

На правах рукописи

ЛЕТУНОВСКАЯ

Анна Борисовна

**ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫЙ ВЫБОР ГОРМОНАЛЬНОЙ
КОНТРАЦЕПЦИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНЕТИЧЕСКИХ
ОСОБЕННОСТЕЙ И МИКРОБИОЦЕНОЗА ВЛАГАЛИЩА**

3.1.4. Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор, академик РАН

Серов Владимир Николаевич

Официальные оппоненты:

Минкина Галина Николаевна – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра акушерства и гинекологии лечебного факультета, профессор кафедры

Озолия Людмила Анатольевна – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра акушерства и гинекологии лечебного факультета, профессор кафедры

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного последипломного образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «___» _____ 2022 г. в 14 часов на заседании диссертационного совета 72.1.010.01 при Государственном бюджетном учреждении здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» Министерства здравоохранения Московской области (101000, Москва, ул. Покровка, д. 22а).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте (<http://moniiag.ru>) Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» Министерства здравоохранения Московской области.

Автореферат разослан «___» _____ 2022 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Зайдиева Янсвят Зайдилаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Гормональная контрацепция является современным, постоянно совершенствующимся методом предохранения от нежелательной беременности. Комбинированные гормональные контрацептивы (КГК) – наиболее востребованные паттерны обратимой контрацепции (J.P. Brooks, 2017).

В России гормональные контрацептивные средства используют 12,5% женщин репродуктивного возраста, внутриматочные средства (ВМС) – 12,9% соответственно (Н.М. Подзолкова и соавт., 2014; Е.В. Уварова и соавт., 2018; Г.Т. Сухих и соавт., 2019).

Известно, что микрофлора влагалища играет исключительно важную роль и рассматривается как своеобразная экологическая система, реагирующая на любые изменения состояния организма женщины. На состав вагинальной микрофлоры, наряду с изменениями в соответствии с фазой менструального цикла, также могут оказывать воздействие такие экзо- и эндогенные факторы, как сексуальная активность и использование контрацептивных средств (В.Н. Прилепская и соавт., 2019; Г.Н. Минкина и соавт., 2019; F. De Seta и соавт., 2012).

Рядом исследователей описано развитие вульвовагинальных симптомов у пациенток, использующих влагалищное контрацептивное кольцо. В рамках сравнительного исследования изучения влияния влагалищного кольца и КОК на микробиоценоз влагалища с оценкой роста культур дрожжеподобных грибов и лактобактерий до и в процессе контрацепции не было отмечено увеличения количества вагинитов (S. Dasari и соавт., 2016).

Однако существуют работы, которые указывают, что применение КОК ассоциируется с повышением частоты кандидоза влагалища за счет влияния их эстрогенного компонента. Предполагается, что эстрогены способствуют формированию обогащенной гликогеном среды влагалища, благоприятной для роста грибов рода *Candida* и других видов дрожжевых грибов. Аналогичный механизм имеет место и при применении других видов гормональных контрацептивов (S.E. Fosch и соавт., 2018).

Таким образом, изучение влияния гормональных контрацептивов на микробиоценоз влагалища остается актуальным и пока нерешенным вопросом и требует поиска новых молекулярно–генетических предикторов, определяющих нарушения микробиоценоза.

Актуальным и перспективным в настоящее время является изучение роли полиморфизма генов врожденного иммунитета, как фактора риска дисбиотических нарушений микрофлоры влагалища и рецидивов вагинитов при использовании различных методов контрацепции.

Степень разработанности темы исследования

Научная дискуссия о причинах развития дисбиотических состояний вагинальной экосистемы продолжают до сих пор. Неоднозначным остаются вопросы о роли влияния гормональной контрацепции в возникновении дисбиотических состояний влагалища и повышении частоты вагинитов. В ряде случаев клиническое обследование, как правило, не позволяет установить этиологическую природу заболевания, так как воспалительные процессы, вызываемые условно патогенной микрофлорой, в подавляющем большинстве случаев не имеют специфических клинических симптомов. В этой связи микробиологические и молекулярно - генетические исследования играют ключевую роль в диагностике данных заболеваний.

По мере совершенствования микробиологических технологий, углублялись представления о микробиоценозе влагалища. Большинство опубликованных работ касаются выделения и идентификации бактериальных видов без определения их численности. В меньшем числе работ изучали общую численность всех микроорганизмов, но не отдельных видов. В последние годы появились исследования, в которых проведено изучение качественного и количественного состава микробиоценоза.

Таким образом, поиск маркеров объективной лабораторной диагностики урогенитальных инфекционно-воспалительных заболеваний, вызываемых условно-патогенной микрофлорой для репродуктивного здоровья женщин, обу-

славливает настоятельную потребность в разработке и внедрении в практическое здравоохранение новых диагностических методов.

Вместе с тем, решение этих задач позволит не только расширить возможности повышения эффективности контрацепции, но и внедрить новые подходы в диагностике предотвращения возникновения побочных эффектов, в их числе возникновения дисбиотических состояний влагалища.

Цель исследования - разработать рекомендации по выбору современных контрацептивных средств в зависимости от состояния микробиоценоза влагалища и индивидуальных генетических особенностей.

Задачи исследования:

1. Изучить частоту встречаемости патологических выделений у женщин, использующих гормональные методы контрацепции, по обращаемости в НПО.

2. Определить качественный и количественный состав вагинальной микрофлоры методом ПЦР в режиме реального времени у пациенток, планирующих контрацепцию.

3. Выявить частоту и определить факторы риска нарушения микробиоценоза влагалища на фоне применения различных методов гормональной контрацепции путем динамического наблюдения.

4. Изучить вклад молекулярно-генетических предикторов в формирование групп риска развития дисбиотических процессов влагалища при применении гормональной контрацепции.

5. Разработать алгоритм ведения пациенток репродуктивного возраста, использующих различные методы гормональной контрацепции, имеющих предрасположенность к нарушению микробиоценоза влагалища с учетом данных клинических и молекулярно-генетических методов исследования.

Научная новизна исследования

Изучено состояние вагинального микробиоценоза с оценкой качественного и количественного состава микрофлоры методом ПЦР в режиме реального времени и выявлены особенности его нарушений у женщин репродуктивного

возраст на фоне применения различных методов гормональной контрацепции.

Определен вклад различных видов лактобактерий: *L. crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. vaginalis*, *L. acidophilus*, *L. plantarum* в формировании нормофлоры у женщин, использующих гормональную контрацепцию.

Впервые изучен вклад индивидуальных молекулярно–генетических особенностей в формировании групп риска развития нарушения биоценоза влагалища на фоне применения гормональной контрацепции в зависимости от ее вида.

Разработана модель, позволяющая определить пациенток с высоким риском развития вагинита на фоне применения контрацепции.

Теоретическая и практическая значимость работы

Обоснована необходимость проведения оценки состояния микробиоценоза влагалища перед назначением гормональной контрацепции для предотвращения развития воспалительных заболеваний нижних отделов полового тракта. Разработаны критерии оценки структуры микробиоты влагалища для выявления факторов риска дисбиотических нарушений при применении гормональной контрацепции.

Обоснована практическая значимость определения полиморфизма генов *IL4*, *IL1R1*, *IL1RN* и доказана целесообразность генотипирования женщин перед назначением гормональной контрацепции (ГК) для выявления группы риска развития воспалительных заболеваний нижних отделов полового тракта.

Разработаны рекомендации по выбору метода гормональной контрацепции в зависимости от состояния микробиоценоза влагалища и генотипа пациентки.

Разработан и внедрен алгоритм ведения женщин репродуктивного возраста, планирующих использование методов гормональной контрацепции с учетом молекулярно-генетических предикторов, влияющих на биоценоз влагалища.

Определены группы риска по развитию дисбиоза на фоне применения контрацепции в исследуемых группах.

Методология и методы исследования

На базе ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И.Кулакова» Минздрава России (директор – академик РАН Сухих Г.Т.) проведено анкетирование и обследование 300 женщин репродуктивного возраста (18-45 лет), желающих использовать гормональные методы контрацепции. Исследование носило ретроспективно-проспективный характер. В проспективное наблюдательное исследование включено 120 женщин, сформированы 4 равные по численности группы.

В работе использованы современные методы: общеклинические, цитологический, кольпоскопия, УЗИ, молекулярно–генетические (оценка качественного и количественного состава вагинальной микрофлоры для определения факторов риска нарушения микробиоценоза влагалища с применением молекулярно-генетических предикторов методом ПЦР в режиме реального времени). Статистическая обработка проведена с помощью программы «Statistica» v.10.0.

Положения, выносимые на защиту

1. Дисбиоз влагалища, обусловленный повышением доли *Gardnerella vaginalis* (более 10^4 ГЭ/образец), является неблагоприятным фактором при назначении гормональной контрацепции. Эти пациентки составляют группу риска развития различных неспецифических вагинитов.

2. При нарушении вагинального микробиоценоза на фоне применения гормональной контрацепции не характерны клинические проявления. Фактором риска развития неспецифического вагинита на фоне применения гормональной контрацепции является исходное нарушение структуры микрофлоры влагалища, заключающиеся в снижении доли лактобактерий, изменении их видового состава, увеличении доли УПМ.

3. Генетические особенности являются дополнительным фактором риска, способствующим прогрессированию дисбиотических состояний. Пациентки с генотипом Т/Т полиморфизма *IL4*: -590 С>Т имеют повышенный риск развития воспалительных заболеваний на фоне гормональной контрацепции.

4. Математическая модель, включающая наличие бессимптомного дисбиоза до назначения контрацепции и наличие гомозиготного носительства гапло-

типа TT по локусам -33 C>T и -590 C>T гена *IL4*, позволяет предсказать развитие клинической картины дисбиоза на фоне приема гормональной контрацепции с чувствительностью 80 (44-98) % и специфичностью 66 (56-75) %.

Личный вклад автора

Автором проведен анализ медицинских ресурсов по теме исследования, по его результатам подготовлен аналитический обзор, определены критерии включения и исключения пациенток в исследование, разработан дизайн исследования. Автор принимал непосредственное участие в проведении и интерпретации результатов клинико-лабораторных и молекулярно-генетических исследований, в обобщении и статистической обработке полученных данных. Автором осуществлялось обследование и ведение пациенток на всех этапах исследования.

Степень достоверности результатов

Обоснованность научных положений, сформулированных в диссертации, доказывается объемом исследований и использованием значительного количества диагностических методов. Статистическая обработка данных выполнена в соответствии с необходимыми требованиями и обеспечивает достоверность результатов и сформулированных выводов. Выводы и практические рекомендации соответствуют материалам, приведенным в диссертации.

Апробация результатов исследования

Основные положения и результаты диссертации доложены и обсуждены на клинических конференциях ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (в период с 2010 по 2020 гг.). Результаты представлены на Всероссийском конгрессе Снегиревские чтения: научно-практическая конференция «Системное влияние препаратов гормональной контрацепции и заместительной гормональной терапии» (Москва, 2011), Всероссийском конгрессе «Амбулаторно-поликлиническая практика – новые горизонты» (Москва, 2018), Российском научном форуме «Мать и дитя» (2019).

Работа обсуждена на заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России 03.09.2020, протокол №13.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты работы внедрены в клиническую практику и учебный процесс ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 17 научных работ, в том числе 10 статей в рецензируемых научных изданиях, включенных в Перечень ВАК при Минобрнауки России.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 138 страницах и состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов, результатов собственных исследований и их обсуждения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка использованной литературы. Иллюстрированный материал представлен 18 таблицами и 12 рисунками. Список использованной литературы включает 147 источников (65 отечественных работ и 82 зарубежные).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Из 300 женщин репродуктивного возраста по результатам анкетирования (ВОЗ, 2015) с целью определения противопоказаний к назначению современных методов контрацепции отобраны 120 женщин в возрасте от 18 до 45 лет (средний возраст $30,7 \pm 7,03$ лет), которые методом случайных чисел разделены на четыре равные по численности группы: I группа – 30 пациенток, использующие барьерные методы контрацепции; II группа (КОК) – 30 пациенток, использующие монофазный комбинированный оральные эстроген-гестагенный контрацептивный препарат, содержащий 20 мкг этинилэстрадиола и 3 мг дроспиренона; III группа (Кольцо) – 30 пациенток, использующие влагалищное контрацептивное кольцо, содержащее этинилэстрадиол (11,7 мг) и этоноргестрел (2,7 мг). В сутки выделяется 15 мкг этинилэстрадиола и 120 мкг этоноргестрела; IV группа (ВМС) – 30 пациенток, использующие внутриматочную

гормональную рилизинг-систему, содержащую 52 мг левоноргестрела, ежедневно выделяющую в полость матки 20 мкг гормона.

Динамическое наблюдение проводилось до и через 3, 6, 9 месяцев после начала их использования.

Критерии включения: репродуктивный возраст (18–45 лет), регулярный менструальный цикл, отсутствие приема антибактериальных препаратов и гормональных контрацептивов в течение 3-х месяцев до обследования, заинтересованность в надежной контрацепции, соматически и психически здоровые женщины, регулярная половая жизнь, отсутствие инфекций, передающихся половым путем (ИППП). Критерии исключения формировались согласно рекомендациям приемлемости и безопасности ГК (ВОЗ, 2015). Для влагалищного кольца дополнительно: выпадение шейки матки, грыжа мочевого пузыря. Для ВМС дополнительно: ВЗОМТ в настоящее время, ИППП в настоящее время, туберкулез внутренних половых органов, врожденная аномалия половых органов, миома матки (субмукозный узел или узел деформирующий полость матки), трофобластическая болезнь, пузырный занос, хориокарцинома (в анамнезе), функциональные кисты яичников. Все пациентки подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

В работе использованы современные методы обследования: общеклинические, цитологическое исследование, молекулярно-генетические методы, кольпоскопия, УЗИ органов малого таза и молочных желез.

Оценка состава вагинальной микробиоты проводилась методом ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) (Фемофлор16). Оценка состояния биоценоза влагалища проводилась согласно разработанным критериям Е.С. Ворошиловой и соавт. (2011).

Для оценки видового разнообразия дисбиоза использовалась величина D, равная количеству групп условно патогенных микроорганизмов, доля которых в ОБМ превышала 5% порог.

Для оценки видового состава лактофлоры проводили определение количества *Lactobacillus spp.* и 8 видов лактобацилл (*L. crispatus*, *L. iners*, *L. jensenii*,

L. gasseri, *L. johnsonii*, *L. vaginalis*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*) методом ПЦР-РВ с использованием реагентов (ООО «НПО ДНК-Технология», Москва). Для анализа структуры нормофлоры были отобраны только те образцы, в которых сумма всех выявленных видов лактобацилл была сопоставима с общим количеством *Lactobacillus spp.* и составляла не менее 50% ОБМ.

Для изучения полиморфизма генов проводили выделение ДНК из периферической крови по методу Higuchi (R.Higuchi, H.Erlich, 1989) с некоторыми модификациями. В работе определяли следующие генные полиморфизмы: *CD14*: -260 (-159) C>T (rs2569190), *IL10*: -592 A/C (rs1800872), *IL1A*: -889 C>T (rs1800587), *IL1B*: -31 T>C (rs1143627), *IL1B*: 3953 (3954) C>T (rs1143633), *IL1R1*: Pst11970 C>T (rs2234650), *IL1RN*: 11100 msp1 T>C (rs315952), *IL4*: -33 C>T (rs2070874), *IL4*: -590 C>T (rs2243250), *IL4R*: 1902 A>G (Gln576Arg) (rs1801275), *IL6*: 174 C>G (rs1800795), *IL6R*: 1510 (1073) A>C (Asp358Ala) (rs2228145 (rs8192284)), *IL8*: -251 A>T (rs4073), *TGFBI*: -509 C>T (rs1800469), *TLR9*: -1486 T>C (rs187084), *TNF*: -238 G>A (rs361525).

Статистическая обработка данных выполнена с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel» и пакета прикладных программ «Statistica for Windows» v. 10.0, StatSoft Inc. (США) и IBM SPSS Statistica v23 (США).

Числовые параметры были проверены на соответствие нормальному закону распределения (критерий Колмогорова-Смирнова) и представлены в формате $M \pm SD$, где M – среднее значение, SD – стандартное отклонение, в случае отсутствия нормального распределения – в виде $Me (Q_{25\%} — Q_{75\%})$, где Me — медиана, а $Q_{25\%}$; и $Q_{75\%}$ – верхний и нижний квартили; качественные показатели представлены в виде абсолютных и относительных величин (абс./общее количество (относит. %)). В работе использовался точный критерий Фишера, критерии Хи-квадрат, Крускала-Уоллиса, Манна-Уитни, при множественном сравнении применяли поправку Бонферрони, рассчитывали отношение шансов и соответствующий 95% доверительный интервал.

Результаты исследования и их обсуждение

До начала применения контрацепции состояние влагалищной микрофлоры у большей части пациенток 78/120 (65%) было классифицировано как нормоценоз, у 7/120 (5,8%) женщин состояние микробиоценоза влагалища соответствовало критериям выраженного дисбиоза и у 35/120 (29,2%) – умеренного дисбиоза. Статистически значимых различий по частоте встречаемости дисбиоза на момент назначения контрацепции между группами выявлено не было.

Нами было выявлено, что если в структуре умеренных дисбиозов доминировали анаэробные дисбиозы (28/35 (80,0%) всех случаев), то при выраженных дисбиозах увеличивалась роль факультативных анаэробов 3/7 (42,9% всех случаев). При этом у всех пациенток с дисбиозом в качестве доминирующих в составе микробиоценоза облигатных анаэробов чаще всего выявляли *Gardnerella spp.* 55,5% и *Eubacterium spp.* 61,3%, среди факультативных анаэробов — *Enterobacteriaceae spp.* 15,5%.

Статистически значимых различий в распределении женщин с дисбиозом микрофлоры по группам выявлено не было ($p > 0,05$): в I группе – 9/30 (30,0%), во II группе – 11/30 (36,7%), в III группе – 12/30 (40,0%), в IV группе – 10/30 (33,3%).

Несмотря на отсутствие клинических проявлений у пациенток, нарушение микробиоценоза влагалища исходно было выявлено у 12/120 (10,0%) женщин, что, возможно, обусловлено пониженной индивидуальной реактивностью данных пациенток. Статистически значимых различий в распределении женщин с нарушением микробиоценоза влагалища по группам выявлено не было ($p > 0,05$): 2/30 (6,7%) – в I группе, 3/30 (10%) – во II группе, 4/30 (13,3%) – в III группе, 3/30 (10,0%) – в IV группе. Через 3 месяца применения контрацепции 14/120 (11,7%) женщин предъявляли жалобы на выделения из половых путей, дискомфорт в области вульвы, которым была назначена местная противовоспалительная терапия. При этом в I группе лечение было назначено 11/30 (36,7%) пациенткам, в III группе – 3/30 (11,1%) (OR=0,20 (0,05-0,82), $p=0,03$), а во II и

IV группах ни одна пациентка не нуждалась в лечении (OR=0,06 (0-0,93), p=0,008).

Дополнительно нами было установлено, что 10/14 (71,4%) пациенток, которые в дальнейшем нуждались в лечении, еще до назначения контрацепции имели бессимптомный дисбиоз. Полученные данные позволили считать дисбиотическое состояние микрофлоры влагалища при назначении контрацепции фактором риска развития в последующем воспалительных заболеваний влагалища. Дисбиоз влагалища наблюдался через 6 месяцев на фоне применения контрацепции наиболее существенно в I и III группах 19/30 (63,3%) и 20/30 (66,7%) соответственно; во II группе 14/30 (46,7%), в IV группе 12/30 (40,0%). Тогда как доля дисбиоза влагалища среди пациенток, не нуждавшихся в применении противовоспалительного лечения, составила: 5/30 (16,7%) в I группе, 8/30 (26,7%) во II группе, 10/30 (33,3%) в III группе, 11/30 (36,7%) в IV группе. Следует отметить, что у пациенток I и II группы исходно до применения контрацепции наблюдался бессимптомный дисбиоз, свидетельствующий о наличии генетических факторов риска нарушения микробиоценоза влагалища у данных пациенток. Таким образом, вероятность применения противовоспалительного лечения на фоне контрацепции увеличивалась более, чем в 3 раза, при исходном дисбиозе. Полученные данные позволили считать дисбиотическое состояние микрофлоры влагалища при назначении контрацепции фактором риска развития в последующем воспалительных заболеваний.

Проведен анализ возможных предикторов возникновения воспалительных заболеваний. Профиль микроорганизмов, выявленных на первом визите у пациенток, которые в дальнейшем нуждались в лечении, был, в целом, сходен с таковым у пациенток, не имевших дисбиотических нарушений. Тем не менее, были обнаружены некоторые различия (рис. 1).

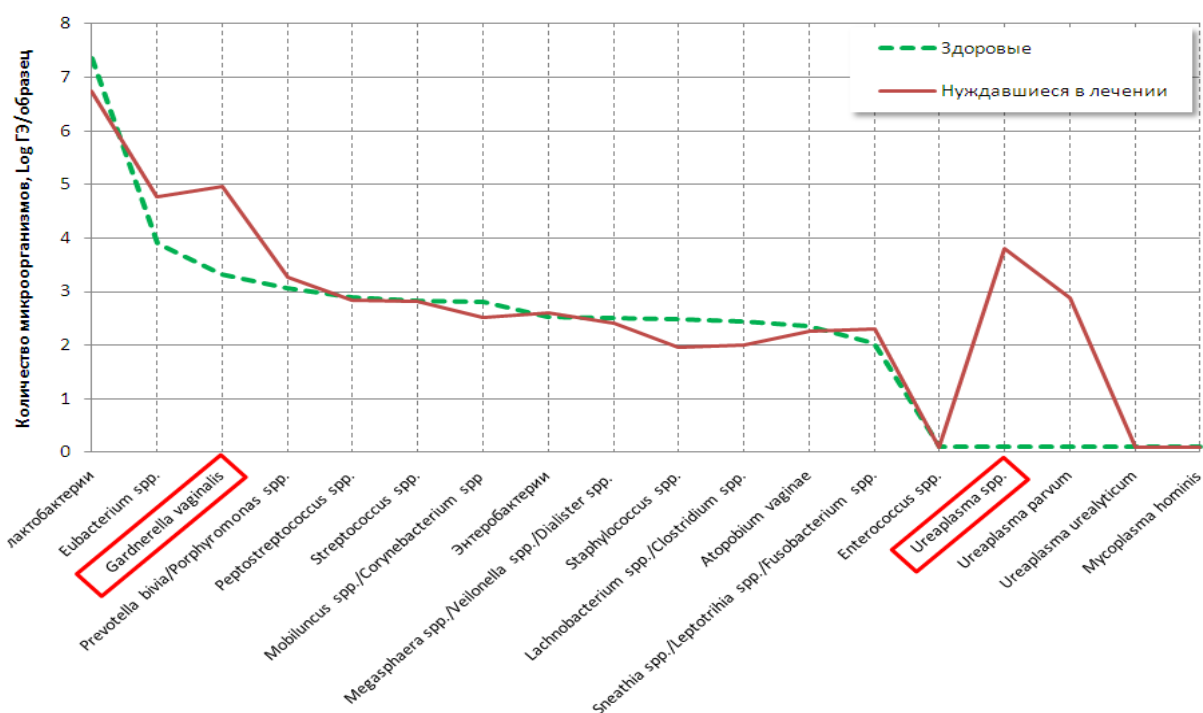


Рисунок 1 – Медиана абсолютного количества микроорганизмов, в разных группах пациенток

Исходно абсолютное количество *G.vaginalis* у пациенток, впоследствии получивших лечение, было статистически значимо выше, чем у женщин не нуждавшихся в лечении [4,9 (3,1:6,6) против 3,2 (2,4:4,9) ГЭ/образец, $p=0,02$ соответственно]. При этом в первом случае доля *G.vaginalis* в структуре биоценоза была достаточно значительной и составляла 8,13 (0,04- 41,50)% по сравнению со здоровыми женщинами, у которых данный микроорганизм не превышал 1% [0,02 (0-0,88)%]. Также для этих пациенток характерно наличие значительного количества *U.parvum* 3,7 (0-4,3) по сравнению с 0 (0-3,2) ГЭ/образец, $p=0,03$). При этом основную долю составляла *U.parvum* (2,8 (0-4,3) против 0 (0-3,1) ГЭ/образец, $p=0,04$).

Следует отметить, что *U. parvum* не является прямым антагонистом лактобактерий и может существовать как при дисбиозе, так и на фоне сохранной нормофлоры. Среди 35/106 (33,0%) пациенток, не требовавших лечения, в 23/35 (65,7%) случаев при наличии *U. parvum* наблюдалось преобладание нормофлоры, т.е. условный нормоценоз, и только в 12/35 (34,3%) случаев преобладание *U. parvum* наблюдали при дисбиозе. При этом не было статистически значимых различий в частоте встречаемости нормоценоза при наличии и отсутствии *U.*

parvum. У пациенток, в дальнейшем нуждавшихся в лечении, наблюдалось обратное соотношение: *U. parvum* был выявлен в 9/14 (64,3%) случаев, 7/9 (77,8%) женщин с *U. parvum* имели дисбиоз различной степени выраженности, тогда как условный нормоценоз, обусловленный *U. parvum*, имел место только у 2/9 (22,2%) пациенток. Такое распределение свидетельствует о вторичности наблюдаемых изменений. Появление *U. parvum* в составе микробиоценоза, по-видимому, не является этиологически значимым и свидетельствует о снижении колонизационной резистентности. Терапия у таких пациенток должна основываться на элиминации этиологически значимых групп микроорганизмов, в первую очередь *G. vaginalis*, и нормализации микробиоценоза в целом.

Обращали на себя внимание различия в частоте возникновения дисбиозов и использование терапии в зависимости от типа используемой контрацепции. Учитывая высокую частоту необходимости лечения в I группе (барьерные методы), было высказано предположение о благоприятном воздействии гормональной контрацепции на влагалищную микрофлору, а выраженность эффекта зависела от метода контрацепции. В ходе динамического наблюдения частота выявления дисбиоза во II и IV группах существенно не менялась, хотя и имела незначительную тенденцию к снижению.

У 4/42 (9,5%) женщин без клинических признаков дисбиотических процессов во влагалище были выявлены дрожжеподобные грибы в количествах более 10^4 ГЭ/мл., при отсутствии каких-либо клинических признаков воспаления и дискомфорта.

Была проанализирована структура нормофлоры в зависимости от состояния микробиоценоза влагалища (рис. 2). При дисбиозе общая частота встречаемости *L. iners* и *L. gasseri* была статистически значимо выше (56% против 40%, $p=0,03$ и 60% против 22%, $p=1,4*10^{-8}$), соответственно. При нормоценозе в структуре нормофлоры чаще наблюдалось доминирование одного вида бактерий. Так, из 48/120 (40%) случаев нормоценоза *L. iners* доминировал в 44/48 (91,7%) случаях, тогда как при дисбиозе – только в 24/42 (57,1%) (OR=8,25 (2,5–27.18), $p=8,0*10^{-5}$). Аналогичная картина наблюдалась для *L. jensenii* –

46/54 (85,2%) при нормоценозе против 11/ 31 (35,5%) при дисбиозе (OR=10,5 (3,7–29,5), $p=7,0*10^{-6}$) и для *L. gasseri* – 26/26 (100%) против 38/55 (69,1%) (OR=24,1 (1,5–397), $p=8,2*10^{-4}$). Для *L. crispatus* имела место аналогичная тенденция, однако из-за редкой встречаемости этого вида в обеих группах различия не имели статистической значимости.

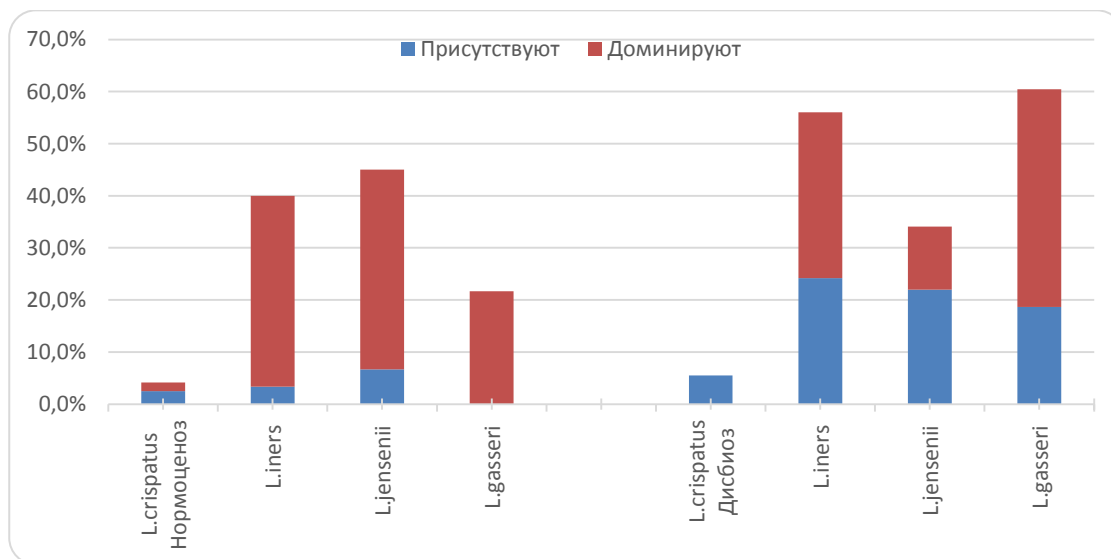


Рисунок 2 – Частота встречаемости основных видов лактобактерий в зависимости от состояния микробиоценоза влагалища у пациенток на фоне гормональной контрацепции

Значимых различий в структуре нормофлоры в зависимости от метода контрацепции в исследуемых группах на протяжении периода наблюдения выявлено не было, что свидетельствует об отсутствии отрицательного влияния контрацепции на условия существования лактобактерий во влагалище.

При анализе распределения аллелей и генотипов исследованных генов статистически значимой ассоциации с состоянием дисбиоза влагалища перед назначением контрацепции выявлено не было.

В ходе поиска генетических предикторов развития клинической картины, потребовавшей применения корригирующей терапии, было установлено, что статистически значимые различия между пациентками, нуждавшимися и не нуждавшимися в лечении, наблюдались для полиморфных локусов гена *IL4* (гаплотип -33 C>T/-590 C>T) ($p=0,02$), гена *IL1R1*: Pst11970 C>T ($p=0,0001$) и гена *IL1RN*: 11100 msp1 T>C ($p=0,014$).

Для установления наиболее вероятной модели наследования для каждого из полиморфных локусов, различавшихся по распределению аллелей между пациентками, нуждавшимися и не нуждавшимися в лечении, был проведен статистический анализ аутосомно-доминантной и аутосомно-рецессивной модели для каждого аллеля. Для полиморфного локуса гена *IL4* (гаплотип -33 C>Т/-590 C>Т) распределение генотипов соответствовало аутосомно-рецессивной модели наследования, ассоциированной с гаплотипом ТТ. Гомозиготные носительницы этого гаплотипа имели повышенный риск возникновения необходимости лечения воспалительных заболеваний нижнего отдела полового тракта на фоне применения ГК [OR=3,51 (1,55-7,93), p=0,0006].

Для полиморфного локуса *IL1R1*: Pst11970 C>Т статистически значимым оказались обе проверяемые модели. Исходя из значения p=0,0001 наиболее вероятным представляется аутосомно-доминантная модель. Согласно аутосомно-доминантной модели OR для носителей аллеля Т полиморфного локуса *IL1R1*: Pst11970 C>Т составило 4,31 (1,12-16,56), p=0,0001.

Для полиморфизма *IL1RN*: 11100 msp1 Т>С была выявлена ассоциация частотного аллеля Т с возникновением необходимости применения корректирующей терапии. Генотипическая частота этого аллеля среди женщин, нуждавшихся в лечении, составляла 12/14 (85,7%) по сравнению с 64/106 (60,4%), не нуждавшихся в терапии (p=0,017). Малое количество пациенток, нуждавшихся в лечении не позволило однозначно определить вероятную модель наследования для данного локуса. Широкое распространение носителей аллеля Т полиморфного локуса *IL1RN*: 11100 msp1 в популяции (83% по нашим данным), приводит к низкой прогностической ценности положительного ответа и нецелесообразности использования данного маркера в диагностических целях. Тем не менее, перспективными представляются дальнейшие исследования в этой области.

Таким образом, носительство гаплотипа ТТ по локусам -33 C>Т и -590 C>Т гена *IL4* в гомозиготном состоянии или аллеля Т полиморфного локуса *IL1R1*: Pst11970 C>Т ассоциировано с повышенным риском возникновения

необходимости лечения воспалительных заболеваний нижнего отдела полового тракта женщин на фоне применения гормональной контрацепции.

Для построения многофакторной прогностической модели был проведен дискриминантный анализ, включающий все выявленные в ходе однофакторного анализа предикторы (табл.).

Таблица – Анализ моделей наследования факторов риска, приводящий к необходимости лечения на фоне контрацепции

Полиморфный локус	Аллель	Без лечения		Нуждавшиеся в лечении		Модель: нуждаются в лечении							
		Генотипическая частота		Генотипическая частота		Аутосомно-рецессивная модель			Аутосомно-доминантная модель				
		Кол-во	доля	Кол-во	доля	OR	ДИ		Статистическая значимость для модели, p	OR	ДИ		Статистическая значимость для модели, p
IL4: -33 C>T	C	170	0,80	15	0,54	0,29	0,13	0,64	0,08	0,37	0,12	1,15	0,0006
	T	42	0,20	13	0,46	3,51	1,55	7,93	0,0006	7,86	2,07	29,86	0,08
IL4: -590 C>T	C	170	0,80	15	0,54	0,29	0,13	0,64	0,077	0,37	0,12	1,15	0,0006
	T	42	0,20	13	0,46	3,51	1,55	7,93	0,0006	7,86	2,07	29,86	0,077
IL1R1: Pst1 1970 C>T	C	152	0,72	10	0,36	0,22	0,10	0,50	0,0001	0,03	0	0,50	0,02
	T	60	0,28	18	0,64	4,56	1,99	10,44	0,02	4,31	1,12	16,56	0,0001

Примечание: OR-отношение шансов; CI- доверительный интервал

По результатам анализа в модель вошли 2 независимых бинарных признака: наличие дисбиоза до назначения контрацепции и наличие гомозиготного носительства гаплотипа TT по локусам -33 C>T и -590 C>T гена IL4. Уравнение канонической дискриминантной функции имело вид: $Z=1,081 * [Дисбиоз] + 2,797[TT] - 0,651$, где Z – дискриминантная функция, [Дисбиоз] - наличие дисбиоза до назначения контрацепции [TT] - гомозиготное носительство гаплотипа TT по локусам -33 C>T и -590 C>T гена IL4.

Площадь под ROC-кривой составила 0,77 (0,61-0,93), p=0,005 (рис. 3). Исходя из требований максимальной суммарной чувствительности и специфичности, порогом отсечки выбрано значение дискриминантной функции, равное -0,11. Если при использовании модели для обследуемой пациентки получены значения дискриминантной функции выше порогового значения, это свидетельствует о высоком риске развития вагинита на фоне применения гормональной контрацепции. Чувствительность модели составила 80 (44-98)%, специфичность – 66 (56-75)%, PPV= 18,6 (8,4-33,4)%, NPV= 97,1 (89,9-99,6)%.

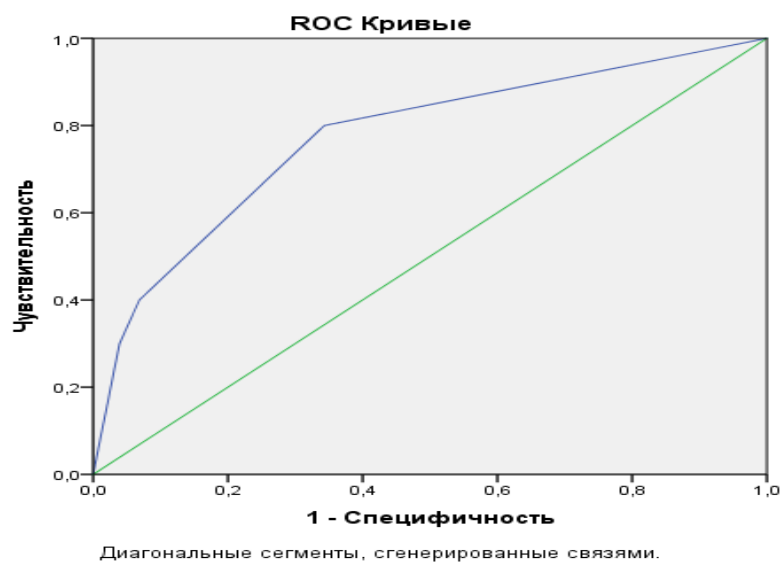


Рисунок 3 – Характеристическая кривая разработанной модели

Таким образом, предложенная модель может быть использована при скрининге: в случае получения благоприятного прогноза назначение контрацепции с высокой вероятностью не будет сопровождаться воспалительными заболеваниями. Низкое значение PPV означает, что не у всех пациенток с неблагоприятным прогнозом ожидаются нежелательные явления при назначении гормональной контрацепции. Это может быть обусловлено дополнительными факторами, не анализируемыми в настоящем исследовании. Пациенткам с неблагоприятным прогнозом, полученным при использовании разработанной модели, должно быть рекомендовано углубленное динамическое наблюдение для своевременного выявления воспалительных заболеваний.

На основании полученных нами результатов был разработан алгоритм ведения пациенток при назначении контрацепции с учетом разработанной модели (рис. 4).

ВЫВОДЫ

1. У женщин, использующих гормональные методы контрацепции, в 15% случаев наблюдались патологические выделения, обусловленные бактериальным вагинозом – 8%, вагинальным кандидозом – 3%, неспецифическим вагинитом - 4%.

2. До начала применения контрацепции состояние влагалищной микрофлоры у 65% женщин было классифицировано как нормоценоз, у 29,2% – умеренный дисбиоз, у 5,8% соответствовало критериям выраженного дисбиоза. В структуре умеренных и выраженных дисбиозов в 80% случаев доминировали анаэробные дисбиозы. В качестве доминирующих в составе микробиоценоза выявляли *Gardnerella spp.* 4,9 против 4,2 ГЭ/образец и *Eubacterium spp.* 4,7 против 3,8 ГЭ/образец.

3. Частота дисбиоза увеличивалась через 6 месяцев применения контрацепции: в I группе - 63,3%, III группе - 67,7%; во II группе - 46,7%, в IV группе - 40%. Изменения биоценоза влагалища характеризовались отсутствием клинических проявлений в 30 % случаев.

4. При нормоценозе в основном встречались *L. crispatus*, тогда как при дисбиозе преобладали *L. iners*. Наличие *U. parvum* в составе микробиоценоза влагалища свидетельствует о снижении колонизационной резистентности биотопа и не является клинически значимым.

5. Выявлены статистически значимые различия между пациентками, нуждавшимися и не нуждавшимися в лечении, на фоне применения гормональных методов контрацепции для полиморфного локуса гена *IL4* (гаплотип-33 C>T/-590 C>T) ($p=0,02$), гена *IL1R1*: Pst11970 C>T ($p=0,0001$) и гена *IL1RN*: 11100 msp1 T>C ($p=0,014$).

6. Наличие вагинального дисбиоза является более важным прогностическим критерием дисбиотических нарушений при назначении контрацепции, чем видовой состав нормофлоры.

7. Разработана математическая модель, включающая в качестве предикторов наличие дисбиоза до назначения контрацепции и наличие гомозиготного носительства гаплотипа TT по локусам -33 C>T и -590 C>T гена *IL4*, позволяющая предсказать развитие клинической картины дисбиоза на фоне приема гормональной контрацепции с чувствительностью 80 (44-98) % и специфичностью 66 (56-75) % (PPV= 18,6 (8,4-33,4)%, NPV= 97,1 (89,9-99,6))%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Назначение гормональных методов контрацепции рекомендуется после предварительного исследования состояния вагинального микробиоценоза методом ПЦР в режиме реального времени. Выявление *G.vaginalis* (более 10^4 ГЭ/образец) и/или наличие *U.parvum* при сохраненной лактофлоре является неблагоприятным предиктором и требует динамического наблюдения.

2. Дисбиоз влагалища до назначения контрацепции является фактором риска развития воспалительных заболеваний влагалища на фоне контрацепции, однако не является строгим ограничением при выборе метода контрацепции. В случае выявления дисбиотических изменений микрофлоры влагалища целесообразно проведение этиопатогенетической терапии до использования комбинированной гормональной контрацепции для снижения частоты возникновения воспалительных заболеваний влагалища.

3. При выборе КОК в качестве метода контрацепции рекомендуется контрольное исследование микрофлоры влагалища через 6 месяцев после начала контрацепции. Неинвазивным быстрым диагностическим методом раннего выявления дисбиоза влагалища на фоне применения как гормональных, так и не гормональных методов контрацепции является рН метрия, по результатам которой определяются дальнейшие методы диагностики («Фемофлор», микроскопия).

4. У женщин с рецидивирующим дисбиозом влагалища на фоне применения КГК целесообразно в дополнение к клиническим, микробиологическим методам, проводить молекулярно-генетическое исследование на наличие полиморфного локуса гена *IL4* (гаплотип-33 C>T/-590 C>T), гена *IL1R1*: Pst11970 C>T и гена *IL1RN*: 11100 msp1 T>C методом ПЦР в режиме реального времени.

5. При выявлении у пациентки дисбиоза до назначения контрацепции и гомозиготном носительстве гаплотипа ТТ по локусам -33 C>T и -590 C>T гена *IL4* рекомендуется выбор КГК или ВМС и углубленное динамическое наблюдение для своевременного выявления воспалительных заболеваний.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Бебнева Т.Н. Лактобактерии и эстриол в коррекции биоценоза влагалища / Т.Н. Бебнева, В.Н. Прилепская, **А.Б. Летуновская** // **Фарматека**. – 2010. – №9 (203). – С.24–28.
2. Иванова Е.В. Внутриматочная гормональная система: вопросы приемлемости и безопасности / Е.В. Иванова, Р.А. Сасунова, **А.Б. Летуновская**, В.Н. Прилепская, Е.А. Межевитинова, А.В. Тагиева // **Акушерство и гинекология**. – 2011. – № 4. – С. 140–144.
3. Прилепская В.Н. Международный проект «СНОИСЕ»: краткий обзор результатов исследования / В.Н. Прилепская, М.А. Тарасова, Н.М. Назарова, **А.Б. Летуновская** // **Гинекология**. – 2010. – Т.12. - №4. – С. 26–28.
4. Прилепская В.Н. Трансдермальная контрацепция (обзор литературы) / В.Н. Прилепская, Н.М. Назарова, Е.В. Иванова, **А.Б. Летуновская** // **Гинекология**. – 2011. – Т.13. – №4. – С. 29–33.
5. Прилепская В.Н. Контрацепция: от древности и до наших дней / В.Н. Прилепская, Е.А. Межевитинова, **А.Б. Летуновская**, Е.В. Иванова, Р.А. Сасунова, А.В. Тагиева // **Фарматека**. – 2011. – №13 (226). – С.12–17.
6. Прилепская В.Н. Контрацепция и консультирование: результаты международного проекта «СНОИСЕ» в России / В.Н. Прилепская, Н.М. Назарова, **А.Б. Летуновская** // **Современные медицинские технологии**. – 2011. – №4. – С. 94–96.
7. Прилепская В.Н. Эволюция гормональной контрацепции / В.Н. Прилепская, Е.А. Межевитинова, Е.В. Иванова, Р.А. Сасунова, К.Р. Набиева, **А.Б. Летуновская** // **Медицинский совет**. – 2011. - №7-8. – С.61–64.
8. Прилепская В.Н. Меноррагии и внутриматочная гормональная рилизинг-система / В.Н. Прилепская, **А.Б. Летуновская** // **Гинекология**. – 2011. – Т.13. – №5. – С. 15–17.
9. Прилепская В.Н. Анализ результатов международного проекта СНОИСЕ по индивидуальному выбору контрацепции в России / В.Н. Прилепская,

Е.А. Межевитинова, **А.Б. Летуновская**, А.В. Тагиева // Материалы IV Российского научного форума «Мать и дитя». – Москва, 2011. – С. 398–400.

10. Летуновская А.Б. Влияние современных методов гормональной контрацепции на биоценоз влагалища у женщин репродуктивного возраста / **А.Б. Летуновская**, Е.А. Межевитинова, Е.В. Иванова, Р.А. Сасунова // Материалы IV Российского научного форума «Мать и дитя». – Москва, 2011. – С. 350–351.

11. **Летуновская А.Б.**, Иванова. Е.В. Влияние различных методов гормональной контрацепции на функцию печени и микробиоценоз влагалища // Материалы IV Российского научного форума «Мать и дитя». – Москва, 2011. – С. 309-310.

12. Прилепская В.Н. Трансдермальная контрацепция: что мы знаем о ее возможностях? (обзор литературы) / В.Н. Прилепская, Н.М. Назарова, Е.А. Межевитинова, Е.В. Иванова, Р.А. Сасунова, **А.Б. Летуновская** // **Эффективная фармакотерапия**. – 2012. - №3. – С. 30–35.

13. Прилепская В.Н. Микробиоценоз влагалища и полиморфизм генов цитокинов как маркер здоровья женщины (обзор литературы) / В.Н. Прилепская, **А.Б. Летуновская**, А.Е. Донников // **Гинекология**. – 2015. – Т. 17. – №2. – С. 4–13.

14. Летуновская А.Б. Состояние микробиоценоза влагалища у женщин репродуктивного возраста на фоне различных методов контрацепции / **А.Б. Летуновская**, В.Н. Серов, А.Е. Донников // **Акушерство и гинекологи. Новости. Мнения. Обучение**. – 2021. – Т. 9. – №2. – С. 24–29.

15. **Летуновская А.Б.** Клинические и молекулярно–генетические методы в диагностике дисбиоза влагалища у женщин использующих гормональную контрацепцию // Материалы XIV Регионального научно-образовательного форума «Мать и дитя». – Москва, 2021. – С. 78–79.

16. **Летуновская А.Б.** Молекулярно-генетические предикторы развития дисбиоза влагалища у женщин использующих гормональную контрацепцию //

Материалы XIV Регионального научно-образовательного форума «Мать и дитя». – Москва, 2021. – С. 80–81.

17. Летуновская А.Б. Факторы риска развития инфекционно-воспалительных заболеваний нижних отделов полового тракта у женщин, использующих контрацепцию / А.Б. Летуновская, В.Н. Серов, И.И. Баранов, А.Е. Донников // **Акушерство и гинекология**. – 2021. – № 6. – С. 132–137.

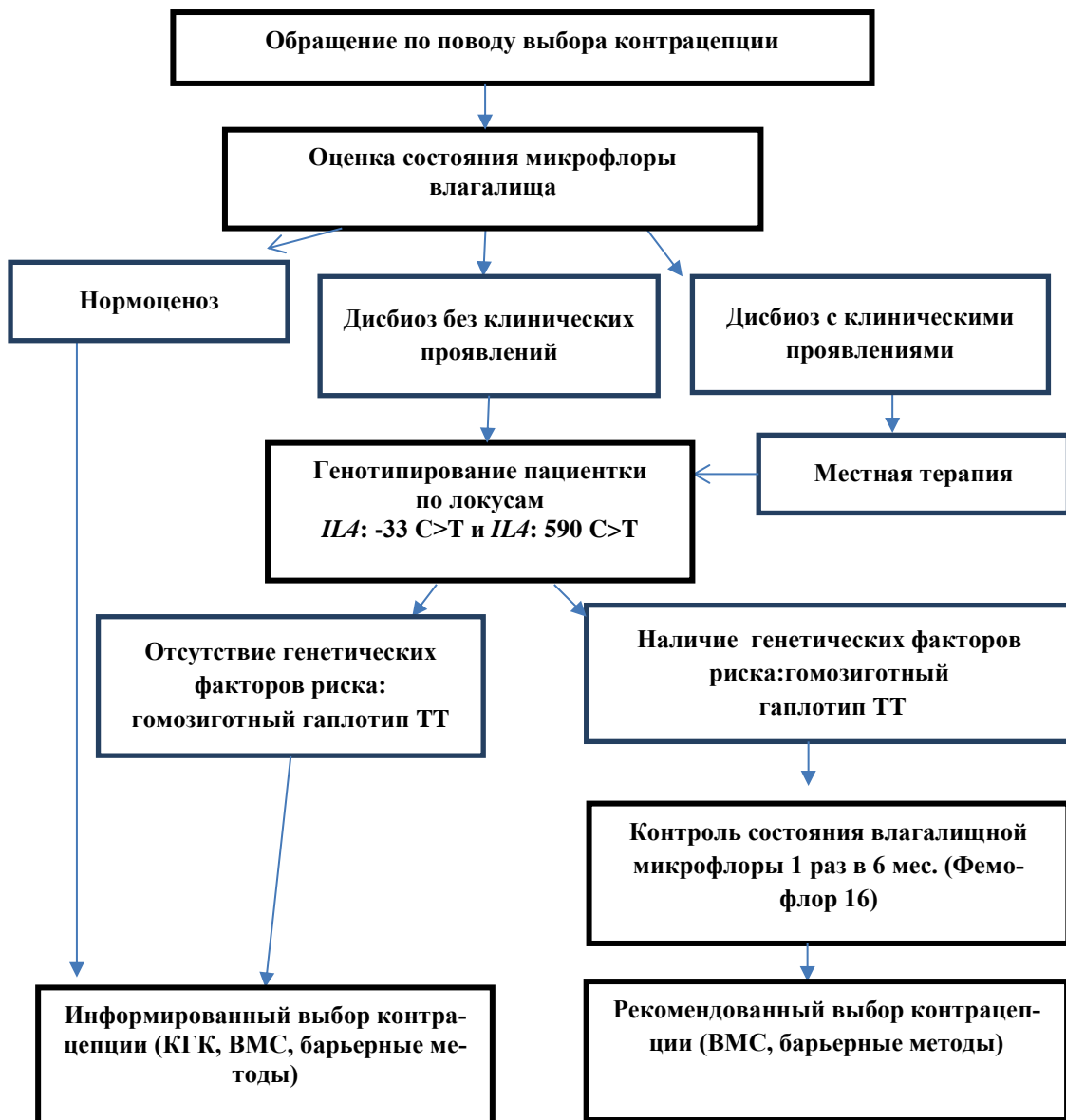


Рисунок 4 – Алгоритм ведения пациенток при назначении контрацепции с учетом разработанной модели