

ции, в которой ген цепи альфа был связан с маркером устойчивости GS (популяция LHB). Для поликлональной популяции клеток LHB была проведена амплификация целевых генов в геноме под действием возрастающих концентраций МТХ, и было установлено, что продуктивность клеток многократно возрастает при увеличении концентрации МТХ до 8 мкМ.

Таким образом, нами была продемонстрирована возможность ко-амплификации пары генов, сцепленных с различными селекционными маркерами в составе векторных плазмид семейства p1.1 и ко-трансфицированных в клетки СНО. Для клональных клеточ-

ных линий, полученных из популяции LHB, был продемонстрирован рост продуктивности у одной из шести исследованных линий в ответ на добавление возрастающих концентраций метотрексата. Можно заключить, что ко-амплификация пары целевых генов в геноме клеток-продуцентов является достаточно частым событием для выбранных нами векторных плазмид. В результате выполнения работы были получены различные клеточные линии, секретирующие рекомбинантный ЛГ человека в больших количествах (до 4 мг/л) и потенциально пригодные для создания промышленной клеточной линии-продуцента ЛГ человека.

Литература:

- Munoz E., Bosch E., Fernandez I., Portela S., Ortiz G., Remohi J., Pellicer A. The role of LH in ovarian stimulation. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012; 13 (3): 409-16.
- Leao Rde B., Esteves S.C. Gonadotropin therapy in assisted reproduction: an evolutionary perspective from biologics to biotech. *Clinics (Sao Paulo)*. 2014; 69 (4): 279-93.
- Ata B., Seli E. Strategies for Controlled Ovarian Stimulation in the Setting of Ovarian Aging. *Semin Reprod Med.* 2015; 33 (6): 436-48.
- Bleau N., Agdi M., Son W., Tan S., Dahan M.H. A Comparison of Outcomes from In Vitro Fertilization Cycles Stimulated with Follicle Stimulating Hormone Plus either Recombinant Luteinizing Hormone or Human Menopausal Gonadotropins in Subjects Treated with Long Gonadotropin Releasing Hormone Agonist Protocols. *Int J Fertil Steril.* 2017; 11 (2): 79-84.
- Mullen M.P., Cooke D., Crow M. Structural and functional roles of FSH and LH as glycoproteins regulating reproduction in mammalian species. In: *Gonadotropin [Ed. J. Vizcarra]. Chapter 8. InTech: International Publisher.* 2013: 155-80.
- Воробьев И.И., Орлова Н.А., Ковнир С.В., Ходак Ю.А. Плазмида для экспрессии

- в клетках СНО рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) человека, плазмида для экспрессии в клетках СНО бета-субъединицы рекомбинантного ФСГ человека, клетка СНО – продуцент рекомбинантного ФСГ человека и способ получения указанного гормона. *Патент РФ № 2560596.* 2015; Бюл. № 23. URL: <http://www.findpatent.ru/patent/256/2560596.html> [Дата доступа: 20.05.2017].
- Orlova N.A., Kovnir S.V., Hodak J.A., Vorobiev I.I., Gabibov A.G., Skryabin K.G. Improved elongation factor-1 alpha-based vectors for stable high-level expression of heterologous proteins in Chinese hamster ovary cells. *BMC Biotechnol.* 2014; 14: 56.
- Bochkov Y.A., Palmenberg A.C. Translational efficiency of EMCV IRES in bicistronic vectors is dependent upon IRES sequence and gene location. *Biotechniques.* 2006; 41 (3): 283-284, 286, 288 passim.
- Almo S.C., Love J.D. Better and faster: improvements and optimization for mammalian recombinant protein production. *Curr Opin Struct Biol.* 2014; 26: 39-43.
- Jazayeri S.H., Amiri-Yekta A., Gourabi H., Abd Emami B., Halfinezhad Z., Abolghasemi S. et al. Comparative Assessment on the Expression Level of Recombinant Human Follicle-Stimulating Hormone (FSH) in Serum-Containing Versus

Protein-Free Culture Media. *Mol Biotechnol.* 2017; 37 (4): 1-9. DOI: 10.1007/s12033-017-0037-4.

- Nakamura Y., Gojobori T., Ikemura T. Codon usage tabulated from international DNA sequence databases: status for the year 2000. *Nucleic Acids Res.* 2000; 28 (1): 292.
- Kovnir S.V., Orlova N.A., Khodak C. et al. Approaches to Controlled Co-Amplification of Genes for Production of Biopharmaceuticals: Study of the Insertion and Amplification Dynamics of Genetic Cassettes in the Genome of Chinese Hamster Ovary Cells during Co-Expression of Compatible Pair of Plasmids. *Bull Exp Biol Med.* 2017; 163 (2): 245-9.
- Ковнир С.В., Орлова Н.А., Воробьев И.И. и др. Плазмида для экспрессии рекомбинантного фактора свёртываемости крови IX человека, клетка СНО – продуцент рекомбинантного фактора свёртываемости крови IX человека и способ получения указанного фактора. *Патент РФ № 2585532.* 2015; Бюл. № 15. URL: <https://evid.ru/r/216.015.4457.html> [Дата доступа: 20.05.2017].
- Urlaub G., Kas E., Carothers A.M., Chasin L.A. Deletion of the diploid dihydrofolate reductase locus from cultured mammalian cells. *Cell.* 1983; 33 (2): 405-12.

References:

- Munoz E., Bosch E., Fernandez I., Portela S., Ortiz G., Remohi J., Pellicer A. The role of LH in ovarian stimulation. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012; 13 (3): 409-16.
- Leao Rde B., Esteves S.C. Gonadotropin therapy in assisted reproduction: an evolutionary perspective from biologics to biotech. *Clinics (Sao Paulo)*. 2014; 69 (4): 279-93.
- Ata B., Seli E. Strategies for Controlled Ovarian Stimulation in the Setting of Ovarian Aging. *Semin Reprod Med.* 2015; 33 (6): 436-48.
- Bleau N., Agdi M., Son W., Tan S., Dahan M.H. A Comparison of Outcomes from In Vitro Fertilization Cycles Stimulated with Follicle Stimulating Hormone Plus either Recombinant Luteinizing Hormone or Human Menopausal Gonadotropins in Subjects Treated with Long Gonadotropin Releasing Hormone Agonist Protocols. *Int J Fertil Steril.* 2017; 11 (2): 79-84.
- Mullen M.P., Cooke D., Crow M. Structural and functional roles of FSH and LH as glycoproteins regulating reproduction in mammalian species. In: *Gonadotropin [Ed. J. Vizcarra]. Chapter 8. InTech: International Publisher.* 2013: 155-80.
- Vorobiev I.I., Orlova N.A., Kovnir S.V., Khodak Yu.A. Plasmid for expression in CHO cells of recombinant human follicle stimulating hormone (FSH), a plasmid for expression in CHO cells of the beta subunit of recombinant human FSH, a CHO-producer of recombinant human FSH, and a method for producing said hormone [Plazmida dlya ekspressii v kletkah SNO reкомбинантного фолликулостимулирующего гормона (FSG) человека, плазмида для экспрессии в клетках

SNO beta-sub'ediny reкомбинантного FSG cheloveka, kletka SNO – producent reкомбинантного FSG cheloveka i sposob polucheniya ukazannogo gormona]. *Patent RF № 2560596.* 2015; Byul. № 23. URL: <http://www.findpatent.ru/patent/256/2560596.html> (in Russian) [Accessed: 20.05.2017].

- Orlova N.A., Kovnir S.V., Hodak J.A., Vorobiev I.I., Gabibov A.G., Skryabin K.G. Improved elongation factor-1 alpha-based vectors for stable high-level expression of heterologous proteins in Chinese hamster ovary cells. *BMC Biotechnol.* 2014; 14: 56.
- Bochkov Y.A., Palmenberg A.C. Translational efficiency of EMCV IRES in bicistronic vectors is dependent upon IRES sequence and gene location. *Biotechniques.* 2006; 41 (3): 283-284, 286, 288 passim.

9. Almo S.C., Love J.D. Better and faster: improvements and optimization for mammalian recombinant protein production. *Curr Opin Struct Biol.* 2014; 26: 39-43.
10. Jazayeri S.H., Amiri-Yekta A., Gourabi H., Abd Emami B., Halfinezhad Z., Abolghasemi S. et al. Comparative Assessment on the Expression Level of Recombinant Human Follicle-Stimulating Hormone (FSH) in Serum-Containing Versus Protein-Free Culture Media. *Mol Biotechnol.* 2017; 37 (4): 1-9. DOI: 10.1007/s12033-017-0037-4.
11. Nakamura Y., Gojobori T., Ikemura T. Codon usage tabulated from international DNA sequence databases: status for the year 2000. *Nucleic Acids Res.* 2000; 28 (1): 292.
12. Kovnir S.V., Orlova N.A., Khodak C. et al. Approaches to Controlled Co-Amplification of Genes for Production of Biopharmaceuticals: Study of the Insertion and Amplification Dynamics of Genetic Cassettes in the Genome of Chinese Hamster Ovary Cells during Co-Expression of Compatible Pair of Plasmids. *Bull Exp Biol Med.* 2017; 163 (2): 245-9.
13. Kovnir S.V., Orlova N.A., Vorobiev I.I. et al. Plasmid for expression of recombinant factor IX blood coagulability, CHO cell – producer of recombinant factor IX blood coagulability and the method of obtaining this factor [Plazmida dlya ekspressii rekombinantnogo faktora svyortyvaemosti krovi IX cheloveka, kletka SNO – producent rekombinantnogo faktora svyortyvaemosti krovi IX cheloveka i sposob polucheniya ukazannogo faktora]. *Patent RF* № 2585532. 2015; Byul. № 15. URL: <https://edrid.ru/rid/216.015.4457.html> (in Russian) [Accessed: 20.05.2017].
14. Urlaub G., Kas E., Carothers A.M., Chasin L.A. Deletion of the diploid dihydrofolate reductase locus from cultured mammalian cells. *Cell.* 1983; 33 (2): 405-12.

Сведения об авторах:

Надежда Александровна Орлова – к.б.н., научный сотрудник лаборатории биоинженерии клеток млекопитающих ФГУ «ФИЦ «ФОБ» РАН». Адрес: пр. 60-летия Октября, 7, корп. 1, Москва, Россия, 117312. E-mail: nobiol@gmail.com.

Сергей Владимирович Ковнир – к.б.н., научный сотрудник лаборатории биоинженерии клеток млекопитающих ФГУ «ФИЦ «ФОБ» РАН». Адрес: пр. 60-летия Октября, 7, корп. 1, Москва, Россия, 117312. E-mail: kovnir.serge@gmail.com.

Юлия Александровна Ходак – к.б.н., научный сотрудник лаборатории биоинженерии клеток млекопитающих ФГУ «ФИЦ «ФОБ» РАН». Адрес: пр. 60-летия Октября, 7, корп. 1, Москва, Россия, 117312. E-mail: salix@gmail.com.

Михаил Александрович Ползиков – к.х.н., генеральный директор ООО «АйВиФарма». Адрес: Научный проезд, 20, стр. 2, Москва, Россия, 117246. E-mail: mikhael.polzikov@gmail.com.

Воробьев Иван Иванович – к.х.н., доцент, зав. лабораторией биоинженерии клеток млекопитающих ФГУ «ФИЦ «ФОБ» РАН». Адрес: пр. 60-летия Октября, 7, корп. 1, Москва, Россия, 117312. E-mail: ptichman@gmail.com.

About the authors:

Nadezhda Alexandrovna Orlova – PhD, Research Associate, Laboratory of Bioengineering of Mammalian Cells, FRC FB RAS. Address: pr. 60-letiya Oktyabrya, 7, korp. 1, Moscow, Russia, 117312. E-mail: nobiol@gmail.com.

Sergey Vladimirovich Kovnir – PhD, Research Associate, Laboratory of Bioengineering of Mammalian Cells, FRC FB RAS. Address: pr. 60-letiya Oktyabrya, 7, korp. 1, Moscow, Russia, 117312. E-mail: kovnir.serge@gmail.com.

Yulia Alexandrovna Khodak – PhD, Research Associate, Laboratory of Bioengineering of Mammalian Cells, FRC FB RAS. Address: pr. 60-letiya Oktyabrya, 7, korp. 1, Moscow, Russia, 117312. E-mail: E-mail: salix@gmail.com.

Mikhail Alexandrovich Polzikov – PhD, General Director of IVFarma LLC. Address: Nauchnyi proezd, 20, str. 2, Moscow, Russia, 117246. E-mail: mikhael.polzikov@gmail.com.

Vorobiev Ivan Ivanovich – PhD, Associate Professor, Head of Laboratory of Bioengineering of Mammalian Cells, FRC FB RAS. Address: pr. 60-letiya Oktyabrya, 7, korp. 1, Moscow, Russia, 117312. E-mail: ptichman@gmail.com.

Работа выполнена при поддержке РФФИ 16-34-01026 и 16-34-60242.

ВЛИЯНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ НА БИОЦЕНОЗ ВЛАГАЛИЩА

Подгорная А.В., Махмутходжаев А.Ш.

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск

Резюме

Бактериальный вагиноз во время беременности помимо нарушения флоры влагалища сопровождается изменением баланса цитокинов и антимикробных пептидов. **Цель** настоящего исследования заключалась в изучении бактериального, цитокинового и антимикробного компонентов неспецифического иммунитета влагалища во II и III триместрах беременности у женщин с рецидивирующим бактериальным вагинозом и при нормальном течении гестации. **Материалы и методы.** Обследовано 40 беременных с рецидивирующим бактериальным вагинозом, составивших первую группу наблюдения, и 40 здоровых женщин в период гестации, включенных во вторую группу. Средний срок беременности на начало исследования составил $14,8 \pm 2,0$ недель. В обеих группах осуществляли анализ клинических и лабораторных характеристик биоценоза, качественного и количественного состава влагалищной флоры, определяли содержание β -дефензина-2 (HBD-2), интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β), интерлейкина-4 (ИЛ-4), интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-8 (ИЛ-8), интерлейкина-10 (ИЛ-10), интерферона- γ (ИНФ- γ) в смывах из влагалища. **Результаты.** Обнаружено сохранение умеренного дисбиоза влагалища у большинства беременных с рецидивирующим бактериальным вагинозом при сроке 30 недель за счет увеличения относительного содержания отдельных видов анаэробных микроорганизмов. В то же время в обеих группах в начале III триместра выявлено увеличение общего количества лактобактерий с преобладанием *L. crispatus* у здоровых женщин и доминированием *L. iners* у пациенток с рецидивирующим бактериальным вагинозом. При оценке уровней изученных цитокинов и антимикробного белка статистически значимых изменений в их концентрации у пациенток с рецидивирующим бактериальным вагинозом в динамике беременности выявлено не было. При этом отмечено снижение уровней HBD-2, ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-10, ИНФ- γ у женщин данной группы по сравнению со здоровыми беременными в сопоставимые сроки гестации, что повышает риск последующих рецидивов заболевания. **Заключение.** У беременных с рецидивирующим бактериальным вагинозом и при нормальном течении гестации наблюдается увеличение абсолютного количества лактобактерий во влагалище в III триместре с отсутствием статистически значимых изменений остальных характеристик бактериального, антимикробного и цитокинового компонентов неспецифического иммунитета женского репродуктивного тракта.

Ключевые слова

Бактериальный вагиноз, беременность, антимикробные пептиды, цитокины, неспецифический иммунитет.

Статья поступила: 10.08.2017 г.; в доработанном виде: 01.09.2017 г.; принята к печати: 25.09.2017 г.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии необходимости раскрытия финансовой поддержки или конфликта интересов в отношении данной публикации.

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Для цитирования

Подгорная А.В., Махмутходжаев А.Ш. Влияние беременности на биоценоз влагалища. *Акушерство, гинекология и репродукция*. 2017; 11 (3): 43-49. DOI: 10.17749/2313-7347.2017.11.3.043-049.

VAGINAL BIOGENOSIS IN PREGNANT WOMEN

Podgornaya A.V., Makhmutkhodzhaev A.Sh.

Siberian State Medical University, Health Ministry of Russian Federation, Tomsk

Summary

*Bacterial vaginosis developing in pregnancy is associated with abnormal vaginal flora and with an imbalance of cytokines and antimicrobial peptides. The aim of this research was to study the bacterial, cytokine and antimicrobial components of the vaginal nonspecific immune system in the second and third trimesters of pregnancy among patients with recurrent bacterial vaginosis. Materials and methods. The study included 40 pregnant women with recurrent bacterial vaginosis (Group 1), and 40 healthy pregnant women with no signs of vaginosis (Group 2). At the onset of this study, the average gestational age among the selected women was 14.8 ± 2.0 weeks. We analyzed clinical and laboratory parameters of bacterial vaginosis, qualitative and quantitative characteristics of the vaginal flora, the levels of β -defensin-2 (HBD-2), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-4 (IL-4), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), interleukin-10 (IL-10), and interferon- γ (INF- γ) in vaginal washouts. Results. The pregnant women with recurrent bacterial vaginosis tested at the 30th week of gestation, had moderate vaginal dysbiosis caused by an increased number of anaerobic microorganisms. Along with that, at the beginning of the third trimester, the number of lactobacillus bacteria increased in both Group 1 and Group 2. Notably, the predominant species in the healthy women samples was *L. crispatus* whereas in patients with recurrent bacterial vaginosis that was *L. iners*. There were no changes in the levels of cytokines and antimicrobial peptide between the second and third trimester in women with recurrent bacterial vaginosis. In this group (Group 1), however, the levels of HBD-2, IL-1 β , IL-6, IL-10, INF- γ were lower in comparison with healthy pregnant women (Group 2), which can be seen as a risk factor of further returns of the disease. Conclusion. Pregnant women with recurrent bacterial vaginosis as well as women with normal course of gestation have an increased presence of lactobacilli bacteria in their vagina during the third trimester of gestation. No other changes in the bacterial, antimicrobial and cytokine components of the nonspecific immune system in the female reproductive tract were found.*

Key words

Bacterial vaginosis, pregnancy, antimicrobial peptides, cytokines, nonspecific immunity.

Received: 10.08.2017; in the revised form: 01.09.2017; accepted: 25.09.2017.

Conflict of interests

The authors declare they have nothing to disclose regarding the funding or conflict of interests with respect to this manuscript.

Authors contributed equally to this article.

For citation

Podgornaya A.V., Makhmutkhodzhaev A.Sh. Vaginal biocenosis in pregnant women. Obstetrics, gynecology and reproduction [Akusherstvo, ginekologiya i reproduktsiya]. 2017; 11 (3): 43-49 (in Russian). DOI: 10.17749/2313-7347.2017.11.3.043-049.

Corresponding author

Address: Moskovskiy trakt, 2, Tomsk, Russia, 634050.

E-mail: an_podgornaya@mail.ru (Podgornaya A.V.).

Введение

Поддержание нормоценоза влагалища обеспечивается адекватным взаимодействием бактериального, цитокинового и антимикробного звеньев неспецифического иммунитета репродуктивного тракта. Нормальное течение беременности характеризуется доминированием лактобактерий с уменьшением количества аэробных и анаэробных микроорганизмов

преимущественно к III триместру, а так же увеличением продукции антимикробных пептидов и цитокинов влагалища [1, 2]. С другой стороны, при развитии бактериального вагиноза (БВ) изменение микрофлоры влагалища оказывает влияние на другие компоненты защитной системы репродуктивного тракта со снижением антимикробной и увеличением провоспалительной активности [3-5]. Показано уменьшение

выработки дефензинов на фоне увеличения продукции интерлейкина-1 β (ИЛ-1 β), интерлейкина-6 (ИЛ-6), интерлейкина-8 (ИЛ-8), интерлейкина-10 (ИЛ-10), интерферона- γ (ИНФ- γ) [6-8].

Цель исследования заключалась в изучении бактериального, цитокинового и антимикробного компонентов неспецифического иммунитета влагалища во II и III триместрах беременности у женщин с рецидивирующим БВ и при нормальном течении гестации.

Материалы и методы

Обследовано 80 беременных в $14,8 \pm 2,0$ недель гестации (от 13 до 20 недель). Первую группу составили 40 беременных с рецидивирующим БВ в период ремиссии с наличием не менее двух подтвержденных эпизодов заболевания за истекший период беременности. Вторая группа сформирована из 40 здоровых беременных. После родов первая группа пациенток была разделена на 2 подгруппы в зависимости от наличия или отсутствия повторных эпизодов заболевания от момента вступления в исследование до конца гестации. В исследование не включались беременные с наличием инфекционно-воспалительных заболеваний нижнего отдела репродуктивного тракта другой этиологии, в числе которых заболевания, передающиеся половым путем, кандидоз, аэробные вагиниты.

Изучали клинические и лабораторные характеристики биоценоза, качественный и количественный состав влагалищной флоры, определяли содержание β -дефензина-2 (HBD-2), ИЛ-1 β , интерлейкина-4 (ИЛ-4), ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИНФ- γ в смывах из влагалища. Отбор материала для лабораторного исследования осуществляли на этапе включения в исследование и в 30 недель беременности.

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 количества определяемого микроорганизма к величине общей бактериальной массы (ОБМ). 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, от -0,4 и выше указывали 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, Россия) по рекомендуемой производителями методике.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью лицензионной программы Statistica 8.0 (StatSoft, Inc., США). Использовались методы описательной статистики с вычислением центральных тенденций и их размаха для количественных переменных, процентной доли признака для качественных

данных. Результаты выражали в виде медианы (Me) и интерквартильного интервала [Q_{25} ; Q_{75}], среднего арифметического (M), его стандартного отклонения (σ) и в процентах. Для сравнения групп по количественным переменным применяли непараметрический критерий Манна-Уитни для независимых выборок и критерий 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 обсуждение

Пациентки основной и контрольной групп были сопоставимы по возрастным характеристикам, сроку гестации и паритету. В ранее проведенной работе были показаны особенности биоценоза влагалища при рецидивирующем течении бактериального вагиноза во II триместре беременности, проявляющиеся в сохранении отдельных лабораторных признаков заболевания у 87,5% пациенток, присутствием умеренного дисбиоза у 80% женщин с преобладанием *L. iners* и увеличением относительного содержания видов *Megasphaera*, *Veillonella*, *Dialister*, *Sneathia*, *Leptotrichia*, *Fusobacterium* [9].

Анализ встречаемости лабораторных критериев БВ в III триместре беременности не выявил статистически значимых различий по сравнению с первой половиной беременности, несмотря на уменьшение абсолютного количества случаев повышенного pH, наличия ключевых клеток и положительного аминного теста в обеих группах (**табл. 1**).

При этом сравнение показателей у пациенток первой и второй групп в 30 недель обнаружило статистически значимое увеличение pH у женщин с БВ и отсутствие значимых изменений других показателей. Таким образом, с увеличением срока гестации не произошло значимых изменений в частоте встречаемости лабораторных признаков дисбиоза влагалища с сохранением повышенного pH у беременных с рецидивирующим БВ, что, вероятно, определяется особенностями бактериального состава.

Сравнение микрофлоры влагалища в различные периоды беременности выявило увеличение абсолютного и относительного количества лактобактерий в III триместре в обеих группах при стабильности показателей ОБМ у здоровых женщин и увеличении ОБМ у пациенток с рецидивирующим БВ (**табл. 2**).

Несмотря на это, у 75% пациенток первой группы сохранялось состояние умеренного дисбиоза со снижением доли лактобактерий в ОБМ менее 80%. При этом показатели ОБМ и *Lactobacillus* spp. в 30 недель были достоверно ниже по сравнению со здоровыми беременными.

По-прежнему преобладающим штаммом лактобактерий у женщин с рецидивирующим БВ являлись *L. iners* по сравнению с *L. crispatus* для здоровых беременных. При этом увеличение общего количества лактобактерий в первой группе произошло за счет

Критерии	Группа 1 (n = 40)		p*	Группа 2 (n = 40)		p [#]	p ^к
	13-20 недель n (%)	30 недель n (%)		13-20 недель n (%)	30 недель n (%)		
pH более 4,4	33 (82,5%)	9 (72,5%)	0,174	6 (15,0 %)	3 (7,5%)	0,379	0,015
Ключевые клетки	9 (25,5%)	5 (12,5%)	0,288	5 (12,5%)	3 (7,5%)	0,416	0,416
Положительный аминный тест	16 (40,0%)	10 (25,0%)	0,220	3 (7,5%)	2 (5,0%)	0,459	0,272

Таблица 1. Лабораторные критерии бактериального вагиноза у беременных с рецидивирующим бактериальным вагинозом и у здоровых беременных.

Примечание: p* – достоверность различий между пациентками первой группы во II и III триместрах беременности;
p[#] – достоверность различий между пациентками второй группы во II и III триместрах беременности;
p^к – достоверность различий между пациентками первой и второй групп в III триместре беременности.

Table 1. Laboratory parameters of bacterial vaginosis in pregnant women with recurrent bacterial vaginosis and in healthy pregnant women.

Note: p* – significance of the differences between women in Group 1 in the II and III trimesters of pregnancy;
p[#] – significance of the differences between women in Group 2 in the II and III trimesters of pregnancy;
p^к – significance of the differences between women in Group 1 and Group 2 in the III trimester of pregnancy.

Показатели, Ig	Группа 1 (n = 40)		p*	Группа 2 (n = 40)		p [#]	p ^к
	13-20 недель	30 недель		13-20 недель	30 недель		
Общая бактериальная масса	7,0 ± 0,4	7,3 ± 0,3	< 0,001	7,6 ± 0,3	7,7 ± 0,2	0,199	< 0,001
Lactobacillus spp.	6,7 ± 0,3	7,0 ± 0,4	< 0,001	7,6 ± 0,2	7,7 ± 0,2	0,033	< 0,001

Таблица 2. Содержание лактобактерий и общая бактериальная масса во влагалище у беременных с рецидивирующим бактериальным вагинозом и у здоровых беременных в разные сроки гестации (M ± σ).

Примечание: p* – достоверность различий между пациентками первой группы во II и III триместрах беременности;
p[#] – достоверность различий между пациентками второй группы во II и III триместрах беременности;
p^к – достоверность различий между пациентками первой и второй групп в III триместре беременности.

Table 2. The total bacterial mass and content of lactobacilli in the vagina of pregnant women with recurrent bacterial vaginosis and in healthy pregnant women at different gestation periods (M ± σ).

Note: p* – significance of the differences between women in Group 1 in the II and III trimesters of pregnancy;
p[#] – significance of the differences between women in Group 2 in the II and III trimesters of pregnancy;
p^к – significance of the differences between women in Group 1 and Group 2 in the III trimester of pregnancy.

Показатели, Ig	Группа 1 (n = 40)		p*	Группа 2 (n = 40)		p [#]	p ^к
	13-20 недель	30 недель		13-20 недель	30 недель		
L. crispatus	5,5 ± 1,3	6,3 ± 1,0	< 0,001	7,5 ± 0,2	7,6 ± 0,2	< 0,001	< 0,001
L. iners	6,4 ± 0,8	6,8 ± 0,5	< 0,001	4,3 ± 0,9	4,5 ± 0,7	0,333	< 0,001

Таблица 3. Содержание отдельных видов лактобактерий во влагалище у беременных с рецидивирующим бактериальным вагинозом и у здоровых беременных в разные сроки гестации (M ± σ).

Примечание: p* – достоверность различий между пациентками первой группы во II и III триместрах беременности;
p[#] – достоверность различий между пациентками второй группы во II и III триместрах беременности;
p^к – достоверность различий между пациентками первой и второй групп в III триместре беременности.

Table 3. The content of individual lactobacillus species in the vagina of pregnant women with recurrent bacterial vaginosis and in healthy pregnant women at different gestation periods (M ± σ).

Note: p* – significance of the differences between women in Group 1 in the II and III trimesters of pregnancy;
p[#] – significance of the differences between women in Group 2 in the II and III trimesters of pregnancy;
p^к – significance of the differences between women in Group 1 and Group 2 in the III trimester of pregnancy.

обоих видов, а во второй группе наблюдалось увеличение только L. crispatus при отсутствии статистически значимого изменения содержания L. iners (табл. 3).

Состояние умеренного дисбиоза у беременных с рецидивирующим БВ поддерживается не только за счет снижения лактобацилл, но и сохраняющимся в

30 недель увеличением относительного количества отдельных видов анаэробов (*Megasphaera*, *Veilonella*, *Dialister*, *Sneathia*, *Leptotrihia*, *Fusobacterium*) по сравнению с первой группой (табл. 4).

В III триместре микроорганизмы видов *Megasphaera*, *Veilonella*, *Dialister* составили около 25% от общего количества бактерий во влагалище у пациенток с БВ; на *Sneathia*, *Leptotrihia*, *Fusobacterium* пришлось приблизительно 20%, что значительно превысило показатели у здоровых беременных. Данная отличительная черта микроценоза влагалища с большой процентной долей отдельных видов анаэробов может быть связана как с врожденными особенностями микробиома влагалища, так и вызвана влиянием других звеньев неспецифического иммунитета половых путей, в частности, цитокинового.

Анализ цитокинового и антимикробного состава влагалища у обследованных женщин не выявил статистически значимых различий в изученных показателях в различные периоды беременности (табл. 5).

Сравнение показателей в 30 недель выявило более высокие значения НВД-2, ИЛ-1β, ИЛ-6, ИЛ-10, ИНФ-γ у здоровых беременных, что аналогично различиям во II триместре, изложенным в предыдущей работе [9]. Разницы в содержании ИЛ-4 и ИЛ-8 не обнаружено.

Среди пациенток первой группы были выделены 12 женщин (30%) с рецидивом БВ в период от момента

включения в исследование до родов. При этом повторные эпизоды заболевания были зарегистрированы у 65% до 28 недель, у оставшихся 35% – после указанного срока гестации. Анализ лабораторных признаков бактериального вагиноза показал наличие повышенного pH у 100% пациенток в данной подгруппе ($p = 0,064$ и $p = 0,025$ для II и III триместров, соответственно), в то время как статистически значимых различий в частоте встречаемости ключевых клеток и положительного аминного теста не было получено. Микрофлора влагалища у женщин данной группы характеризовалась статистически значимым более низким содержанием лактобактерий в III триместре ($6,8 \pm 0,3$ у пациенток с рецидивом БВ против $7,1 \pm 0,4$ у женщин с последующим безрецидивным периодом; $p = 0,011$). Статистически значимых различий по уровню ОБМ и общему количеству лактобацилл во II триместре не выявлено. Несмотря на отсутствие изменений в содержании *L. crispatus* и *L. iners*, установлено наличие *L. iners* у 100%, а *L. crispatus* – только у 25% ($p = 0,003$) и 33,3% ($p = 0,017$) женщин с последующими рецидивами во II и III триместрах, что, в свою очередь, может являться одной из причин возникновения повторных эпизодов заболевания. Также было обнаружено повышение относительного содержания отдельных видов анаэробов во II триместре при рецидивах: *Sneathia* spp./*Leptotrihia* spp./*Fusobacterium* spp.

Виды бактерий lg[N/ОБМ]▼	Группа 1 (n = 40)		p*	Группа 2 (n = 40)		p#	p ^к
	13-20 недель	30 недель		13-20 недель	30 недель		
<i>Gardnerella vaginalis</i> / <i>Prevotella bivia</i> / <i>Porphyromonas</i> spp.	-3,0 ± 0,7	-3,2 ± 0,6	0,192	-3,0 ± 0,5	-3,2 ± 0,3	0,154	0,806
<i>Atopobium vaginae</i>	-3,1 ± 0,4	-3,2 ± 0,2	0,344	-2,9 ± 0,4	-3,0 ± 0,3	0,193	0,075
<i>Mobiluncus</i> spp./ <i>Corynebacterium</i> spp.	-2,9 ± 0,8	-3,1 ± 0,4	0,295	-3,1 ± 0,7	-3,3 ± 0,6	0,247	0,308
<i>Megasphaera</i> spp./ <i>Veilonella</i> spp./ <i>Dialister</i> spp.	-0,7 ± 0,4	-0,7 ± 0,1	0,570	-3,7 ± 0,7	-3,6 ± 0,6	0,689	< 0,001
<i>Sneathia</i> spp./ <i>Leptotrihia</i> spp./ <i>Fusobacterium</i> spp.	-0,8 ± 0,4	-0,8 ± 0,1	0,740	-3,6 ± 0,8	-3,5 ± 0,6	0,498	< 0,001
<i>Eubacterium</i> spp.	-3,0 ± 0,5	-3,4 ± 0,5	0,063	-3,2 ± 0,4	-3,4 ± 0,5	0,220	0,753
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	-3,2 ± 0,2	-3,2 ± 0,2	0,460	-3,0 ± 0,3	-3,3 ± 0,6	0,079	0,902
<i>Lachnobacterium</i> spp./ <i>Clostridium</i> spp.	-2,8 ± 0,7	-3,2 ± 0,5	0,073	-3,0 ± 0,5	-3,1 ± 0,4	0,216	0,275

Таблица 4. Относительное содержание анаэробных микроорганизмов во влагалище у беременных с рецидивирующим бактериальным вагинозом и у здоровых беременных в разные сроки гестации (M ± σ).

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

p* – достоверность различий между пациентками первой группы во II и III триместрах беременности;

p# – достоверность различий между пациентками второй группы во II и III триместрах беременности;

p^к – достоверность различий между пациентками первой и второй групп в III триместре беременности.

Table 4. Proportion of anaerobic microorganisms in the vagina of pregnant women with recurrent bacterial vaginosis and in healthy pregnant women at different gestation periods (M ± σ).

Note: lg[N/ОБМ]▼ – the logarithm of the ratio “the number of bacteria to total bacterial mass”;

p* – significance of the differences between women in Group 1 in the II and III trimesters of pregnancy;

p# – significance of the differences between women in Group 2 in the II and III trimesters of pregnancy;

p^к – significance of the differences between women in Group 1 and Group 2 in the III trimester of pregnancy.