования препарата лактобактерий при исходном нормоценозе.

Определены в динамике роль и влияние лактобактерий на изменения длины цервикального канала, рН влагалищной жидкости и иммунный статус отделяемого влагалища при исходном его дисбиозе.

Оценена динамика изменений рН влагалищной жидкости, длины цервикального канала и иммунного статуса у беременных с исходным нормоценозом на фоне беременности.

Впервые проведена сравнительная оценка течения беременности, родов, а также состояния новорожденных у беременных с исходным дисбиозом влагалища во время гестации, использовавших препараты лактобактерий и без их использования при исходном нормоценозе.

Разработана и апробирована программа ведения беременных с дисбиозом влагалища, установленным в I триместре, и отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом, которая позволила снизить частоту осложнений беременности, и родов и улучшить неврологический статус новорожденных.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Состояние микробиоты влагалища во время беременности, целесообразно обозначить, как «вагинальное гестационное здоровье»,

влияющее на беременность, роды и послеродовый период, отметив особое влияние на него анамнеза (преморбидный инфекционный фон, характеристики менструального цикла, репродуктивный анамнез).

Определено, что женские родовые пути функционируют как активные экологические пространства, содержащие уникальную флору, состав которой зависит от количества и вида лактобактерий, влияющих на течение беременности и роды. На фоне использования препарата лактобактерий выявлен феномен замещения патогенов на лактобактерии, поддерживающие нормоценоз влагалища у беременных (*L. crispatus*, *L. rhamnosus*, *L. jensenii*, *L. gasseri*), причем обильный рост *L. crispatus* 10^8 КОЕ сочетался с обильным ростом *L. rhamnosus* 10^8 КОЕ.

Коррекция микробиоты влагалища с исходным его дисбиозом препаратами лактобактерий в течение беременности снижает частоту её осложнений (угрожающего выкидыша в 6,6 раза; ПР в 3 раза) и родов (АРД, $p=0,000$; ПРПО, $p=0,000$), способствует снижению в 15 раз частоты послеродовых инфекций и в 1,3 раза реже развивается неврологическая патология у новорожденных.

Методология и методы исследования.

Диссертационная работа была выполнена в 2016-2020 г.г. на кафедре акушерства, гинекологии и перинатологии ФПК и ППС Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России (ректор С.Н. Алексеенко), а также в Государственном бюджетном учреждении здравоохранения родильный дом женской консультации № 2, г. Краснодара (главный врач А.П. Сторожук). Выполнение исследования осуществлялось в рамках научных исследований кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии ФПК и ППС КубГМУ «Региональные аспекты здоровья семьи жителей Краснодарского края» (2015-2019 г.г), регистрационный номер НИОКР АААА-А16-116022610067-6 от 26.02.2016.

Положения, выносимые на защиту:

1. Установлено влияние штаммоспецифических особенностей лактобактерий (*L. crispatus*, *L. rhamnosus*, *L. jensenii*, *L. gasseri*), поддерживающих нормоценоз влагалища на иммунитет и экспрессию цитокинов: цитокиновый индекс коррелирует с *L. rhamnosus* ($R=0,371$) и *L. gassery* ($R=0,424$), что можно использовать для оценки риска возникновения неблагоприятных экосистем влагалища, изменения их видовой структуры и функции, влияющих на мать – плод – новорожденного.
2. В 1 группе выявлен феномен замещения одних лактобактерий на другие, характерные для нормоценоза (*L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. gasseri*), продуцирующие бактериоцины, вытесняющие УПФ, ЛБ активируют провоспалительные цитокины (ИЛ-1 β , $p^{1-2}=0,016$), нормализуя воспалительный процесс, влияя на цитокиновый индекс; во 2 группе исходно *L. delbrueskii* замещался *L. crispatus*, снижаясь к родам, ухудшая вагинальное гестационное здоровье, подтвержденное корреляцией между *L. iners*, встречающейся в 4 раза чаще при дисбиозе, и рН влагалищной жидкости $R= -0,420$; между *L. iners*, подавляющей локальный иммунитет, и цитокиновым индексом, $R= -0,389$.
3. Интравагинальные лактобактерии снижает частоту угрожающего выкидыша с 13,2% до 2,0%; преждевременные роды с 6,1% до 2,0%, аномалии родовой деятельности с 57,9% до 33,3% ($p=0,0001$), преждевременный разрыв плодных оболочек с 54,4% до 30,6% ($p=0,0001$), уменьшают частоту послеродовых инфекций мам с 10,5% до 0,7% ($p=0,000$) и новорожденных с 16,7% до 3,4% ($p=0,000$).

Апробация и внедрение результатов в практику.

Апробация диссертационной работы проведена на совместном заседании кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии ФПК и ППС и кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии ФГБОУ ВО КубГМУ МЗ

России 13 05 2020 г, протокол №8. Результаты исследования используются в работе ГБУЗ родильный дом женская консультация № 2 Министерства здравоохранения Краснодарского края (350015, г. Краснодар, ул. Кузнечная 167/1), что подтверждается актами внедрения. Материалы диссертации используются в учебном процессе у клинических ординаторов, аспирантов, курсантов ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» МЗ России (350063, г. Краснодар, ул. Митрофана Седина, 4).

Личный вклад автора в проведение исследования.

Автор лично выполнил отбор беременных пациенток для исследования, провел сбор анамнеза, оценку клинической картины угрожающего прерывания беременности, состояния влагалищного биотопа, провел анализ результатов лабораторных методов исследования. Результаты клинко-лабораторных показателей, инструментальных исследований проанализированы в соответствии с критериями, разработанными аспирантом самостоятельно для формирования исследовательской базы данных и статистической обработки материала.

Апробация диссертации

Апробация диссертации состоялась на совместном заседании кафедр акушерства, гинекологии и перинатологии ФПК и ППС и акушерства, гинекологии и перинатологии ФГБОУ ВО КубГМУ МЗ России (протокол № 14 от 29 06 2021 г.)

Программа ведения беременности у женщин с отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом и нарушением вагинального гомеостаза, практические рекомендации полученные в результате проведенного исследования внедрены и используются в учебном процессе, в лекционных и клинических практических занятиях кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии ФПК и ППС ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Минздрава России, в практической деятельности ГБУЗ родильный дом женской консультации №2 и ГБУЗ ККБ№2 женской консультации № 5, что подтверждено актами внедрения.

Основные результаты работы представлены на: межрегиональной научно-практической конференции с международным участием, г. Краснодар, 5-6 апреля 2018 г.; XIX Всероссийском научно-практическом форуме «Мать и дитя», г. Москва, 26-28 сентября 2018 г.; IV международной научно-практической конференции прикаспийских государств, г. Астрахань, 24-26 октября 2019 г.; межрегиональной научно-практической конференции «Амбулаторная акушерско-гинекологическая помощь в сохранении репродуктивного здоровья», г. Краснодар, 12-13 марта 2020 г.; XIII региональном научно-образовательном форуме «Мать и дитя», г. Казань, 29-30 июня 2020.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования.

Перспективно обследовано 290 беременных женщин репродуктивного возраста, обратившихся для постановки на диспансерный учёт по поводу беременности. Соответственно критериям включения/исключения были отобраны 261 беременная, из которых сформированы 2 группы в зависимости от уровня рН влагалищной жидкости (ВЖ) и наличия/отсутствия гомогенных выделений серо-белого цвета с запахом и «ключевых клеток» или положительного аминового теста при первой явке в сроке 10-12 недель беременности: основная (n=147) – 1 группа (рН ВЖ выше 4,5; наличие выделений и «ключевых клеток»/положительного аминового теста) и контрольная (n=114) – 2 группа (рН ВЖ 3,8-4,5; отсутствие выделений и «ключевых клеток»). В соответствии с дизайном исследования (рис. 1) на I этапе проведен анализ анамнеза, в сроки 11-14, 18-21, 30-34, 36-41 недели проведена рН ВЖ, цервикометрия (ЦМ), определение интерлейкинов (ИЛ) с подсчетом цитокинового индекса (ЦИ), масс-спектрометрия цервикального содержимого. Беременным 1 группы назначена *L. casei rhamnosus Doderleini* (LCR), 4 курса в течение беременности.

Отбор пациентов для исследования n=290

I этап

Определение pH вагинальной жидкости, учет наличия и отсутствия

вагинальных выделений серо-белого цвета с запахом (n=261)

1 группа (n=147) pH ВЖ выше 4,5; наличие выделений и «ключевых клеток»

2 группа (n=114) pH ВЖ 3,8- 4,5; отсутствие выделений и «ключевых клеток»

- массо-ростовые показатели;

- анамнез: соматический, репродуктивный, акушерско-гинекологический;

- течение настоящей беременности;

- обследование в 11-14; 18-21; 30-34 и 36-41 недели беременности: рН-метрия ВЖ, цервикометрия, масс-спектрометрия цервикального содержимого, определение интерлейкинов, расчет цитокинового индекса.

II этап

Оценка течения беременности, родов, состояния новорожденных

III этап

Определение влияния препарата лактобактерий на изменение количества и смены их разновидностей на pH ВЖ, длину цервикального канала, интерлейкины, ЦИ.

I группа (n=29) pH ВЖ > 4,5; ЦМ < 35 мм; ЦИ > 1,9; ЛБ «-»

II группа (n=29) pH ВЖ < 4,5; ЦМ > 35 мм; ЦИ < 1,9; ЛБ «+»

Определение корреляционных связей

Рисунок 1. Дизайн исследования

На II этапе проведена оценка течения беременности, родов, послеродового периода в группах и оценен статус новорожденных. На III этапе оценена эффективность препарата ЛБ путем изучения ЦИ, рН ВЖ, ЦМ.

Полученные данные легли в основу разработанной, внедренной, с проведением оценки эффективности, программы ведения беременных в зависимости от исходного состояния влагалищной микробиоты.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Обе группы беременных были сравнимы по частоте экстрагенитальной и гинекологической патологии. Длительность менструации и менструального цикла статистически достоверно отличались между группами ($p=0,000$). Во время беременности между группами имелись недостоверные отличия в частоте перенесенных инфекционных заболеваний ($p=0,05$), что привело к повышенному инфекционному фону в 1 группе у 24,5% и 14,0% во 2 группе статистически отличному ($p=0,03$).

При исходном определении рН ВЖ в 11-14 недель беременности между группами имелась статистическая разница ($p=0,000$) с увеличением показателя в 1 группе (при использовании препарата ЛБ). В динамике наблюдения статистическая разница между группами уровня рН ВЖ в 18-21 ($p=0,455$), 30-34 ($p=0,583$), 36-41 ($p=0,286$) недели беременности отсутствовала. В обеих группах уже к 18-21 неделе имелась статистически достоверная разница в показателе рН ВЖ по сравнению с исходными данными ($p=0,000$). К сроку родов в 1 группе произошло статическое снижение (на фоне препарата ЛБ), а во 2 группе статистическое повышение (без препарата ЛБ) показателя рН ВЖ ($p=0,000$). Скрининг рН ВЖ в динамике на фоне беременности способствует своевременной диагностике дисбиоза и контролю качества лечения (рис. 2).

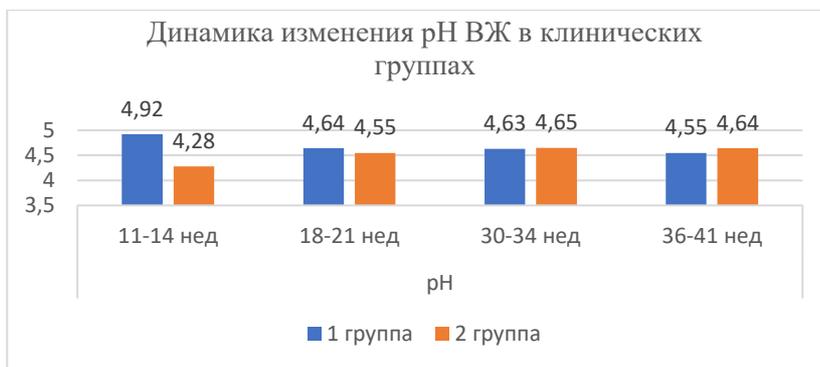


Рисунок 2. Изменение уровня рН ВЖ в клинических группах

В обеих группах были пациентки с угрозой прерывания беременности, но во 2 группе число их было в 6,6 раза выше: 13,2% против 2,0%.

Параллельно определена частота выделения штаммов ЛБ: в 1 группе общий рост числа беременных с ЛБ составил 36,74% (от 11,56% до 48,30%), во 2 группе – 3,51% (от 38,60% до 42,11%). В 1 группе увеличение доли беременных с общим ростом ЛБ было в 10,5 раза выше, чем во 2 группе ($p=0,000$), рис. 3.

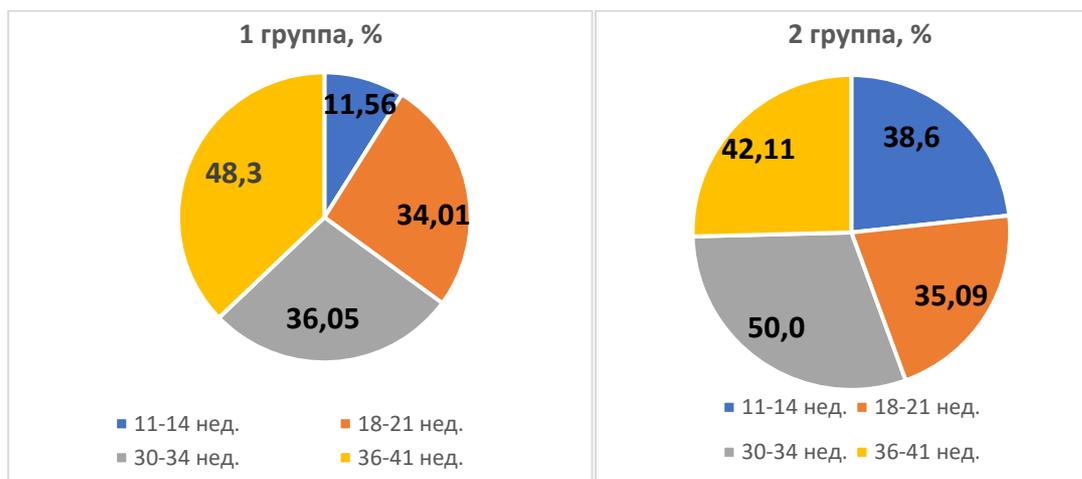


Рисунок 3. Изменение числа беременных с общим уровнем ЛБ

В 1 группе доля беременных с обильным ростом ЛБ увеличилась на 18,36% (в 3,7 раза), а во 2 группе снизилась на 14,93% (в 1,8 раза), $p=0,005$, в 1 группе доля беременных с умеренным ростом увеличилась в 3,7 раза, а во 2 группе не изменилась (рис. 4).

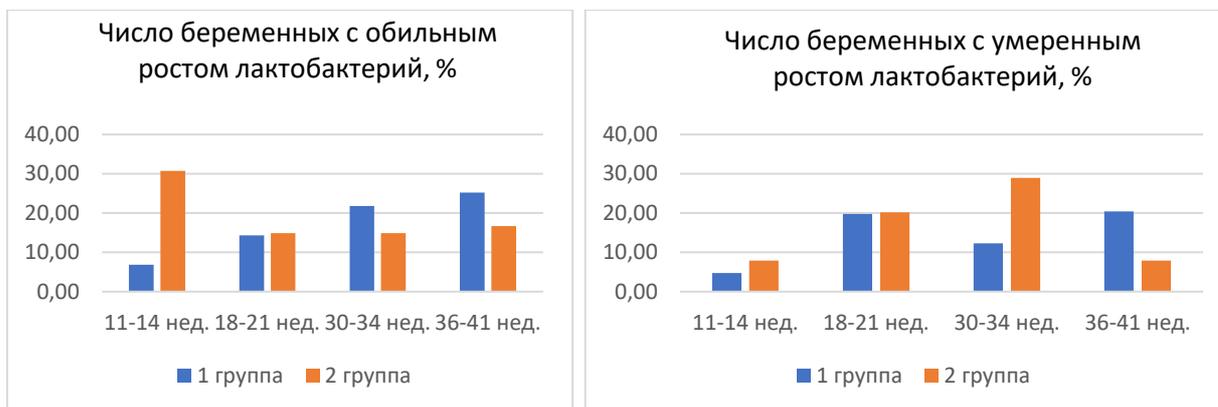


Рисунок 4. Показатели обильного и умеренного роста ЛБ

Несмотря на многообразие ЛБ, определяемых во влагалище, не удается определить ни одного вида, который присутствовал бы у всех. Какие ЛБ воздействуют на иммунитет, экспрессию цитокинов, стимулируют/подавляют воспаление в популяции, известно [Е.И. Ермоленко, 2014], однако как это происходит у беременных, до сих пор остается не известным. В 1 группе были ЛБ, которые изначально не определялись: *L. crispatus*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, а на фоне препарата ЛБ выявлялись уже с 18-21 недели, а способствующие развитию БВ *L. iners* [О.В. Бурменская с соавт., 2014] к 30-34 недели в 1 группе были у 2,72% и к родам отсутствовали. Во 2 группе не выделялись *L. fermentum*, *L. rhamnosus*, *L. vaginalis*, *L. reuteri*, *L. plantarum*, а изначально определяемая *L. delbrueskii* уже к 18-21 неделе отсутствовала, эпизодически определяли *L. iners*, *L. paralimentarius*, *L. sakei*. Известно: *L. delbrueskii* образует вид ЛБ, близкий к *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. jensenii*, определяемая *L. delbrueskii* в 11-14 недель во 2 группе замещалась штаммами *L. crispatus*, со снижением их в динамике к родам. Умеренная взаимосвязь имелась в уровне *L. crispatus* ($p=0,022$) между группами в 30-34 недели.

Исследования микробиоты влагалища беременных помогают оценить риски развития моделей неблагоприятных экосистем, их динамики, видовой структуры, функции бактериальных сообществ, составляющих микробиом. У здоровых беременных должно быть большее количество видов ЛБ, поддерживающих рН ВЖ. Однако факторы, влияющие на микробиоту влагалища и контролирующие её, еще недостаточно изучены.

Любая инфекция, в том числе и УПФ, проявляется разной степенью выраженности воспалительной реакции, реализуемой двукратным возрастанием уровня содержания провоспалительных цитокинов. Привычное невынашивание часто развивается на фоне хронического эндометрита, который в большей степени, чем дефицит прогестерона, негативно влияет на процесс имплантации, развитие плода. Провоспалительные цитокины активируют протромбиназы, что ведет к тромбозам, инфарктам трофобласта, отслойке и выкидышу [В.Е. Радзинский, Е.Ю. Запертова, 2004]. Изучен локальный уровень концентрации провоспалительных цитокинов (ИЛ-8, ИЛ-1 β) и противовоспалительного ИЛ-1RA - рецепторного антагониста ИЛ-1 в динамике (табл. 1).

Таблица 1. Локальный уровень содержания ИЛ-1 β , ИЛ-8, ИЛ 1RA у беременных клинических групп

1 группа, n=147, M \pm m, Me, [25; 75%]				
Сроки за- бора анализа	I (11-14 неделя)	II (18-21 неделя)	III (30-34 недели)	IV (36-41 неделя)
Показатель				
ИЛ-1 β , пкг/мл	189,78 \pm 137,52 310,0 [47,0;314,0]	166,3 \pm 140,7 93,5 [27,0;314,0]	158,5 \pm 142,9 93,5 [22,0;314,0]	157,2 \pm 142,1 85,0 [39,0;314,0]
ИЛ-1 RA, пкг/мл	1977,5 \pm 1710,6 1724,0 [712,0;2855,0]	3064,8 \pm 5,943,8 1599,0 [708,0;4148,0]	2285,4 \pm 2185,4 1594,5 [746,0;3595,0]	2009,1 \pm 1835,4 1330,0 [399,0;3150,0]
ИЛ-8, пкг/мл	899,9 \pm 896,4 487,0 [383,0;1103,0]	901,8 \pm 914,2 497,5 [346,0;906,0]	577,5 \pm 634,8 386,5 [296,0;662,0]	705,3 \pm 791,2 388,0 [258,0;783,0]
2 группа, n=114, M \pm m, Me, [25; 75%]				
ИЛ-1 β , пкг/мл	161,6 \pm 145,6 90,0 [15,0;314,0]	135,8 \pm 161,1 50,5 [4,0; 314,0]	110,0 \pm 159,8 32,5 [8,0;85,0]	71,4 \pm 102,6 32,5 [13,0;88,0]
ИЛ-1 RA, пкг/мл	3002,6 \pm 7391,9 1099,5 [482,0;2630,0]	3222,7 \pm 7369,2 1282,0 [605,0;2833,0]	1674,6 \pm 1409,4 1380,0 [492,0;2468,0]	1434,6 \pm 1411,3 112,5 [574,0;1948,0]
ИЛ-8, пкг/мл	602,1 \pm 727,0 335,0 [226,0;700,0]	574,5 \pm 382,0 486,5 [281,0;1240,0]	504,8 \pm 312,7 528,0 [197,0;766,0]	420,6 \pm 379,6 280,5 [152,0;558,0]

Средние значения локальной концентрации провоспалительного ИЛ-1 β на протяжении беременности прогрессивно снижаются от исходного уровня (11-14 неделя), с более резким снижением к 18-21 неделе при сравнении медиан оптической плотности. Сходная динамика с отсутствием статистически значимых различий показателей обнаружена при мониторинге противовоспалительного ИЛ-1 RA. Поскольку ИЛ-8, наряду с другими провоспалительными цитокинами, играет важную роль в привлечении и активации функций нейтрофильных лейкоцитов в очаге локального воспаления, в том числе, вызванного УПФ, [И.Н. Кононова, 2015], можно предположить, что наблюдаемые высокие показатели концентрации провоспалительного ИЛ-8 по мере прогрессирования беременности в 1 группе, показывают, что на фоне препарата ЛБ микробиота влагалища способна профилактировать возможные осложнения беременности, родов и послеродового периода. В то же время во 2 группе, без препарата ЛБ, несмотря на исходное снижение ИЛ-1 β , уровень ИЛ-8 не меняется в динамике, что свидетельствует о дисбалансе в провоспалительном ответе (табл. 1). Расчет ЦИ: соотношение провоспалительного цитокина к противовоспалительному, показал, что к родам в 1 группе происходит его повышение, скорее всего за счет стресса, сопутствующего родам [R. González-Ochoa et al., 2018], рис. 5.

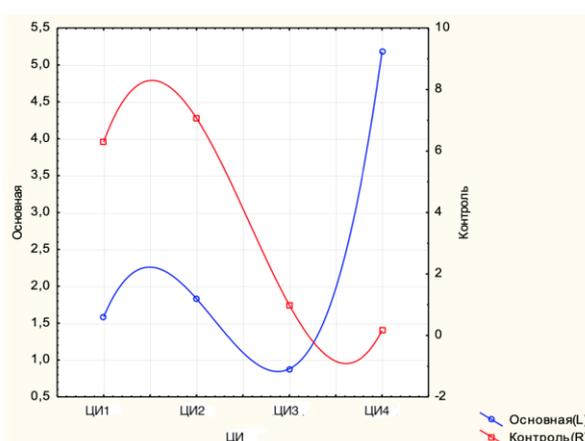


Рисунок 5. Изменение ЦИ в группах в течение беременности

В 1 группе угрожающий выкидыш был диагностирован у 2,0%: в I триместре у 1,4% и у 0,7% во II триместре. Во 2 группе - у 13,2%: в I триместре у 5,3%, во II триместре у 7,9%. Угроза ПР в 1 группе была у 2,0% (все они

имели искусственные аборты в анамнезе) и во 2 группе у 6,1%, из числа которых только у 1,8% в анамнезе был искусственный аборт.

Для 1 группы, как и для 2-ой, не выявлено в сроке 30-34 недели беременности отличий в данных кардиотокографии, доплерометрии сосудов матери и плода, оценки внутриутробного развития ребенка, несмотря на более высокий исходный инфекционный фон (в 1,8 раза выше в 1 группе).

Анализ течения беременности показал, что в группах имелись угроза ПР (в 1 группе у 2,0%; во 2-ой у 6,1%), преждевременный разрыв плодных оболочек (ПРПО) и аномалии родовой деятельности (АРД), табл. 2. Сравнение показателей между группами продемонстрировало, что во 2 группе и АРД ($p=0,0001$), и ПРПО ($p=0,0001$) были статистически значимо чаще, чем в 1 группе. Рожденные дети отличались по уровню баллов по шкале АПГАР: 1 группа 8,76(0,46) баллов и во 2 группе 8,62(0,64) баллов, $p=0,025$.

Таблица 2. Осложнения беременности и родов в группах

Показатель	1 группа, n=147		2 группа, n=114		p
	абс.	%	абс.	%	
АРД	49	33,3	66	57,9	0,0001
ПРПО	45	30,6	62	54,4	0,0001

ПРПО характеризует расплавление оболочек под воздействием инфекционного агента, что влияет и на неврологическое здоровье ребенка, и на инфекционный статус. Проведено сравнение частоты послеродового инфицирования в группах среди новорожденных и их мам (табл. 3).

Таблица 3. Частота инфицирования в послеродовом периоде среди мам и новорожденных

Показатель	1 группа, n=147		2 группа, n=114		p=
	абс.	%	абс.	%	
Инфекции мам	1	0,7	12	10,5	0,000
Инфекции новорожд.	5	3,4	19	16,7	0,000

Частота послеродовых инфекций у матерей 1 группы в 15 раз ниже, чем во 2 группе ($p=0,000$). Во 2 группе был у 75,0% хориоамнионит, у 8,3%

послеродовый эндометрит и у 16,7% инфекции нижних мочевыводящих путей. В 1 группе у 0,7% инфекция нижних мочевыводящих путей.

Оценка историй беременных показала, что важными показателями является наличие в анамнезе искусственных абортов (100%), острых бактериально-вирусных инфекций (80,0%), повышенного инфекционного индекса в пре- и пубертате (100%), проведенное при предыдущих беременностях кесарево сечение (93,3%), перенесенные острые инфекции во время настоящей беременности (100%), что достаточно часто сочетается с отсутствием (или выраженным снижением) роста штаммов ЛБ, поддерживающих нормоценоз. Выявленные при взятии на диспансерный учет показатели при описанном анамнезе: ЦМ менее 35 мм (86,7%), pH ВЖ от 4,6 и выше, ЦИ 1,9 и более, сопутствовали этому контингенту беременных, которые составили I группу (n=29). Из числа беременных с ЦМ более 35 мм, pH ВЖ 3,8-4,5; ЦИ менее 1,9 и выделенных штаммах ЛБ, поддерживающих нормоценоз, сформирована II контрольная группа (n=29). В I группе проводилась терапия препаратом ЛБ по описанной схеме: в сроке 11-14; 18-21; 30-34 и 36-41 недели беременности путем введения препарата *L. casei rhamnosus Doderleini*.

Исходные показатели во II группе были статистически достоверно лучше, чем в I группе (табл. 4).

Таблица 4. Сравнение исходных показателей в I и II группах

Показатель	I группа, n=29 M±m, Me [25;75%]	II группа, n=29 M±m, Me [25;75%]	p=
ЦМ	32,103±1,423 32,0 [31,0;33,0]	38,931±2,017 39,0 [37,0;40,0]	0,000
pH	4,766±0,123 4,8 [4,7;4,8]	4,214±0,106 4,2 [4,2;4,3]	0,000
ЦИ	2,194±0,243 2,1 [2,0;2,4]	1,181±0,248 1,2 [0,96;1,34]	0,000

На фоне использования препарата ЛБ, показатели в I группе на 30-34 неделе беременности статистически не отличались от показателей II группы, за исключением ЦИ ($p=0,000$), что показано в табл. 5.

Таблица 5. Сравнение показателей в группах в 30-34 недели беременности

Показатель	I группа, n=29 M±m, Me [25;75%]	II группа, n=29 M±m, Me [25;75%]	p=
ЦМ	31,241±1,272 32,0 [30,0;32,0]	29,897±3,098 30,0 [28,0;32,0]	0,07
pH	4,417±0,11 4,4 [4,4;4,5]	4,472±0,217 4,5 [4,3;4,6]	0,395
ЦИ	1,472±0,202 1,5 [1,4;1,6]	1,774±0,207 1,8 [1,7;1,9]	0,000

Представленные данные позволяют нам рекомендовать использование интравагинально препарат лактобактерий *L. casei rhamnosus Doderleini* LCR с первого триместра беременности при исходном дисбиозе влагалища или умеренном анаэробном дисбиозе, что было также продемонстрировано на примере ведения одной беременной с отягощенным анамнезом в описанном клиническом случае Н.И. Тапильской с соавт., в 2016 году.

Проведенный анализ выявил в I группе корреляционную связь между величиной ЦИ и выделенными штаммами *L. rhamnosus* ($R=0,371$) и *L. gasseri* ($R=0,424$). Имеющаяся статистически достоверная разница в уровнях ЦИ между группами перед родами, зависит от усиления противовоспалительных механизмов, что более выражено в I группе [ЦИ=2,19(0,24) → ЦИ=1,47(0,202)], чем во II-ой, для которой, наоборот, характерно усиление провоспалительной реакции [ЦИ=1,18(0,24) → ЦИ=1,77(0,207)]. Выявленная нами разница в изменении ЦИ, а также данные ЦМ и pH ВЖ в группах с исходным отличием по содержанию ЛБ, подтверждает теорию нормализации состояния влагалищного биотопа на фоне использования препарата ЛБ в

течение беременности. На рис. 6 показан уровень и штаммы выделенных ЛБ в группах.

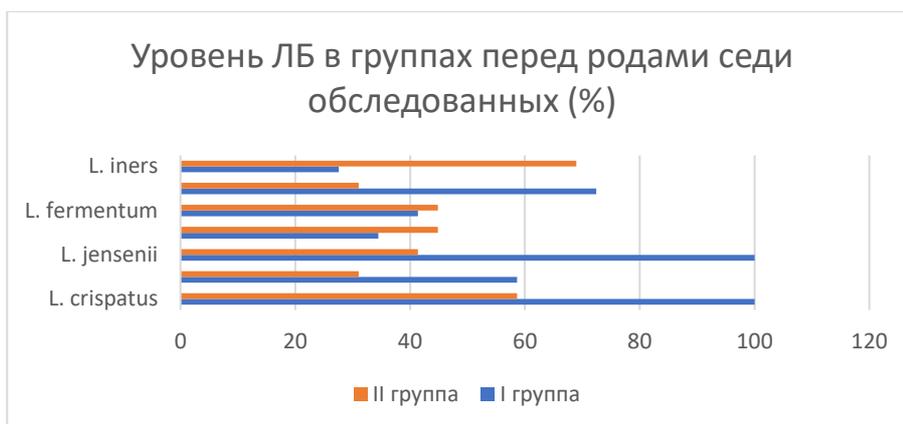


Рисунок 6. Уровень выделенных ЛБ в группах и вид штаммов

Отсутствие использования во II группе препарата ЛБ способствовало уменьшению доли беременных с выделенными штаммами, поддерживающими нормоценоз (*L. crispatus*, *L. fermentum*, *L. jensenii*), что приводит к дисбиозу [S.Y. Doerfingger et al., 2014] и увеличению доли беременных с выделенными штаммами *L. iners*, которые способствуют размножению УПФ [О.В. Будиловская, 2016]. Подавляющее большинство современных данных литературы указывает на явное доминирование *L. crispatus* в составе микрофлоры здоровых женщин [M. Aldunate et al., 2015; S. Kovachev, 2017]. Таким образом, выявлены отличия между группами в уровне *L. crispatus* ($p=0,00$), *L. rhamnosus* ($p=0,04$), *L. jensenii* ($p=0,00$), *L. vaginalis* ($p=0,00$) и *L. iners* ($p=0,00$), а между *L. gasseri* ($p=0,43$) и *L. fermentum* ($p=0,79$) существенных различий не выявлено.

Корреляционные связи были в I группе обнаружены между: ЦМ при первой явке и рН ВЖ перед родами ($R= -0,490$) и инфекционным анамнезом ($R=0,372$), ЦИ при первой явке и долей беременных перед родами со штаммом *L. rhamnosus* ($R=0,371$) и *L. gasseri* ($R=0,424$), а также между числом беременных со штаммом *L. iners* и рН ВЖ ($R= -0,420$) перед родами, что можно использовать в клинической практике для решения вопроса о проведении профилактики возможных осложнений в родах и послеродовом периоде.

В II группе выявлена корреляция между ЦИ в начале и конце беременности ($R = -0,498$), числа беременных с ростом ЛБ при первой явке коррелировало с числом беременных с выделенным штаммом *L. crispatus* ($R = 0,496$) и *L. iners* ($R = -0,517$), что может подтвердить их противодействие друг другу в ранние сроки беременности. Перед родами имелась корреляция между числом беременных с выделенными штаммами *L. crispatus* и *L. iners*, $R = -0,586$. Уровень рН ВЖ при первой явке коррелировал с уровнем числа беременных со штаммом *L. rhamnosus* перед родами ($R = 0,432$).

Таким образом, данные анамнеза при взятии на диспансерный учет беременных, определение ЦИ (выше 1,9) и рН ВЖ (4,6 и выше) при наличии инфекционного анамнеза, позволяет определить ту категорию беременных, которым назначение препарата ЛБ будет необходимо для снижения числа осложнений беременности и родов, а также нормализации состояния новорожденного.

ВЫВОДЫ

1. При нормоценозе общий уровень ЛБ снижается к родам в 1,2 раза за счет снижения обильного роста (30,7%→16,67%), при неизменном умеренном (7,88%) и увеличении обильного роста УПФ (7,89%→12,28%). При дисбиозе препарат ЛБ повышает их общий уровень к родам в 4,2 раза (11,56%→48,3%), обильный рост в 3,7 (6,8%→25,17%), умеренный в 4,3 (4,76%→20,41%), снижая обильный рост УПФ (34,02%→10,2%).
2. ЛБ снижают рН ВЖ в 1 группе ($p = 0,000$) с $4,92 \pm 0,25$ до $4,55 \pm 0,30$; при повышении рН ВЖ без ЛБ во 2 группе ($p = 0,000$) с $4,28 \pm 0,19$ до $4,64 \pm 0,17$; рН ВЖ коррелирует с числом беременных со штаммом *L. iners* ($R = -0,420$), который способствует дисбиозу.
3. Низкий ЦИ в 1 группе в 14 нед. ($1,58 \pm 5,16$), на фоне ЛБ повышается к родам ($5,18 \pm 24,43$), снижая частоту воспаления, во 2 группе ЦИ снижается с $6,29 \pm 0,21$ до $0,15 \pm 0,19$ соответственно, поддерживая высокий уровень воспаления. ЛБ стимулируют рост ИЛ-1 β ($157,2 \pm 142,1$ пкг/мл), отличный от 2 группы ($71,4 \pm 102,6$ пкг/мл), $p = 0,016$, нормализуя иммунный ответ снижают рН ВЖ в 1 группе до нормы и поддерживают уровень ЦМ выше 25 мм.

4. Доля беременных в 1 группе со штаммом *L. crispatus* выше, чем во 2-ой ($p=0,00$), что объясняет снижение в 1 группе относительно 2-ой угрозы выкидыша в 6,6 раза (с 13,2% до 2,0%), угрозы ПР в 3 раза (с 6,1% до 2,0%); реже в 1 группе были АД (57,9% и 33,3%, $p=0,0001$), ПРПО (54,4% и 30,6%, $p=0,0001$), патология нервной системы новорожденных в 1,3 раза ниже в 1 группе (23,81%) по сравнению со 2-ой (31,57%).

5. Разработанная программа основана на сборе анамнеза, определении рН и ЦМ, использовании ЛБ, что увеличивает число беременных с ростом штаммов *L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. gasseri*, *L. rhamnosus* к родам, способствующих устойчивости микробиоты влагалища, снижению числа инфекционных осложнений у мам в 1 группе (0,7%) в 15 раз по сравнению со 2-ой (10,5%), $p=0,000$; в 4,9 раз у новорожденных (3,4% и 16,7%, $p=0,000$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При постановке на учет необходимо использовать «опросник», в котором необходимо отметить наличие или отсутствие: искусственных абортов, острых бактериальных и/или вирусных инфекций, повышенного инфекционного индекса в пре- и пубертате, кесарево сечение в анамнезе. При положительном ответе необходимо определять рН влагалищного содержимого и проводить цервикометрию.
2. При определении во время постановки на учет по беременности уровня рН ВЖ выше 4,5 и длине шейки матки менее 35 мм, необходимо назначать интравагинально лактобактерии (*L. casei rhamnosus Doderleini*) курсами в течение беременности под контролем цервикометрии и рН влагалищного отделяемого.
3. Использование препаратов ЛБ во время беременности способствует защите от инфекций и поддержанию нормальной микрофлоры влагалища.
4. Метод рН-метрии может быть использован для тестирования нарушений микробиоты влагалища в любом сроке беременности, как контроль при ее восстановлении в условиях амбулаторного приёма акушера-гинеколога.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. *Карахалис, Л.Ю. Влияние возраста на влагалищную атрофию и микробиоту влагалища / Л.Ю. Карахалис, Ю.С. Пономарева, Н.С. Иванцев, Г.А. Пенжоян, А.В. Филиппович // **Актуальные вопросы современной медицины.** Материалы IV международной научно-практической конференции прикаспийских государств (г. Астрахань, 24-26 октября 2019 г.). - С. 99-100.
2. *Карахалис, Л. Ю. Коррекция вагинально микробиоты у пациенток раннего и позднего перехода в менопаузу / Л.Ю. Карахалис, Ю.С. Пономарева, Н.С. Иванцев // **Медицинский совет.** -2020. - №3. – С.118-123.
3. Иванцев, Н.С. Коррекция состояния микробиоты влагалища у беременных / Н.С. Иванцев, Л.Ю. Карахалис / Материалы Пленума Правления РОАГ и XIII регионального научно-образовательного форума «Мать и дитя». – 2020. – С.34-35.
4. Карахалис, Л.Ю. Характеристика вагинальных лактобактерий у беременных перед родами / Л.Ю. Карахалис, Н.С. Иванцев // Материалы Пленума Правления РОАГ и XIII регионального научно-образовательного форума «Мать и дитя». – 2020. – С.42-43.
5. *Карахалис, Л.Ю. Влияние влагалищной микробиоты на течение беременности и роды. / Л.Ю. Карахалис, Н.С. Иванцев // **Кубанский научный медицинский вестник.** – 2020. - №27(6). – С. 30–43.
6. *Карахалис, Л.Ю. Болезни периодонта в патогенезе неблагоприятных исходов беременности / Л.Ю. Карахалис, Н.С. Иванцев, Н.В. Ли // **Доктор.Ру.** – 2021. – №20(1). – С.51-55.
7. *Карахалис Л.Ю., Иванцев Н.С. Профилактика осложненных родов путем нормализации вагинального микробиоценоза. **РМЖ. Мать и дитя.** 2021;4(1):31–35.

* - опубликовано в журналах, входящих в перечень изданий, рекомендуемых ВАК РФ для опубликования материалов докторских и кандидатских диссертаций.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АРД – аномалии родовой деятельности

БВ – бактериальный вагиноз

ВЖ – вагинальная жидкость

ВЗОМТ – воспалительные заболевания малого таза

ГСД – гестационный сахарный диабет

ЕК (NK) - естественные (натуральные) лимфоциты киллеры (natural killer)

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИЛ-1 β – интерлейкин-1 β

ИЛ-1 RA - рецепторный антагонист интерлейкина-1(ИЛ-1)

ИЛ-8 – интерлейкин-8

ИМТ – индекс массы тела

ИППП – инфекции, передаваемые половым путем

ИР – индекс резистентности

ИЦН – истмико-цервикальная недостаточность

КОЕ - колониеобразующая единица

ЛБ (Lb., L.) - лактобактерии (Lactobacillus)

МЦ – менструальный цикл

ОРВИ – острая респираторно-вирусная инфекция

ПОНРП – преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты

ПР – преждевременные роды

ПРПО – преждевременный разрыв плодных оболочек

ССС – сердечно-сосудистая система

ЦИ – цитокиновый индекс

УПФ – условно-патогенная флора

ЦМ – цервикометрия

Подписано в печать 29.06.2022 Заказ № 14001
Тираж 100 экземпляров; объем п.л.: 1.0
Отпечатано в типографии «Реглет»
101000, г. Москва, Чистопрудный бульвар, д. 18
(495) 971-22-77; www.reglet.ru