**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное учреждение
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ И ПЕРИНАТОЛОГИИ
ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И.КУЛАКОВА»**

На правах рукописи

ЛЕТУНОВСКАЯ

Анна Борисовна

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

3.1.4. Акушерство и гинекология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

академик РАН, доктор медицинских наук, профессор Серов В.Н.

Москва - 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение ……. 3

Глава 1. Состояние микробиоценоза влагалища в норме и при использовании гормональной контрацепции (обзор литературы) 11

1.1. Гормональная контрацепция ……. 12

1.2. Генетические особенности организма женщин при выборе лекарственных средств …… 20

1.3. Микробиоценоз влагалища и влияние на него гормональной контрацепции ……... 30

Глава 2. Материалы и методы исследования ……... 43

2.1. Материал исследования 43

2.2. Методы исследования 48

Глава 3. Результаты собственных исследований ……. 64

3.1. Особенности клинико – лабораторных и анамнестических данных пациенток ……. 64

3.2. Характеристика качественного и количественного состава микробиоценоза влагалища в исследуемых группах в сравнительном аспекте …… 71

3.3. Состояние микробиоценоза влагалища у пациенток до начала применения гормональной контрацепции …….. 72

Глава 4. Обсуждение полученных результатов …… 109

Выводы ……. 115

Практические рекомендации …… 117

Список сокращений и условных обозначений ……. 119

Список литературы ……. 120

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Гормональная контрацепция является современным, постоянно совершенствующимся методом предохранения от нежелательной беременности. Комбинированные гормональные средства – наиболее востребованные паттерны обратимой контрацепции [82].

В России гормональные контрацептивные средства используют 12,5% женщин репродуктивного возраста (2018 г.), внутриматочные средства (ВМС) – 12,9% соответственно [36,38].

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.

При этом, при оценке потенциального влияния гормональных препаратов на организм женщины практически не учитывается состояние микробиоты влагалища.

Рядом исследователей описано нарушение микробиоценоза влагалища в ряде случаев в виде вульвовагинальных симптомов у пациенток, использующих контрацептивное кольцо. Однако 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 [4].

Однако существуют работы, которые указывают, что применение КОК ассоциируется с повышением частоты кандидозного вагинита за счет влияния их эстрогенного компонента. Предполагается, что эстрогены

способствуют формированию обогащенной гликогеном среды влагалища, благоприятной для роста грибков рода *Candida.* Аналогичный механизм имеет место и при применении других видов гормональных контрацептивов.

Актуальным и перспективным в настоящее время является изучение роли полиморфизма генов цитокинов, как одной из причин развития дисбиотических состояний влагалища и рецидивов вагинитов при использовании различных методов контрацепции.

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.

Степень разработанности темы исследования

Научная дискуссия о причинах развития дисбиотических состояний вагинальной экосистемы продолжаюся 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 большнстве случаевне 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. И только в последние годы появились работы, в которых возможно изучение

качественного и количественного состава микробиоценоза. Актуальным и перспективным является изучение роли полиморфизма генов цитокинов, как одной из причин развития дисбиотических состояний влагалища и рецидивов вагинитов при использовании различных методов контрацепции.

Таким образом, поиск маркеров объективной лабораторной диагностики урогенитальных инфекционно-воспалительных заболеваний вызываемых условно-патогенной микрофлорой, для репродуктивного здоровья женщин, обуславливает 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 том 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 клинико-анамнестические особенности женщин, использующих контрацепцию.
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 работы

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 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.

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 и IL1R1 и доказана целесообразность генотипирования женщин перед назначением КОК для выявления групп риска развития воспалительных заболеваний нижних отделов полового тракта.

Разработаны рекомендации по выбору КОК в зависимости от состояния микробиоценоза влагалища и генетической модели наследования

факторов риска.

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

Методология и методы исследования

Проведено обследование 300 практически здоровых женщин в возрасте от 18 до 45 лет (средний возраст 30,7±7,03лет.), желающих использовать гомональные методы контрацепции на базе ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И.Кулакова» Минздрава России (директор – академик РАН Сухих Г.Т.). Исследование носило ретроспективно-проспективный характер. По результатам анкетирования были оценены: менструальная, репродуктивная функции, экстрагенитальная и гинекологическая патология в анамнезе и в настоящее время, контрацептивный анамнез (наличие побочных эффектов и осложнений на фоне применения тех или иных методов контрацепции в прошлом). В исследование было включено 120 женщин и сформированы 4 равные по численности группы.

Следующим этапом была проведена оценка качественного и количественного состава вагинальной микрофлоры для определения факторов риска нарушения микробиоценоза влагалища с применением молекулярно-генетических предикторов в формирование групп риска развития дисбиотических процессов влагалища при применении гормональной контрацепции.

Клиническая часть работы выполнена в научном-поликлиническом отделении (заведующий – д.м.н., профессор - Прилепская В.Н.). Весь объем клинических обследований, а также изучение нормонального профиля были проведены в научно-диагностической лаборатории (заведующий – д.б.н. Иванец Т.Ю.), изучение параметров гемостазиограммы - в лаборатории клинической иммунологии (заведующий - д.м.н. Кречетова Л.И.), ультразвуковые исследования - в отделении ультразвуковой и

функциональной диагностики (заведующий-д.м.н. Костюков К.В.), ПЦР в режиме реального времени –в лаборатории молекулярно –генетических методов (заведующий – к.м.н. Донников А.Е.) отдела клинической и молекулярной генетики (руководитель – д.б.н., профессор Трофимов Д.Ю.) на базе ФГБУ «НЦАГиП им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России.

Статистический анализ полученных данных проводили при помощи стандартных методов математико-статистической обработки с использованием программы IBM SPSS Statistics Версия 17. Различия расценивались статистически значимыми при $p < 0,05$. Анализ результатов осуществлялся при помощи статистических программ SPSS V 22.0 (США), электронных таблицах «Microsoft Excel» с соблюдением рекомендаций для медицинских и биологических исследований.

Положения, выносимые на защиту

1. Дисбиоз влагалища, обусловленный повышением доли *Gardnerella vaginalis*, является неблагоприятным фактором при назначении гормональной контрацепции. Эти пациентки составляют группу риска развития различных неспецифических вагинитов.

2. Для нарушений вагинального микробиоценоза на фоне применения КОК не характерны клинические проявления. Фактором риска развития неспецифического вагинита на фоне применения КОК является исходное нарушение структуры микрофлоры влагалища, заключающиеся в снижении доли лактобактерий, изменении их видового состава, увеличения доли УПМ.

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

4. Математические модели наследования факторов риска, приводящие к необходимости лечения на фоне контрацепции, позволили оптимизировать

дифференцированный подход в ходе поиска генетических предикторов развития клинической картины дисбиоза.

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, разработки дизайна 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.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 3, 4, и 5 паспорта акушерства и гинекологии.

Степень достоверности полученных результатов

Достоверность выполненного исследования определяется достаточным количеством пациентов, включенных в исследование (300 пациентов), применением современных методов статистической обработки данных.

Апробация материалов диссертации

Результаты исследования изложены в статьях, опубликованных в рецензируемых научных журналах рекомендуемых ВАК. Результаты представлены в рамках Всероссийского конгресса «Амбулаторно – поликлиническая практика – новые горизонты» (2018г.). Основные положения и результаты диссертации доложены и обсуждены на

клинических конференциях ФГБУ «НМИЦАГП им. В.И. Кулакова» (в период с 2010 по 2020гг.), российском научном форуме «Мать и дитя» (2019г), Всероссийском конгрессе Снегиревские чтения: научно - практическая конференция «Системное влияние препаратов гормональной контрацепции и заместительной гормональной терапии».

Работа обсуждена на межклинической конференции научно-поликлинического отделения (1 марта 2010 г.) и заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦАГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (4 марта 2020 г., протокол №1).

Внедрение результатов исследования в практику

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

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 16 научные работы, в том числе 5 – в рецензируемых научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 135 страницах и состоит из оглавления, введения, обзора литературы, описания материала и методов, глав по результатам собственных исследований и их обсуждения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращения, списка использованной литературы. Иллюстрированный материал представлен 18 таблицами и 12 рисунками. Библиографический указатель включает 141 источник литературы, в том числе 59 отечественных и 82 зарубежные работы.

Глава 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ВЫБОРУ ГОРМОНАЛЬНОЙ КОНТРАЦЕПЦИИ (обзор литературы)

С учетом современного социально-экономического и демографического развития охрана репродуктивного здоровья населения является первоочередной задачей, стоящей перед системой здравоохранения. Концепция демографического развития диктует необходимость в сохранении репродуктивного потенциала населения [32,33]. Однако не всегда рождение детей является для партнеров желательным событием. Проблема регуляции рождаемости особенно актуальна в России, где уровень искусственного прерывания беременности остается высоким, приводя к негативным последствиям для здоровья женщин [20]. Неблагоприятные последствия абортов связаны с воспалительными осложнениями и нарушением менструальной функции. Вследствие воспалительных осложнений может развиваться хронический сальпингоофорит и бесплодие, а на фоне нарушений меструальной функции прогестеронодефицитные состояние – и эндометриоз, миома матки, гиперпластические изменения в яичниках и эндометрии. Послеабортные осложнения во многом зависят от преморбидного фона, срока беременности и повторных абортов. Если женщина перенесла 3 и более абортов, можно с уверенностью утверждать, что у нее имеют место воспалительные изменения и нарушения менструального цикла [44]. В то же время для большинства женщин аборт – это крайний, вынужденный вариант, и в качестве альтернативы они видят использование контрацепции [56].

Применение различных методов предохранения от беременности называют контрацепцией, а препараты, которые используются с целью предупреждения беременности, – контрацептивами. Вопросы, связанные с охраной репродуктивного здоровья женщины, занимают особое место в современной медицине, а разработка безопасных и эффективных методов контрацепции остается одним из приоритетных направлений в гинекологии

[47]. Применение современных способов предохранения от беременности снижает частоту абортов, что является залогом уменьшения частоты гинекологических заболеваний, снижает риск не вынашивания беременности, частоту материнской и перинатальной смертности [39].

В России, как и в других развитых странах, наиболее часто используют барьерные, внутриматочные и гормональные методы предохранения от беременности [36,34]. Известно, что в настоящее время идеального контрацептива не существует. У каждого из методов имеются свои преимущества и недостатки, побочные эффекты [5]. Разработка и внедрение методов сохранения репродуктивного здоровья женщины, в том числе методов контрацепции, постоянно развивается, а её влияние на организм женщины, продолжает носить актуальный характер.

1.1. Гормональная контрацепция

Гормональная контрацепция (ГК) – это способ защиты от нежеланного зачатия с помощью использования лекарственных препаратов с синтетическими аналогами эстрогенов и/или прогестерона, сгущающих шеечную слизь, препятствующих пролиферации эндометрия и, как правило, блокирующих овуляцию [50]. Гормональная контрацепция является высокоэффективным методом предупреждения беременности и подтверждается широким применением препаратов в мире. Например, в Англии и Италии гормональную контрацепцию используют 22–27% женщин в возрасте от 15 до 45 лет, в Германии — более 30%, в Нидерландах — более 40%, в Бельгии и Франции — 50%. Однако в настоящее время в России высокоэффективную гормональную контрацепцию используют только 8–13% женщин фертильного возраста [31]. ВОЗ рассматривает консультирование по вопросам контрацепции как важнейший элемент всех этапов работы с пациентками, начиная с первого приема. Сохранение репродуктивного потенциала нации, реальное изменение показателей

материнской и младенческой заболеваемости и смертности, а также снижение числа искусственных абортов может быть достигнуто при охвате современной контрацепцией не менее 40–45% женщин фертильного возраста [29].

Развитие гормональной контрацепции происходит очень динамично на протяжении последних 50 лет и за это время появилось в практике множество лекарственных средств [124]. Условно все гормональные препараты можно разделить на 3 поколения. К гормонам I поколения относились препараты с высоким содержанием эстрогенов. В настоящее время их не применяют из-за наличия ряда отрицательных побочных действий. У гормонов II поколения доза эстрогенов была снижена до 30–35 мкг, а гормоны III поколения – вещества, содержащие низкие (30 мкг) или максимально низкие (20 мкг) дозы эстрогенов, а также высокоселективные гестагены. Гормоны III поколения имеют большое преимущество перед своими предшественниками, они хорошо переносятся пациентками, безопасны для большинства соматически здоровых женщин [39].

Выбор метода гормональной контрацепции должен быть дифференцированным и персонифицированным. Должна учитываться не только дозировка компонентов, но и способ введения гормонов для оценки возможного системного воздействия их на организм женщины и обеспечения хорошей их переносимости и максимальной безопасности [16,63,77].

Ассортимент гормональных контрацептивов очень широк, существуют комбинированные оральные контрацептивы, комбинированные контрацептивные пластыри и кольца, комбинированные инъекционные контрацептивы (КИК), чисто прогестиновые инъекционные средства (норэтистерон энантат и депо- медроксипрогестерона ацетат), имплантаты, содержащие левоноргестрел (ЛНГ) и этоногестрел (ЭТГ), чисто прогестиновые таблетки, а также внутриматочные рилизинг-системы содержащие левоноргестрел (ЛНГ-ВМС) [14]. Существует классификация ГК в зависимости от суточной дозы этинилэстрадиола, поступающей в организм

женщины: высокодозированные (40 мкг/сут этинилэстрадиола); низкодозированные (30–35 мкг/сут этинилэстрадиола); микродозированные (15–20 мкг/сут этинилэстрадиола) [40].

Среди женщин, использующих ГК наиболее популярными являются пролонгированные методы контрацепции (рилизинг - системы), такие как вагинальное кольцо, накожный пластырь, внутримышечные инъекции, внутриматочная гормональная система и подкожные импланты. Эти методы удобны для женщин благодаря имеющимся вариантам введения (подкожно, трансдермально, интравагинально, внутриматочно и внутримышечно), режиму применения и обратимостью действия [130,94,120]. Все контрацептивы пролонгированного действия являются гормональными рилизинг-системами и имеют ряд преимуществ перед ежедневными пероральными средствами. При применении гормональных рилизинг-систем обеспечиваются: стабильное выделение малых доз гормонов по биологическому градиенту; длительная контрацепция; точность дозирования; отсутствие суточных колебаний экскреции гормонов; отсутствие необходимости ежедневного самоконтроля; отсутствие эффекта первого прохождения препарата через печень; отсутствие желудочно-кишечного взаимодействия с другими лекарственными средствами [41,92]. Оральные гестагенные контрацептивы содержат небольшие дозы гестагенов. Их называют «мини-пили». Они являются надежным методом контрацепции только у кормящих женщин. Инъекционные парентеральные препараты обладают длительным действием и рекомендованы для женщин, нуждающихся в долгосрочной контрацепции, например, в период лактации, а также женщинам, не желающим ежедневно принимать таблетки. Имплантаты устанавливаются подкожно и обладают длительностью действия в несколько лет. Инъекционные пролонгированные контрацептивы и имплантаты в настоящее время применяются редко. Отказ от их применения диктуется трудностью устранения побочных эффектов при их возникновении. Влагалищные кольца с гормонами – принципиально новый

метод контрацепции, использующий влагалищный путь введения гормонов, что способствует высокой контрацептивной эффективности за счет стабильного гормонального статуса при отсутствии первичного прохождения через печень и желудочно-кишечный тракт с минимальным влиянием на организм женщины. Каждое кольцо предназначено для применения в течение одного менструального цикла. Кольцо женщина легко вводит и извлекает самостоятельно, внимательно прочитав инструкцию [39].

Комбинированные оральные контрацептивы **(**КОК) – наиболее эффективные, изученные и распространенные средства предотвращения нежелательной беременности [20,57]. КОК, согласно рекомендациям ВОЗ по медицинским критериям приемлемости методов контрацепции, являются одной из самых эффективных противозачаточных технологий, уступая, с индексом Перля 0,3, только методам долговременной гормональной контрацепции, внутриматочной контрацепции и стерилизации [103]. Для оценки эффективности методов предохранения от беременности используется индекс Перля, показывающий количество беременностей, наступивших у 100 женщин в течение года применения контрацепции определенного вида. Существует понятие эффективности метода при правильном использовании, отражающее, насколько эффективен метод при точном соблюдении инструкции по применению, и фактическом, учитывающем непостоянное или неправильное использование [41]. При правильном использовании методов гормональной контрацепции индекс Перля всегда составляет меньше 1, но при фактическом – он значительно отличается и доходит до 8 [140]. По данным социологических исследований, такое расхождение обусловлено нарушением режима использования метода (пропуск таблеток или очередной инъекции, нерегулярная замена вагинального кольца или пластыря), что происходит у 70% женщин [38,131].

Во всем мире КОК принимают более 150 млн женщин. Так, в Германии эти препараты используют около 30% женщин в возрасте от 15 до 45 лет, в Нидерландах – более 45% женщин этой возрастной группы, в Бельгии и

Франции – 50%. По данным панъевропейского исследования, 60% женщин России имеют опыт использования противозачаточных таблеток, но только 9% используют комбинированные гормональные контрацептивы регулярно. В результате в нашей стране до половины всех беременностей заканчиваются абортами. При этом осложнения послеабортного периода регистрируют у каждой третьей женщины, а частота отдаленных нарушений, в том числе нейроэндокринных, пролиферативных заболеваний органов репродуктивной системы достигает 60–80% [3,52].

При использовании КОК в организме женщины развиваются метаболические изменения, аналогичные происходящим во время беременности, обусловленные влиянием как эстрогенного, так и прогестагенного компонентов. В зависимости от вида и дозы эстрогена и прогестагена КОК обладают преимущественно эстрогенным, гестагенным, андрогенным или анаболическим действием. Кроме гестагенного эффекта, прогестагены различаются частичной андрогенной, антиминералокортикоидной и глюкокортикоидной активностью [44]. Помимо надежного предохранения от нежеланной беременности КОК обеспечивают ряд лечебных и профилактических эффектов, включая такие социально значимые результаты, как редукция риска рака эндометрия, яичников, колоректального рака и снижение смертности от всех причин [22,37,76]. Правильно подобранные методы контрацепции позволяют решить все эти задачи одновременно. Влияние КОК на фертильность – это предупреждение нежеланной беременности и исключение травмирования эндометрия при аборте. На практике это означает сохранность эндометрия и его рецептивности за счет предотвращения хронического эндометрита, неминуемого, по меньшей мере, у 25% женщин, перенесших искусственное прерывание беременности [55]. Тем не менее наиболее распространенное мнение заключается в отсутствии супрессивного влияния комбинированных гормональных контрацептивов на функциональное состояние яичников. Даже при многолетнем использовании эстроген-гестагенных средств не

замечено стойкого, статистически значимого снижения уровня антимюллерова гормона и количества антральных фолликулов диаметром менее 6 мм. Установлено, что КОК не уменьшают число потенциально вырабатываемых яйцеклеток в дальнейшем и не ухудшают их качества, а лишь приостанавливают циклическую работу яичников на время приема препарата, блокируя гипоталамо-гипофизарно-яичниковую систему, и снижают интенсивность потери ооцитов в гормонозависимый период фолликулогенеза [80,73]. Частота бесплодия у женщин, принимавших КОК, в сотни раз меньше, чем у сверстниц, имевших роды и аборты в анамнезе, без использования контрацепции. Что касается «эффекта отмены» (rebound effect), представляющего собой быстрое наступление беременности либо овуляцию более одной яйцеклетки в первый же менструальный цикл после прекращения приема эстроген-гестагенных средств, существует предположение о его связи с гормононезависимым накоплением вторичных фолликулов во время использования препарата. После его отмены возникают условия для одновременного созревания нескольких фолликулов без дополнительной экзогенной стимуляции, вследствие чего в некоторой мере возрастает вероятность многоплодной беременности [55,62].

В зависимости от прогестагенного компонента производного тестостерона оральные контрацептивы разделяются на три поколения: - Первое поколение – препараты, содержащие норэтинодрел. Эти препараты характеризуются высоким риском развития тромбозов и тромбоэмболий из-за высокого содержания в них эстрогенов. Известно, что чем выше доза эстрогенов, тем выше концентрация и активность I, II, VII, X и XII–го факторов свертывания крови и синтез ангиотензиногена. При их применении также возможно возникновение задержки жидкости, отеков, тошноты, чувства напряжения молочных желез и появление хлоазм. Второе поколение – препараты с низким содержанием эстрогенов, содержащие левоноргестрел, норэтистерон, норгестрел, линэстерол и этинодиол. Содержание эстрогенов в них составляет 30–35 мкг/сут., благодаря чему снизился риск возникновения

тромбозов. Третье поколение – препараты, содержащие один из гестагенов нового поколения (дезогестрел, гестоден, норгестимат, диеногест), синтезированных в целях уменьшения побочных действий [48].

Препараты, содержащие дезогестрел, обладают антиандрогенным эффектом, не обладают способностью изменять толерантность к глюкозе. Комбинированные оральные контрацептивы, содержащие гестоден, практически не оказывают влияния на липидный спектр, и обладают невыраженным андрогенным эффектом [45]. Дроспиренон – производное спиронолактона обладает антигонадотропным и антиандрогенным эффектами, свойственным прогестерону, а также антиминералококртикоидным эффектом. Последний заключается в уменьшении задержки жидкости и натрия в организме. Дроспиренонсодержащие препараты оказывают положительный лечебный эффект у женщин с ПМС, СПКЯ и доброкачественными заболеваниями молочных желез. На фармакологическом рынке появились дроспиренонсодержащие препараты с добавлением фолатов в дозе 400 мкг, такие как Джес плюс и Ярина плюс. Благодаря наличию в их составе фолатов при длительном применении ГК удается снизить дефицит фолиевой кислоты, что является профилактикой пороков развития у плода при планировании беременности [37,40].

Традиционный режим применения ГК – 21 день применения препарата+7 дней перерыва, в которые происходит менструальноподобное кровотечение. В последние годы созданы новые режимы применения ГК с укороченным перерывом между приемами препарата [41]. Классический режим использования КОК «21+7 дней» постепенно был вытеснен режимом «24+4 дня» или непрерывным использованием таблеток, содержащих гормональное начало. Это было предопределено следующим: более 80% женщин забывают принять хотя бы 1 таблетку в течение 3 менструальных циклов, а 51% женщин в течение 3 циклов забывают принять до 3 таблеток. В связи с этим появление нового режима приема КОК, характеризующегося

сокращением безгормонального интервала от 7 до 4 дней, а также уменьшением «разброса» уровней гормонов, в конечном итоге приводит к повышению качества жизни у 82% обследованных женщин, принимающих КОК в режиме «24+4 дня» [17]. По данным авторов нескольких исследований при применении ГК, содержащего этинилэстрадиол и дроспиренон, в режиме 24+4 значительно уменьшается величина кровопотери и частота межменструальных кровотечений [68,118].

Несмотря на преодоление львиной доли побочных эффектов (снижены дозы гормонов, созданы новые более селективные прогестагены), свойственных первым КОК, современные эстроген-гестагенные средства хоть и в меньшей степени, но всё же обладают некоторыми из них. И самые серьёзные осложнения приёма КОК связаны с их влиянием на систему гемостаза [34,103]. При всех рисках венозных тромбоэмболических событий на фоне приёма КОК следует отметить, что вероятность развития таких осложнений даже у женщин, склонных к тромбофилиям по наследственным факторам, максимальна в период беременности и родов, а уже через 8–12 мес приёма КОК риск схож с популяционным [133]. В тоже время длительное использование КОК, в течение 15 лет и более, повышает риск цервикальной интраэпителиальной неоплазии или карциномы in situ и инвазивного рака шейки матки в 1,6 и 1,8 раза соответственно у женщин, инфицированных вирусом папилломы человека, что было показано в проспективном когортном исследовании 308 тыс. женщин [121]. К недостаткам метода можно отнести необходимость ежедневного приема, возможность ошибок при приеме, отсутствие защиты от инфекций, передаваемых половым путем, снижение эффективности КОК при приеме других лекарственных средств [39].

1.2 . Микробиоценоз влагалища и влияние на него гормональной контрацепции

Симбиотная микрофлора человека является обязательным и полноправным участником разных физиологических процессов, протекающих в организме. По мнению ряда исследователей, бактериальные клетки составляют своеобразный «экстракорпоральный» орган, который имеет свои функции, критерии и показатели функционального состояния. Нарушения состава и функции нормальной микрофлоры человека могут приводить к развитию многих инфекционных и соматических заболеваний [59]. Организм человека находится в постоянном контакте с огромным количеством микробов окружающей среды. Между этой микрофлорой и всеми открытыми эконишами человеческого организма происходит постоянная циркуляция микроорганизмов. Тем не менее микробиоценозы разных органов характеризуются определенным видовым постоянством, что свидетельствует о существовании эффективных механизмов, осуществляющих контроль и регуляцию численности различных видов. Важную роль в этом процессе играет сама микрофлора. Микробиоценоз – это устойчивое сообщество микроорганизмов в определенной среде обитания. Важной особенностью влагалищного микробиоценоза является способность к динамической саморегуляции, проявляющейся в сохранении постоянства видового состава микробиоты [35]. Физиологический микробиоценоз влагалища определяется как комплексная, динамически изменяющаяся микроэкосистема, формирующая колонизационную резистентность этого локуса и выполняющая барьерную, ферментативную, витаминообразующую, иммунную и другие функции. Состав влагалищного микробиоценоза различается в зависимости от возраста, расовой принадлежности, гормонального статуса, сексуальных предпочтений, гигиенических привычек, приема антибактериальных препаратов [42].

Микрофлора влагалища в норме – один из факторов неспецифической резистентности. Однако в определённых условиях (после родов, абортов, гинекологических операций) микроорганизмы вызывают инфекционные заболевания, а участки половых путей с эндогенной микрофлорой становятся источниками инфицирования. При этом особого внимания заслуживают бесспоровые анаэробные бактерии, такие как бактероиды, фузобактерии, пептококки, пептострептококки, вейллонеллы и другие. Эти бактерии присутствуют в микрофлоре половых органов женщины в течение всей жизни. Ввиду динамичности этой экосистемы под влиянием гормональных и других воздействий определение микрофлоры половых путей возможно с учётом конкретных физических и физиологических условий [64]. Частота оппортунистических инфекций влагалища имеет тенденцию к росту, несмотря на все расширяющийся арсенал применяемых в клинической практике антимикробных средств [19]. Это обусловливает пристальный интерес исследователей к особенностям влагалищной нормофлоры. Показано, что качественные и количественные показатели микробиоценоза влагалища, а именно доля лактобактерий в общей бактериальной массе, соотношение групп микроорганизмов являются не только объективной характеристикой самого микробиоценоза, но и могут служить индикаторами нарушений, вызванных различными причинами [11,35].

Микроскопия и культуральные исследования «нормального» вагинального содержимого, как правило, указывают на преобладание лактобактерий, которые, как полагают, способствуют здоровой влагалищной среде. Подавлению различных видов патогенных и условно-патогенных микроорганизмов способствует численное превосходство лактобактерий, а также выработка ими молочной кислоты, поддерживающей кислую среду во влагалище [12,69]. Молочнокислые бактерии производят также перекись водорода, органические кислоты и бактериоцины [60] и включаются в пробиотические продукты, которые считаются полезными для здоровья человека [110]. Получены убедительные доказательства того, что наличие

лактобацилл, обладающих способностью производить перекись водорода, ассоциировано с состоянием здорового микробиома влагалища [60]. Кроме того, к противомикробной защите можно отнести способность молочнокислых бактерий к аутоагрегации, благодаря чему они способны образовывать защитные биопленки на поверхности тропного влагалищного эпителия, препятствующие адгезии патогенов [89]. Используя метод секвенирования гена 16S rRNA, удалось определить, что лактобактерии включают несколько видов вагинальных лактобацилл: *L. acidophilus, L. crispatus, L. gasseri, L. iners, L. Johnsonii, L. jensenii*, другие. Из всего разнообразия вагинальных лактобацилл доминирующими являются *L. crispatus, L. jensenii, L. Gasseri и L. Iners* [114]. *L. Crispatus* наиболее часто встречаются у женщин с физиологическим «здоровым» микробиоценозом влагалища. Видовой состав лактобацилл у женщин репродуктивного возраста может различаться с учетом их этнической принадлежности, полового поведения и гигиенических особенностей. Исследование О.В. Будиловской и соавт. (2017) показало, что в России наиболее распространенными видами вагинальных лактобацилл являются *L. jensenii, L. iners, L. crispatus, L. Vaginalis и L. gasseri.* При этом L. Crispatus являлся доминирующим видом вагинального биотопа здоровых женщин, а при дисбиозах наиболее часто определялись виды *L. Gasseri* и *L. iners* [7]. Здоровая влагалищная микрофлора в основном содержит один или два вида лактобацилл, из трех-четырех доминирующих видов (главным образом *L. crispatus, L. Jensenii и L. gasseri*, и, в некоторых случаях, *L. iners*). Другие виды являются редкими, и возможно, принадлежат к новым фенотипам [114].

Местная микробная флора половых путей также участвует в профилактике микробных инфекций через врожденные и приобретенные иммунитет. Врожденная иммунная система распознает молекулярные паттерны, ассоциированные с патогенами, у микробных захватчиков, а не специфические антигены, такие как пептидогликан (лиганд TLR2), присутствующие на грамположительных патогенных бактериях.

Распознавание ассоциированного с патогеном молекулярного паттерна врожденной иммунной системой запускает последовательность событий, ведущих к возникновению провоспалительных цитокинов и активацию приобретенной иммунной системы (Т и В лимфоциты) [106,141].

В вагинальном секрете есть растворимые факторы с врожденным иммунитетом, таким как дефенсины, компоненты комплемента, толл-подобные рецепторы (TLR), лектины, связывающие маннозу, секреторные ингибиторы лейкоцитарной протеазы, оксид азота и фагоцитарные клетки [112].

Эпителиальные клетки влагалища играют решающую роль в развитии микробная инфекции при взаимодействии хозяина и микроба. Эпителиальные клетки, имеющие TLR, которые распознают патогенные микробные компоненты и запускают развитие антиген-специфического приобретенного иммунитета различными путями передачи сигнала [116]. Около 11 типов TLR определены к настоящему времени, каждый из которых имеет свою специфичность [112].

Хорошо известно, что присутствие TLR 1–3, 6, 7 и 11, которые существуют в маточных естественных киллерных клетках [122]. Другие исследования продемонстрировали, что наличие TLR5 в гладких мышцах и клеток в эндотелиальных сосудах указывает на роль TLR в предотвращении поражения нижних отделов половых путей от неблагоприятных инфекционных патологических состояний [81,113].

Дефензины представляют собой класс неспецифических антимикробных пептидов, производимых вагинальными эпителиальными клетками. Структурно дефензины это положительно заряженные молекулы, специфически связывающиеся с поверхностью бактерий что, в свою очередь, приводит к разрушению клеточных мембран и, наконец, лизис бактериальных клеток [86,91].

Белки теплового шока или стрессовые белки представляют собой особый класс консервативных белков, которые помогают выживанию клеток

при неблагоприятных условия окружающей среды, такие как экстремальная температура и токсичность химических веществ, микробные патогены или вызванные ими воспалительные реакции. Так был обнаружен один из индуцибельных белков теплового шока 70 KDa (hsp-70) был признан секретируемым антимикробным белком из влагалища [125]. Синтез hsp-70 значительно усиливается в ответ на микробную инфекцию. Связывание внеклеточного hsp-70 с TLR усиливает иммунный ответ против микробного возбудители [67]. В ответ на аномальную микробную флору внеклеточные hsp-70 индуцирует выработку оксида азота во влагалище, что проявляет эффективную антимикробную активность в отношении широкого спектра микроорганизмов [134]. Антитела специфически распознают антигенные эпитопы на поверхности микроорганизмов через опсонизацию могут попасть во влагалище через систему кровообращения. В тоже время иммунная система слизистой оболочки влагалища и эндоцервикального канала также вырабатывает антитела (иммуноглобулин G и иммуноглобулин A), продуцирующие B-лимфоциты [100], которые обеспечивают значительный механизм против патогенной микрофлоры без привлечения системного гуморального иммунного ответа. Следовательно, иммунная система влагалища имеет широкий иммунный диапазон и может отличаться от циркулирующих антител системного иммунитета [105]. Таким образом, женские половые пути состоят из сложной системы иммунной защиты от инфекционных агентов, в зависимости от нормальной и патологической микробной флоры. На защитную роль местных лактобацилл большое влияние оказывают другие виды бактерий в микрофлоре половых путей [70].

Влагалищная микробиота может изменяться под влиянием множества факторов, включая методы контрацепции. Так, использование мужских презервативов связано с развитием воспалительной и/ или аллергической реакции во влагалище, что обуславливается влиянием латекса или спермицидов. Ритм-метод (т. е., воздержание от 10 до 18 дней) не вызывает каких-либо существенных изменений [136,83]. Экзогенные гормоны,

входящие в состав гормональных контрацептивов, также как эндогенные гормоны воздействуют на слизистую оболочку влагалища через клеточные рецепторы. В ответ на воздействие гормонов, происходит стимуляция размножения клеток эпителия, что способствует адекватной концентрации гликогена в промежуточных клетках. Влияние эстрогенов приводит к преобладанию поверхностного слоя клеток, в то время как прогестерон увеличивает количество клеток промежуточного слоя. В ответ на гормональную стимуляцию, увеличивается выработка гликогена, что способствует выживаемости лактобацилл и поддержанию защитной кислой среды [97]. Кроме того, в настоящее время выявлен дополнительный гормонозависимый механизм защиты вагинальной среды. Эстрогены повышают кислотность во влагалище за счет стимулирующего действия на активность протонной помпы (через H+-АТФазу) в апикальной мембране клеток эпителия влагалища и шейки матки [90].

Комбинированные оральные контрацептивы, несмотря на то, что являются экзогенными гормонами, могут оказывать влияние на микробиом влагалища. Ряд исследований показали снижение частоты бактериального вагиноза (БВ) у женщин, использующих КОК. Мета-анализ, проведенный L.A. Vodstrcil et al. (2013) позволил выявить снижение вероятности развития БВ среди женщин — пользовательниц гормональной контрацепции на 32% и на 31% снижение риска рецидива БВ. Подобный эффект можно объяснить рядом биологических механизмов, среди которых в первую очередь рассматривается влияние эстрогенов, входящих в состав КОК, на увеличение гликогенсодержащих эпителиальных клеток влагалища, что опосредуется через защитное действие лактобактерий [136]. Другой защитный механизм связан с влиянием эстрогенов и прогестерона на иммунные клетки. Существует прямая и косвенная циклическая регуляция растворимых иммунных медиаторов, таких как иммуноглобулины (особенно IgA и IgG), секреторного ингибитора протеазы лейкоцитов (SLPI) и дефензинов, которые обладают антимикробным действием в отношении бактерий, грибов и

вирусов. Оба половых стероида оказывают воздействие на лимфоциты, натуральные киллеры, макрофаги и клетки Лангерганса, а также регулируют продукцию цитокинов, что находится в зависимости от концентрации гормонов [93]. Эстрогены оказывают провоспалительное действие при низких концентрациях, и противовоспалительное — при высоких. Концентрация и экспрессия β-дефензинов отличаются в разные фазы менструального цикла, а также у женщин, использующих и не использующих гормональную контрацепцию [127]. Еще одним механизмом, позволяющим снизить частоту развития и рецидивирования БВ, является уменьшение частоты менструаций и объема менструальных выделений, а, следовательно, и гемоглобина в половых путях у женщин, использующих КОК. Чаще всего БВ выявляется в начале менструального цикла, когда уровень эстрадиола относительно низкий [107]. Железо необходимо для роста большинства бактерий, в том числе ассоциированных с БВ. *G. vaginalis* способна использовать железо из различных железосодержащих соединений, включая гемоглобин. Кроме того, отмечено уменьшение количества *L. Jensenii* и *L. crispatus* параллельно с повышением количества *G. vaginalis* во время менструации [126]. Вполне возможно, что за счет изменения гормонального фона, сокращения менструальной кровопотери у женщин, использующих гормональную контрацепцию, снижается восприимчивость к микробам, ассоциированным с бактериальным вагинозом [136].

Вместе с тем, использование КОК способствует колонизации дрожжей во влагалище у здоровых женщин. Нельзя исключать, что эта колонизация является предрасполагающим условием рецидивирующего кандидозного вульвовагинита. Хорошо известно, что физиологическая и фармакологическая гиперэстрогенемия коррелирует с более высокой колонизацией дрожжевых грибов во влагалище. Очевидно, это может быть результатом определенных механизмов, опосредованных эстрогенами, главным образом за счет увеличения вагинального гликогена, снижения pH влагалища и более легкой адгезии грибов к эпителиальным клеткам. Хотя

вопрос изучается уже много лет, он остается спорным [82]. Длительное время результаты исследований, посвященных изучению состояния вагинальной среды у женщин, принимающих КОК, были противоречивыми. Поворотным пунктом в этой области можно считать статью D.A. Eschenbach et al. (2000), которые не выявили влияния КОК на кольпоскопическую и гистологическую картины эпителия влагалища, количество вагинальных и цервикальных выделений. Изменения количества и спектра влагалищных бактерий среди женщин использующих КОК оказалось незначительным. Однако впервые была выявлена тенденция к изменению лактобациллярного компонента, продуцирующего перекись водорода. Это исследование по-новому позволило взглянуть на изменения состояния влагалища при использовании КОК [78]. Микрофлора влагалища у женщин, принимаюших комбинированные оральные контрацептивы, представлена в основном стафилококками, диплококками, сарцинами и палочками. В тоже время существует мнение, что при микробиологическом исследовании состояния микробиоценоза влагалища, патогенная микрофлора выявлена у 95% обследованных женщин, использующих различные виды контрацепции [51].

Опубликованы исследования о наличии побочных эффектов у женщин, использующих с целью контрацепции вагинальное кольцо, содержащее 2,7 мг этинилэстрадиола и 11,7 мг этоногестрела [71]. Кокрейновское исследование, посвященное сравнению различных препаратов гормональной контрацепции, показало, что женщины, использующие вагинальное кольцо, имеют меньше системных побочных эффектов в сопоставлении с пользовательницами КОК, но больше местных симптомов, связанных с раздражением влагалища и выделениями [98]. K. Oddson et al. (2005) выявили увеличение частоты вагинитов, лейкореи. Кроме того, женщины жаловались на дискомфорт во влагалище, чувство инородного тела и выпадения кольца [111]. Первые результаты сравнительного исследования между контрацептивным вагинальным кольцом и оральными контрацептивами, были опубликованы S. Roy et al. в 1981 году. Статистическая разница в

количестве колоний молочнокислых бактерий и других микроорганизмов отсутствовала [119]. Однако в 2004 году S. Veres et al. показали защитное действие на флору влагалища у женщин, применявших вагинальное кольцо. Важным фактором защиты влагалища явилось увеличение перекись продуцирующих лактобацилл [135]. Эти результаты были подтверждены в исследовании Ю.Э. Доброхотова и др. (2008), которые выявили увеличение на 11% количества лактобацилл; улучшение показателей степени чистоты влагалищного содержимого; снижение pH содержимого влагалища при использовании НоваРинга. Полученные результаты позволили им рекомендовать рилизинг-систему в качестве одного из направлений в профилактике воспалительных заболеваний [13].

В литературе мало исследований, сравнивающих влияние различных видов гормональных контрацептивов на вагинальную флору. В этом плане особый интерес представляет работа, в которой проводилась оценка влияния на состояние влагалища КОК, содержащих аналоги «натуральных» гормонов: эстрадиолвалеарат + диеногест (E2V/ DNG, «Клайра») и 17-в эстрадиол + номегестрела ацетат (E2/NomAc, «Зоэли»). КОК с «естественным эстрогеном» представляют собой новую концепцию в гормональной контрацепции. Применение КОКE2V+DNG характеризовалось более значительным увеличением числа лактобацилл, снижением влагалищного pH. Вместе с тем в группе женщин, применявших E2/NomAc, обнаружено незначительное снижение колонизации C. Albicans, возможно обусловленное сильным антиэстрогенным влиянием номегестрела ацетата и/или меньшим снижением кислотности влагалища. Уменьшение цервикальной слизи при использовании «Зоэли», делает его препаратом выбора для здоровых женщин с избыточной продукцией слизи [72].

Методы молекулярного тестирования позволяют уточнить на какие виды лактобацилл оказывают влияние КОК. J.P. Brooks et al. (2017) сравнили влияние на микробиом влагалища различных методов контрацепции, включая использование презервативов, КОК, депо медроксипрогестерона

ацетата, внутриматочной терапевтической системы с высвобождением левоноргестрела. Для определения типов лактобацилл авторы применяли секвенирование гена 16S rRNA. В это исследование были включены в общей сложности 682 небеременные женщины репродуктивного возраста. В результате только у женщин использующих КОК - доминировали лактобациллы. При этом колонизация осуществлялась теми видами лактобацилл, которые продуцируют перекись водорода, такими как *L. crispatus, L. gasseri* и *L. jensenii.* Кроме того, только в этой группе женщин бактерии, ассоциированные с баквагинозом, встречались наиболее редко [65]. В исследовании S.E. Fosch et al. (2018) использование КОК через три и шесть месяцев наблюдения не только поддерживало нормальную микробиоту, но и уменьшало частоту бактериального вагиноза. Однако оно способствовало колонизации влагалища дрожжевыми грибами у здоровых женщин. Методом секвенирования гена 16S rRNA, удалось определить, что влагалище здоровых женщин, как правило, колонизировано только одним или двумя доминирующими видами лактобактерий, наиболее часто *L. crispatus, L. Gasseri* и *L. jensenii*. При этом обнаружение *L. crispatus* в 100% случаев было ассоциировано с нормальной микробиотой, что согласуется с гипотезой о защитных свойствах этого штамма лактобацилл в поддержании здорового микроокружения во влагалище. Вместе с тем, авторы считают, что в качестве основного защитного механизма следует считать принцип численного доминирования лактобактерий. В этом исследовании сравнительный анализ метода масс-спектрометрии MS MALDI-TOF и метода секвенирования гена 16S rRNA показал 92,9% совпадение результатов в определении видов вагинальных лактобактерий [82].

Таким образом, на сегодня микробиоценоз влагалища женщины репродуктивного возраста рассматривается как сложная многокомпонентная система с большим количеством регуляторных механизмов, направленных на поддержание собственного гомеостаза. Ключевой особенностью этой системы является тесная сопряженность с такими факторами

микроорганизма, как особенности локального иммунитета и гормональный фон.

1.3. Генетические особенности организма женщин при выборе лекарственных средств

Гены, которые представлены в популяции несколькими разновидностями – аллелями, принято называть полиморфными. Полиморфизм генов способствует формированию разнообразия признаков внутри вида. Во всех структурных элементах генома обнаружены полиморфизмы нуклеотидных последовательностей: экзонах, интронах, регуляторных и некодирующих участках и т.д. В основе полиморфизма ДНК лежат делеции (del), изменение числа тандемных повторов (минисателлитная ДНК - длинные повторы, либо микросателлитная ДНК – короткие тетра-, три-, ди- или мононуклеотидные повторы), вставки (ins), а также замены одиночных нуклеотидов (single-nucleotide polymorphism, SNP). На сегодняшний день известно более 50 миллионов полиморфизмов. Для многих генов удается выделить «дикий» или нормальный аллель— это аллель, самый распространенный в популяции, который встречается значительно чаще других. Иногда среди аллелей нет ни одного, который можно было бы считать нормальным. Разные аллели в ходе эволюции произошли в результате мутаций от единого аллеля-предшественника, чаще всего они отличаются друг от друга заменой одного нуклеотида вследствие миссенс-мутации. Существуют различные критерии полиморфности генов. Если частота наиболее распространенного аллеля не превышает 99%, обычно локус определяется как полиморфный, иначе высока вероятность того, что в небольшой выборке, взятой из популяции, не будет присутствовать ни один другой аллель. Также можно найти и другие критерии полиморфности и такое деление носит условный характер [14]. Расшифровка всего генома человека в ходе реализации международного проекта «Геном человека» в

2001 году была важным шагом в формировании представлений о роли генетического полиморфизма на уровне одиночных нуклеотидных замен. Данный проект был реализован в течение года после 10 лет работы. На основании полученных данных возникла новая отрасль медицины – персонализированная медицина, основным принципом которой является подбор методов лечения заболеваний в соответствии с генетическими особенностями пациентов. Особый интерес вызывают исследования, посвященные индивидуальным различиям в метаболизме лекарственных средств.

Общеизвестно, что имеющиеся существенные индивидуальные различия в метаболизме лекарственных средств, в основном обусловлены полиморфизмом изоферментов системы цитохрома Р-450. Доля измененных генов может достигать в популяции 10% [30]. Известно, что индивидуальные особенности фармакокинетики лекарственного средства определяются главным образом его биотрансформацией, которая, в свою очередь, зависит от активности ферментов биотрансформации печени I и II фазы. Первая фаза биотрансформации представляет собой окислительно-восстановительные реакции, связанные с цитохромом Р-450, в результате которых происходит модификация (преобразование) лекарственных средств и образование промежуточных токсичных продуктов. При этом главными ферментами являются изоферменты цитохрома Р-450, участвующие в реакциях биотрансформации I фазы [117,132]. В результате реакций I и II фазы образовавшиеся соединения выводятся из организма с мочой, желчью, калом и потом. Цитохром Р-450 (CYP 450) – так называется большая семья универсальных ферментов организма человека, отвечающих за метаболизм большинства лекарств и других чужеродных органических соединений (ксенобиотиков). Наибольшее количество цитохромов обнаружено в гепатоцитах, а также в таких органах, как кишечник, почки, легкие, головной мозг и сердце [128]. Для обозначения цитохромов Р-450 используют аббревиатуру CYP (cytochrom P-450). Все цитохромы Р-450 называются

суперсемейством, которые по классификации D.W. Nebert (1987) принято подразделять по близости (гомологии) нуклеотид/аминокислотной последовательности на семейства, а последние, в свою очередь, — на подсемейства [101,109]. Семейства цитохромов Р-450 принято обозначать римскими цифрами, подсемейства – римскими цифрами и латинской буквой. Отдельные изоферменты обозначают следующим образом: сначала арабская цифра, обозначающая семейство, далее латинская буква, обозначающая подсемейство, и в конце — арабская цифра, соответствующая изоферменту [99]. На сегодня выделено более 1000 изоферментов цитохрома Р-450. Наиболее распространенными представителями этой группы являются: CYP1A1, CYP 1A2, CYP2A2, CYP2B6, CYP 2C9, CYP 2C19, CYP 2 D6, CYP 2E1, CYP 3A4, CYP3A5. CYP1A2 является одним из основных ферментов метаболизма, и на его долю приходится 12-20% общего объема CYP в печени [23]. Одним из ключевых изоферментов цитохрома Р-450 является CYP1A2, который участвует в метаболизме множества лекарственных препаратов, таких как кофеин, теофиллин, такрин, клозапин. Носителей генотипа АА называют «быстрыми» метаболизерами кофеина, а носителей генотипов АС или СС - «медленными» метаболизерами кофеина. Распространенность мутации в европейской популяции составляет 30-50%. По данным E. Bageman (2008) у женщин, имеющих хотя бы один С аллель и выпивающих по крайней мере три чашки кофе в день, риск развития рака молочной железы примерно на 30% ниже, чем у женщин с генотипом А/А, выпивающих такое же количество кофе [61]. На долю CYP2C19 приходится около 3% от общего содержания в печени CYP и некоторое внепеченочное количество было отмечено в кишечнике [2]. CYP2D6 представляет около 2% общего содержания в печени CYP. Помимо печени, CYP2D6 находится и в других тканях, например, мозг, эпителиальные ткани и легкие [24]. Цитохром CYP 3A4, является наиболее важным изоферментом Р-450, регулирующим в печени метаболизм всех стероидов и большинства (более 60%) известных ЛС, причем эстрадиол, прогестерон и тестостерон являются его субстратами.

Это основной цитохром печени и кишечника (от общего количества цитохромов он составляет 60%). Незначительное количество CYP 3A4 есть в легких, почках, головном мозге и плаценте [95]. Существуют определенные факторы, которые могут изменять активность изоферментов цитохрома Р-450. Различия в генах, кодирующих метаболизм ферментов, могут изменить, уменьшить или увеличить активность ферментов.

Лица, у которых выявлены два нормальных аллеля (гомозиготы «дикого» типа) встречаются часто, а у людей с одним нормальным и одним вариантом аллеля (гетерозиготы) может наблюдаться ультрабыстрый метаболизм. Так при низкой активности изофермента цитохрома Р-450 может происходить нарушение печеночного метаболизма эстрогенов и гестагенов, а, следовательно, резко возрастать концентрация препарата, метаболизирующегося данным ферментом, приводящая к усилению побочных эффектов, направленных на органы-мишени (риск развития гепатотоксичности и холестаза). И, наоборот, при высокой активности изофермента цитохрома Р-450 может снижаться концентрация препарата, соответственно и его эффективность [137,64,139]. Ключевую роль в конечной цепи превращений эстрогенов из андрогенов играет фермент ароматаза (цитохром Р-450 19-го семейства, CYP19, эстрогенсинтетаза) [96]. Ароматаза кодируется геном семейства цитохромов Р450 - CYP19, локализованном у человека на хромосоме 15, представлена одним полипептидом и не имеет изоформ. Ген ароматазы экспрессируется в яичниках, плаценте, мозге, костях, в жировой и некоторых других тканях [66]. Было доказано, что существует только один ген, кодирующий ароматазу. Таким образом, зная, каким изоферментом цитохрома Р-450 метаболизирует то или иное лекарственное средство, а также факторы, вызывающие изменение активности того или иного изофермента цитохрома Р-450 у конкретного больного, можно осуществить персонализированный выбор препарата, который, как ожидается, будет максимально эффективным и безопасным [132,117]. Однако, не всегда отмечается полная корреляция

генотипа и фенотипа в скорости метаболизма лекарственных средств, что свидетельствует о необходимости использования биохимического контроля при генотипировании ферментов метаболизма [43]. Во время второй фазы происходит детоксикация лекарственных средств и образовавшихся промежуточных токсичных продуктов путем образования водорастворимых конъюгатов с глюкуроновой, серной, уксусной кислотами, глутатионом и другими эндогенными молекулами [115]. Процесс детоксикации представляет собой довольно сложную систему взаимодействия различных ферментов с экзогенными веществами, в том числе токсическими соединениями [139]. Гены, контролирующие синтез соответствующих ферментов называют «генами метаболизма» [75]. Группа генов детоксикации II фазы представлена суперсемейством глютатион-S-трансфераз (GST) и N-ацетилтрансферазы (NAT2). Полиморфизм GST определяет индивидуальную чувствительность организма к воздействию факторов внешней среды [15,27,87]. У человека выделяют несколько классов глутатион-S-трансфераз: alha (A), kaa (K), mu (M), omega (O), pi (P), theta и микросомальные [84]. Эти ферменты катализируют реакцию конъюгации окисленного глутатиона через сульфгидрильную группу с электрофильными центрами большого разнообразия субстратов, тем самым вовлекаясь в процесс защиты организма против вредных экзогенных субстратов, таких, как канцерогены, лекарственные препараты и токсины окружающей среды, а также продуктов эндогенного происхождения. Ген GSTM1 экспрессируется в печени и клетках крови, экспрессия GSTM2 наблюдается только в мышцах, а экспрессия генов GSTM3-5 – в тканях мозга. Наиболее значимым для генетических и биомедицинских исследований является «нулевой» вариант GSTM1 01 0, возникший в результате делеции, вследствие неравного кроссинговера между гомологичными последовательностями, фланкирующими ген GSTM1. Такой генетический вариант снижает чувствительность индивидов к канцерогенам, токсинам и некоторым лекарственным веществам [102]. Глутатион S-трансферазы мю-1 (GSTM1)

вовлечен в детоксикацию электрофильных органических веществ, в основном ксенобиотического происхождения. Делеция гена приводит к повышенной чувствительности к ксенобиотикам (в частности, к продуктам термического разложения табака). Соответственно, наличие делеции приводит к увеличенному риску раковых и кардиоваскулярных заболеваний гомозиготный генотип по делеции гена GSTM1 связан с повышенным риском развития рака легких [26]. По данным Tamer et al. (2004), у лиц, имеющих генотип GSTM1 0/0, делеция в этом гене ассоциирована с повышенным риском развития астмы и других респираторных заболеваний. Однако, мутантный аллель GSTM1 0 довольно широко распространен в человеческой популяции. Число людей, гомозиготных поэтому аллелю, составляет 40–60% среди европеоидов, 27–35% – среди негроидов, 32–53% – среди монголоидов [129]. По данным разных авторов, «нулевой» аллель GSTM1 0 в гомозиготном состоянии присутствует у 40–46% населения России [10]. Глутатион S-трансфераза тета-1 (GSTT1) участвует в детоксикации многих ксенобиотиков (в частности, хлорметанов и других индустриальных канцерогенов) посредством присоединения глутатиона к субстратам, встречается в эритроцитах. Делеция гена ассоциирована с повышенным риском развития различных форм рака. Частота встречаемости делеции 16%-25% в европеоидных популяциях. Известно, что у пациентов с гомозиготной делецией гена риск развития рака мочевого пузыря увеличен в 2 раза [18]. Было подтверждено, что гены GSTT1 и GSTT2, как и ген GSTM1, играют важную роль в процессах канцерогенеза у человека [74,123]. Выявлено, что 15–30% европеоидов, 22–29% негроидов и 38–58% монголоидов являются гомозиготными по делетированному аллелю GSTT1 0 [88]. В популяции русского населения европейской части России частота этого генотипа в среднем составляет 18% [54]. Глутатион S-трансфераза пи-1 (GSTP1) встречается в эритроцитах. Наличие в эритроцитах транспортных систем для глутатион-модифицированных веществ позволяет предположить, что GSTP1 очищает эритроциты от ксенобиотиков. Вариант G полиморфизма

I105V (A/G) и вариант T полиморфизма A114V (C/T) ассоциированы с повышенным риском развития различных форм рака. Частоты встречаемости вариантов 45% и 35% соответственно.

Метаболизм эстрогенов происходит непосредственно в эндометрии под воздействием ферментов I фазы биотрансформации (CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1) [6,8]. Затем при участии ферментов II фазы глутатионтрансферазы (GST), сульфотрансферазы (SULT) и катехол-О-метилтрансферазы (COMT) происходит дальнейший метаболизм катехолэстрогенов с образованием неактивных и немутагенных производных [1,21,104,108]. Еще один важный ген II фазы – N- ацетил-трансфераза (NAT2) играет важную роль в детоксикации препаратов, содержащих ароматические аминные или гидразиновые группы. Для того чтобы понять патогенез многих заболеваний, обусловленных гиперэстрогенией (эндометриоз, фиброзно-кистозная мастопатия, фибромиома матки), необходимо понимать механизм метаболизма эстрогенов у женщин. Высокий уровень эстрогенов не только является основой этих заболеваний, но и существенно ускоряет процессы старения, снижает качество и сокращает продолжительность жизни женщины. Женские половые гормоны синтезируются в яичниках и жировой ткани, а затем поступают в системный кровоток, где большая часть эстрогенов связывается с белком, который переносит половые гормоны (ГСПГ). И лишь небольшая часть эстрогенов находится в свободном состоянии. Только свободная форма гормона обладает биологической активностью. В связанном состоянии гормоны являются «оперативным» запасом организма и при необходимости могут перейти из связанного состояния в свободную форму. Свободная фракция эстрогенов является липофильной, и, следовательно, легко может проникать в ядро клетки. А именно в ядре локализованы рецепторы к эстрогенам и прогестерону. Таким образом, гормон, связываясь со своим ядерным рецептором, образует гормон-рецепторный комплекс, который инициирует активацию или ингибирование определенных генов, что в свою очередь вызывает ускорение

или ослабление синтеза белков, кодируемых этими генами. В случае возникновения изменений концентрации определенных белков внутри клетки происходит изменение и функции этой клетки. После того, как происходит воздействие на клетку, молекула эстрогена разрушается и выводится из организма. Для того чтобы эстрогены выводились из организма, происходит их переход из липофильных соединений в водорастворимую форму при участии арсенала ферментов.

В организме женщины процесс превращения гормонов проходит в 2 этапа. На первом этапе эстрогены под действием ферментов группы цитохрома Р450 подвергаются трансформации с образованием промежуточных продуктов (2- гидрокси-, 16-гидрокси-, 4-гидроксиэстрогенов). Наиболее предпочтительными для женщины являются 2-гидроксиэстрогены. Снижение соотношения 2- гидроксиэстрона к 16-гидроксиэстрону, то есть доминирование 16-гидроксиэстрона над 2-гидроксиэстрогенами, является свидетельством высокого риска развития рака матки и молочной железы [8]. Вторым путем превращения эстрогенов является воздействие на эстрогены цитохрома Р450 1В1, в результате чего образуются 4-гидроксиэстрогены и, они могут повреждать ДНК клетки и вызывать ее раковое перерождение. Именно эти метаболиты являются виновниками доброкачественных и злокачественных новообразований матки, молочной железы и яичников [6,85]. По данным Харенковой Е.Л. и др., в группе женщин с гиперплазией эндометрия (ГПЭ) наблюдается незначительное увеличение частоты мутантного аллеля С (14,8%) по сравнению с контролем (12,2%), но различия статистически недостоверны. Также для этой группы наблюдается снижение частоты гетерозиготного генотипа CYP1A1*1A/2A по сравнению с контролем. Гомозиготный вариант мутантного типа С/С обнаруживался у женщин с ГПЭ (2,9%), но отсутствовал в группе сравнения [53]. После того, как эстрогены связались с сульфатами или глюкуроновой кислотой, они секретируются печенью в желчные протоки, с желчью попадают в кишечник и затем выводятся из

организма. В результате нарушения этих процессов, снижается активность сульфотрансферазы в ткани эндометрия и увеличивается риск злокачественных новообразований [25]. Попадая в кишечник, модифицированные в печени гормоны должны выводиться из организма. Однако если у женщины имеется нарушение функции ЖКТ (дисбиоз и/или она потребляет недостаточное количество клетчатки), то кишечная флора образует фермент бета-глюкуронидазу, которая отщепляет глюкуроновую кислоту от детоксицированных эстрогенов. Эстрогены, оставшись без глюкуроновой кислоты, снова могут проникать в организм через кишечную стенку и, таким образом, увеличивают общее количество эстрогенов в организме. Чрезмерное количество эстрогенов может привести к развитию эндометриоза, фиброзно-кистозной мастопатии, фибромиом матки и полипов эндометрия. Состояние гиперэстрогенемии по литературным данным также способствует внедрению папилломавирусной инфекции в шейку матки и развитию дисплазий [137]. На нарушение процессов глюкуронизации в организме могут указывать нарушения биохимического анализа крови, такие как, повышение уровня непрямого билирубина, при нормальной концентрации трансаминаз и прямого билирубина-глюкуронида. Для того чтобы восстановить баланс женских половых гормонов, необходимо точно представлять, какое звено или звенья этой метаболической цепи нарушены. Вероятно, именно генетический полиморфизм лежит в основе патофизиологии многих нарушений метаболизма половых стероидов, недостаточной эффективности, различной приемлемости появления побочных реакций и осложнений на фоне гормональной контрацепции. Возможно, все это может происходить за счет модификации метаболизма стероидов, всасывания, экскреции, изменения структуры и функции рецепторов, на которые они воздействуют. Однако эти исследования крайне малочисленны и разноречивы. Данные, полученные в результате этих исследований, позволяют предположить, что определение генетических маркеров сможет объяснить некоторые механизмы появления побочных

эффектов и осложнений [79]. Профиль цитохромов Р-450 формируется как результат комплексного воздействия генетически заложенной информации и факторов внешней среды. Все эти факторы индивидуальны для каждого человека и должны учитываться при персонализированном лечении. Зная, каким изоферментом цитохрома Р-450 метаболизируется препарат, можно прогнозировать вероятную возможность влияния генетического фактора на эффективность, приемлемость и безопасность его применения.

Важным фактором, контролирующим состав влагалищной микрофлоры, является состояние локального иммунитета [28,49]. При этом важно отметить, что процесс взаимодействия двунаправленный: как факторы врожденного иммунитета поддерживают определенную численность микроорганизмов [138], так и микроорганизмы непрерывно стимулируют локальный иммунитет. Описаны сигнальные молекулы, с помощью которых происходит обмен сигналами между локальной иммунной системой и микрофлорой соответствующего биотопа. Показано, что локальная иммунная система влагалища поддерживает определенный уровень про- и противовоспалительных цитокинов для контроля за микробиотой. Дисбиотические нарушения вызывают выраженное изменение экспрессионного профиля широкого спектра генов иммунной системы, отражающее перестройку иммунной системы в ответ на микробную стимуляцию [9]. Важным фактором, определяющим особенности функционирования иммунной системы, является полиморфизм ключевых генов [4]. Наибольший интерес представляют гены ИЛ, их рецепторов и антагонистов и Toll-подобных рецепторов [58]. Яркой иллюстрацией взаимосвязи полиморфизма генов иммунной системы и особенностью микрофлоры влагалища может служить семейство ИЛ-1, включающее в себя два гомологичных белка – IL -1α и IL -1β, которые являются провоспалительными, и IL -1RN (рецепторный антагонист), молекула которого обладает противовоспалительным действием за счет конкурентного связывания биологически активной молекулы. Эти белки кодируются генами

IL -1α, IL -1β и IL -1RN соответственно. Равновесие между экспрессией и ингибированием синтеза IL -1 определяет развитие, регуляцию и исход воспалительного процесса. Биологические эффекты IL -1β реализуются после связывания со специфическим мембранным рецептором IL -1RI. IL -1β является преобладающей формой IL -1. IL -1β – многофункциональный цитокин с широким спектром действия, играющий ключевую роль в развитии и регуляции неспецифической защиты и специфического иммунитета. Он одним из первых включается в ответную защитную реакцию организма при действии патогенных факторов. Синтезируется и выделяется преимущественно макрофагами и моноцитами, в меньшей степени – лимфоцитами и фибробластами. Клетками-мишенями этого цитокина являются иммунокомпетентные, эндотелиальные, эпителиальные клетки, фибробласты и др. Он стимулирует и регулирует воспалительные и иммунные процессы, активирует нейтрофилы, Т- и В-лимфоциты, стимулирует синтез белков острой фазы, повышает фагоцитоз, гемопоэз, проницаемость сосудистой стенки, цитотоксическую и бактерицидную активность, стимулирует продукцию адренокортикотропного гормона и высвобождение IL-2. IL-1 участвует в регуляции температуры тела, его повышенная продукция приводит к развитию лихорадки. Действуя как местный индикатор воспаления, IL-1 способствует выбросу гистамина, плазминогена, эйкозаноидов и свободных радикалов клетками воспалительного инфильтрата. Аллель *2 гена IL-1RN ассоциирован со сниженным провоспалительным ответом на анаэробные грамотрицательные палочки, *G. vaginalis, Mycoplasma, Peptostreptococcus spp*., что приводит к увеличению количества соответствующей флоры и снижению колонизации влагалища лактобактериями [138].

Одним из ориентиров при выборе гормонального контрацептива, в первую очередь КОК, могут служить выделенные еще в 1990-е годы виды женского фенотипа [50]. Влияние гормональной контрацепции при различном генотипе женщин мало освещены в литературе. Известно, что

пациентки с гомозиготным носительством аллеля А полиморфного локуса rs2414096 гена ароматазы относятся к группе высокого риска по возникновению побочных эффектов и осложнений, тенденции к усилению холестатической активности, изменениям в системе гемостаза, которые отмечаются с 6 месяца наблюдения на протяжении всего срока использования гормональной контрацепции. У 3,8% пациенток с генотипом А/А потребовалась отмена ГК и подбор альтернативных методов контрацепции. Пациентки с генотипом A/G (51,9%) относятся к группе риска по развитию ранних транзиторных побочных эффектов (межменструальные кровянистые выделения, масталгия, изменения в биохимическом анализе крови и гемостазиограмме) на 6 месяце, которые нормализуются к концу наблюдения. У носителей генотипа G/G подобных осложнений и побочных эффектов не наблюдалось. Проведение генотипирования у женщин, планирующих использовать ГК, позволяет обосновать периодичность наблюдения: с генотипом А/А – каждые 3 месяца после начала использования ГК; с генотипом A/G – однократно через 6 месяцев от начала применения ГК и с генотипом G/G – по показаниям [14].

Таким образом, на сегодня микробиоценоз влагалища женщины репродуктивного возраста рассматривается как сложная многокомпонентная система с большим количеством регуляторных механизмов, направленных на поддержание собственного гомеостаза. Ключевой особенностью этой системы является тесная сопряженность с такими факторами микроорганизма, как особенности локального иммунитета и гормональный фон.

Полиморфизм генов системы врожденного иммунитета является молекулярным субстратом индивидуальной изменчивости в силе и особенностях протекания локального иммунного ответа. Изучение генотипа женщины позволяет предсказать реакцию иммунной системы на различные внешние воздействия, что может быть использовано для формирования

группы риска по развитию дисбиотических нарушений при определенных условиях.

Широко применяемая в настоящее время гормональная контрацепция может рассматриваться в качестве одного из ключевых факторов, приводящих к сдвигам микроэкологии влагалища. В связи с этим, при применении указанного метода планирования беременности необходим контроль ключевых показателей микробиоценоза влагалища и основных факторов.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дизайн исследования

Данное исследование является рандомизированным клиническим исследованием (не плацебо-контролируемое), проводимое в 4-х группах испытуемых с целью доказательства эффективности определения генетических полиморфизмов для прогнозирования нарушений в биоценозе влагалища на фоне использования различных методов гормональной контрацепции, адекватного и безопасного их подбора.

2.1 Материал исследования

Исследование проводилось на безе ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор – академик РАН Г.Т. Сухих). Набор пациентов осуществлялся в научном-поликлиническом отделение ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (заведующий – д.м.н, профессор В.Н. Прилепская). Лабораторные исследования проводились в лаборатории молекулярно - генетических методов (заведующий – к.м.н. А.Е. Донников),

В исследование принимало участие 300 женщин в возрасте от 18 до 45 лет. В клиническое исследование были включены пациентки, подписавшие информированное согласие, что было запротоколировано согласно стандартам Этического комитета Министерства здравоохранения Российской Федерации. Исследование было одобрено экспертной комиссией ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России по вопросам медицинской этики (протокол № 4 от октября 2015 г.).

Согласно критериям включения и исключения, в исследование было набрано 120 пациенток (рисунок 1), желающих использовать гормональные методы контрацепции, которые методом случайных чисел были подразделены на четыре равные по численности группы.

Распределение пациенток по группам представлено ниже.

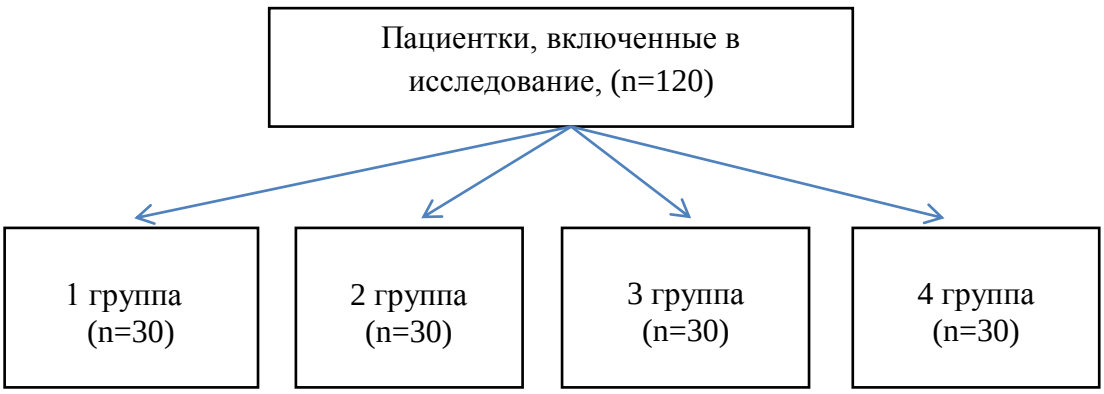


Рисунок 1. Распределение пациенток по группам

В первую группу были включены 30 пациенток, использующих барьерные (презерватив) или естественные (прерванный половой акт, ритмический метод) методы контрацепции.

Во вторую группу были включены 30 пациенток, которые использовали влагалищное кольцо, содержащее – этинилэстрадиол (11,7 мг) и – этоногестрел (2,7 мг). В сутки выделяется 15 мкг этинилэстрадиола и 120 мкг этоногестрела.

В третью группу были включены 30 пациенток, использующих монофазный комбинированный оральный эстроген-гестагенный контрацептивный препарат, содержащий 20 мкг этинилэстрадиола и 3мг дроспиренона.

В четвертую группу были включены 30 пациенток, которые использовали внутриматочную рилизинг - систему, содержащая 52 мг левоноргестрела. Ежедневно выделяется в полость матки до 20 мкг гормона.

Выбор данной группы препаратов, был обусловлен минимальным содержанием стероидных компонентов в препарате и минимальным влиянием на биохимические параметры крови, липидный спектр крови и систему гемостаза, установленных для женщин в популяции. Для оценки частоты и сроков возникновения побочных эффектов гормональной

контрацепции проводилось клиническое обследование через 3, 6, 9 месяцев после начала использования препаратов.

Критерии включения в исследование пациенток в группы:

- Репродуктивный возраст (18 - 45 лет) желающие использовать контрацепцию.
- Регулярный менструальный цикл.
- Отсутствие приема антибактериальных препаратов в течение 3-х месяцев до обследования.
- Заинтересованность в надежной контрацепции.
- Подписание информированного согласия.
- Соматически и психически здоровые женщины.
- Регулярная половая жизнь.
- Отсутствие приема гормональных контрацептивов в предшествующие 3 месяца.
- Отсутствие инфекций, передающихся половым путем.

Критерии исключения:

- Критерии исключения формировались согласно рекомендациям приемлемости и безопасности гормональной контрацепции ВОЗ (2015).

Для влагалищного кольца дополнительно:

- Цервикальные интраэпителиальные неоплазии, выпадение шейки матки, грыжа мочевого пузыря
- Для ВМС дополнительно:
- воспалительные заболевания органов малого таза в настоящее время, ИППП (в настоящее время), туберкулез внутренних половых органов, количество половых партнеров больше 1, врожденная аномалия половых органов (двурогая матка, седловидная матка, однорогая матка, перегородка в матке), миома матки (субмукозный узел или узел деформирующий полость матки), трофобластическая болезнь, пузырный занос, хориокарцинома (в анамнезе).

Характеристика методов контрацепции

В нашей работе были использованы современные гормональные контрацептивы: внутривлагалищное кольцо, микродозированный оральный контрацептив, внутриматочная гормональная система.

Внутривлагалищная рилизинг - система сконструирована в виде кольца. Кольцо гибкое, прозрачное, состоит из неабсорбирующего гипоаллергенного материала этиленвинилацетата (EVA), диаметром 54 мм, толщиной в сечении 4 мм. Каждое кольцо содержит 11.7 мг этоногестрела (ЭГ) и 2.7 мг этинилэстрадиола (ЕЕ). По биологическому градиенту путем диффузии из кольца во влагалище ежедневно выделяется 15 мкг ЕЕ и 120 мкг этоногестрела. По суточному выделению ЕЕ влагалищное кольцо соответствует микродозированным пероральным контрацептивам, по составу компонентов относится к средствам комбинированной гормональной контрацепции. Каждое кольцо предназначено для применения в течение 1 менструального цикла, включающего 3 недели его применения и 1 неделю перерыва.

В качестве КОК был выбран монофазный комбинированный оральный эстроген-гестагенный контрацептивный препарат, содержащий 20 мкг этинилэстрадиола и 3мг дроспиренона, с новым режимом применения 24+4;. Схема назначения препарата: с первого дня менструации по одной таблетке в сутки, последовательно, в течение 28 дней. Прием каждой последующей упаковки начинается без перерыва, на следующий день после приема последней таблетки из предыдущей упаковки. В упаковке – 28 таблеток, 24 из которых - активные и 4 табл. плацебо.

Внутриматочная рилизинг - система представляет собой Т-образное пластиковое внутриматочное средство, в вертикальном стержне которого находится контейнер с 52 мг левоноргестрела, ежедневно выделяющая в полость матки до 20 мкг гормона. После предварительного обследования и исключения противопоказаний, внутриматочные спирали вводили на 3-5

день менструального цикла. Срок использования ЛНГ-ВМС – 5 лет, после чего она должна быть извлечена, или заменена на новую.

Оценивались: контрацептивная эффективность, приемлемость и безопасность препаратов, удовлетворенность женщинами использованием контрацептива, наличие побочных эффектов и осложнений, анализировались причины отказа от предложенного метода контрацепции, состояние микробиоценоза влагалища.

Длительность наблюдения за пациентками составила 9 месяцев.

Периодичность исследования – до начала приема, через 3, 6, 9 месяцев в процессе использования контрацептивного препарата.

Контрацептивная эффективность оценивалась на основании регистрации числа беременностей, наступивших на фоне приема препарата в течение 1 года по индексу Pearl путем пересчета числа беременностей на 100 женщино-лет по формуле:

$$\text{Pearl Index} = \frac{\text{число зачатий x1200}}{\text{число месяцев наблюдения (сумма для всех женщин)}}$$

Приемлемость (индивидуальная переносимость) определялась на основании анализа регистрации жалоб пациенток, частоты и характера побочных реакций, индивидуального анализа менограмм в динамике контрацепции, анализа данных лабораторного и других методов исследования.

Безопасность определялась на основании регистрации всех неблагоприятных реакций на лекарства (НРЛ), которые были оценены субъективно женщинами и объективно врачом по оценке метаболического их влияния на организм женщины.

2.2 Методы исследования

Обязательные методы исследования:

С целью поиска клинико - анамнестических и молекулярно – генетических маркеров проводилось тщательное изучение анамнеза, динамики липидного спектра крови, биоценоза влагалища и одномоментного определения полиморфизмов некоторых генов.

С целью своевременного исключения противопоказаний к тому или иному методу контрацепции и оценки репродуктивного здоровья женщин, до начала и в процессе контрацепции, проводилось обследование с проведением общеклинических и специальных методов исследования (Таблица 1).

Таблица 1 - Протокол исследования

Обследование	Периодичность наблюдения
Анкетирование	Перед назначением контрацепции
Анамнез	Перед назначением контрацепции
Общее обследование	Перед назначением контрацепции
Гинекологическое обследование	Перед назначением контрацепции
Исследование микрофлоры урогенитального тракта методом ПЦР в режиме реального времени	До и на фоне контрацепции (3, 6, 9 месяцев)
Определение полиморфизма генов	Перед назначением контрацепции
Типирование лактобактерий	На фоне контрацепции (3, 6, 9 месяцев)
Биохимический анализ крови	До и на фоне контрацепции (3, 6, 9 месяцев)
Гемостазиограмма	До и на фоне контрацепции (3, 6, 9 месяцев)
УЗИ органов м/таза	Исходно, затем по показаниям
УЗИ молочных желез, маммография	Исходно, затем по показаниям
Цитологическое исследование мазков из шейки матки	Исходно, затем 1 раз в полгода

Методы исследования в виде списка и схемы с указанием кратности каждого из планируемых работ.

Методы исследования	До	3 мес	6 мес	9 мес
Анкетирование	+			
Измерение АД, ИМТ, оценка жалоб, общий осмотр, гинекологический осмотр	+	+	+	+
Гемостазиограмма (АЧТВ,фибриноген, тромбиновое время, протромбин, ПИ, ИТП, ma, r+k, протеин С, протеин S,антитромбин III)	+	+	+	+
Оценка микробиоценоза влагалища методом «Фемофлор»	+	+	+	+
Изучение полиморфизма генов	+			
Биохимический анализ крови: АЛТ, АСТ, ГГТ, билирубин, ЩФ, ЛДГ). Липидный спектр крови: холестерин общий, ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП, триглицериды	+	+	+	+

1. Клиническое исследование, включающее в себя сбор жалоб, изучение анамнеза, оценку репродуктивной функции, проведение общего осмотра и гинекологического исследования, подсчет индекса массы тела (ИМТ), осмотр и пальпацию молочных желез.

2. Цитологический метод (жидкостная цитология).

3. Молекулярно-генетические методы.

4. Расширенная кольпоскопия.

5. Инструментальные методы исследования.

6. Лабораторные методы обследования включали в себя:

- Липидный спектр крови (проводили на автоматическом биохимическом анализаторе Random Access - A 15 (Biosystems, Испания), реагенты Biosystems)
- Биохимический анализ крови (проводили на автоматическом биохимическом анализаторе Random Access – A 15 (Biosystems, Испания), реагенты Biosystems)
- Гемостазиограмма (выполняется на приборе ROTEM GAMMA, в модуле NATEM, Стар-ТЭМОптимизированный стартовый реагент 20 фл/наб, компания TEM Innovations)

Специальные методы исследования:

1. Для количественной оценки состава микрофлоры влагалища использовались метод ПЦР ("Фемофлор 16" и определение патогенных микроорганизмов)

2. Молекулярно – генетические методы исследования с целью поиска полиморфизмов генов (определение полиморфизма генов IL4 и IL 1R).

Клинический осмотр

Клиническое исследование заключалось в заполнении специально подготовленной нами анкеты, с указанием Ф.И.О. пациентки, даты рождения, адреса проживания, контактных данных. Изучались сведения о профессиональных вредностях, особенностях наследственного и аллергоанамнеза, наличии вредных привычек, соматических заболеваний и перенесенных операциях. Учитывались такие показатели, как возраст начала половой жизни, количество половых партнеров, используемые методы контрацепции. Помимо этого, оценивалась репродуктивная функция женщины – возраст менархе, особенности менструального цикла, количество беременностей (в том числе внематочных и неразвивающихся), родов, выкидышей и абортов в анамнезе.

Пристальное внимание уделялось сбору гинекологического анамнеза. Особое внимание было уделено выявлению перенесенных ранее

воспалительных заболеваний и, в частности, ВЗОМТ. Для выявления противопоказаний к назначению ГК особенно тщательно обращали внимание на частые головные боли, эпизодические повышения АД, тромбозы глубоких вен в анамнезе, тромбофилические мутации, мигрени и избыточную массу тела пациенток. Путем анкетирования выявляли методы контрацепции, которыми женщины пользовались ранее, их эффективность и приемлемость, причины отказа.

При общем осмотре учитывали конституциональный тип телосложения с измерением росто-весовых показателей. Оценивались общее состояние пациенток, особенности функционирования сердечно-сосудистой системы, органов дыхания, желудочно-кишечного тракта, почек и мочевыводящих путей, состояние костного скелета и молочных желез. 36 Измерение ИМТ проводилось по формуле Brey: ИМТ = масса тела (кг)/ рост (м 2). Нормальными показатели ИМТ для женщин репродуктивного возраста считаются 18,5-24,9 кг/м2 .

При гинекологическом осмотре оценивалось состояние наружных половых органов, учитывались степень и характер оволосения, развития малых и больших половых губ, наличие патологических образований вульвы, промежности и перианальной области.

При исследовании генитального тракта в зеркалах оценивались цвет слизистой влагалища и шейки матки, характер, количество, консистенция, цвет и запах влагалищных выделений, величина и форма шейки матки, наличие патологических образований на поверхности шейки матки и стенках влагалища.

При бимануальном влагалищном исследовании определяли форму, величину, подвижность и болезненность тела матки, оценивались положение матки и наличие воспалительных процессов внутренних половых органов, а также наличие спаечного процесса в малом тазу.

Кольпоскопическое исследование

Было выполнено при помощи кольпоскопа «Leisegang» при 7-15-30-кратном увеличении. В ходе проведения расширенной кольпоскопии состояние эпителия шейки матки исследовали с последующим нанесением 3% раствора уксусной кислоты и раствора Люголя. Расширенная кольпоскопия – один из методов ранней диагностики заболеваний шейки матки, который основывается на тщательном осмотре эпителия под микроскопом с постановкой различных эпителиальных и сосудистых тестов, при которых оценивается реакция тканей на обработку химическими составами. Основные цели кольпоскопического исследования заключаются в оценке состояния эпителия и сосудов шейки матки, детализации размера, характера и локализации пораженных участков, решении вопроса о целесообразности проведения дополнительных морфологических исследований.

При интерпретации кольпоскопической картины мы оценивали следующие показатели: цвет, поверхность, структура и уровень многослойного плоского эпителия, стык эпителиев (характер и локализация, удовлетворительность кольпоскопии, тип зоны трансформации), особенности сосудистого рисунка, наличие и форма желез, реакция на 3% раствор уксусной кислоты, реакция на пробу Шиллера, размер и границы образований, тип эпителия.

Для оценки кольпоскопической картины мы применяли единую Международную классификацию кольпоскопических терминов, одобренную на 14-м Всемирном конгрессе IFCPC в Рио-де-Жанейро (2011 г.) (Таблица 5). Возможность визуализации зоны стыка многослойного плоского и цилиндрического эпителиев – зоны трансформации (удовлетворительная/неудовлетворительная кольпоскопическая картина, зона трансформации 1, 2 или 3 типа) является одним из основных критериев информативности кольпоскопического исследования. Ненормальные

кольпоскопические картины чаще всего вызваны папилломавирусной инфекцией. К основным признакам, свидетельствующим о развитии интраэпителиальных неоплазий, относятся ацетобелый эпителий, пунктация, мозаика. Наиболее важным является ацетобелый эпителий, плотность и быстрота проявления которого обычно коррелируют со степенью тяжести неоплазий. Атипическая васкуляризация эпителия шейки матки проявляется в виде наличия пунктации и мозаики (нежная или грубая, в зависимости от степени тяжести неопластического процесса).

Цитологическое исследование шейки матки

Забор материала для жидкостной цитологии производился с помощью щетки со съемной головкой типа Cervix-brush с обязательным захватом стыка цилиндрического и плоского эпителиев. Материал был получен со всей поверхности шейки матки, в соскоб обязательно включалась зона трансформации (ЗТ) и эпителий цервикального канала. Забор мазков производился не ранее, чем на 5-е сутки менструального цикла и не позднее, чем за 5 суток до предполагаемого начала менструации. Щетку вводили во влагалище под визуальным контролем. Конус щеточки осторожно направляли в цервикальный канал. Далее остальную часть щеточки плотно прижимали к поверхности экзоцервикса и совершали пять полных круговых вращений по часовой стрелке. Затем с щеточки снимали наконечник с собранным клеточным материалом и погружали в специальный контейнер с жидкой транспортной средой. Для дальнейшего исследования контейнер направлялся в лабораторию.

Лабораторные методы обследования

Липидный спектр крови

Все изучаемые показатели липидного спектра крови исследовали в

сыворотке крови. Кровь забирали натощак (при условии отсутствия приема пищи в течение предшествующих 10 – 12 часов) из локтевой вены в позиции супинации с 8 до 10 часов утра после 30 минутного отдыха. Затем, через 30 минут, полученную кровь центрифугировали и сыворотку замораживали при температуре – 30 градусов по Цельсию.

Содержание общего холестерина (ХС), ХС-ЛПВП и ТГ в сыворотке крови определяются на анализаторе Randon Access-A15 (Biosystems, Испания), реагенты Biosystems.

Концентрацию ХС-ЛПНП вычисляли по формуле Friedwald, а коэффициент атерогенности по отношению ХС-ЛПВП к ХС-ЛПНП. Стандартизацию и контроль качества анализа липидов осуществляли в соответствии с требованиями программ стандартизации популяционных липидных исследований в России, международного референтного центра ВОЗ и программы CDC (Атланта, США). Стандартами служили калибровочные и контрольные сыворотки ФСВОК.

Биохимический анализ крови

Биохимические процессы организма оценивались до назначения контрацепции, а затем через 3, 6, 9 на фоне применения ГК. Изучали следующие показатели биохимического анализа крови: АЛТ, АСТ, ГГТ, билирубин прямой и прямой, ЩФ, ЛДГ.

Изучение некоторых параметров системы гемостаза

Состояние системы гемостаза оценивалось по результатам исследований прокоагулянтного и тромбоцитарного ее звена и маркерам внутрисосудистого свертывания крови до назначения контрацепции, а затем через 3, 6 и 9 месяцев на фоне применения ГК.

Забор крови осуществляли из вены предплечья сухой стерильной иглой в пластиковую пробирку. В качестве антикоагулянта использовали 3,8% раствор трехзамещенного цитрата натрия в соотношении с кровью 1:9. Концентрацию фибриногена определяли по Рутбергу Р.А., волчаночный

антикоагулянт (ВА) - по методу Л.З. Прудниковой и Т.В. Сайковской с целью исключения женщин, имеющих ВА-позитивные тесты.

Тромбопластиновое время и протромбиновый индекс (ПИ), характеризующий суммарную активность факторов свертывания крови II, V, VII, X, вычисляли по Квику (соотношение тромбопластинового времени донора к тромбопластиновому времени пациента, умноженного на 100%).

Тромбоэластографию крови выполняли на приборе тромбоэластографе путем графической регистрации процессов образования фибрина и фибринового сгустка с последующей его ретракцией при исследовании образца крови или плазмы с предварительной рекальцификацией раствором хлорида кальция (1,29%). При этом использовали показатель «хронометрической коагуляции», отражающий динамику тромбопластино-, тромбино- и фибринообразования - параметр «r+k» тромбоэластограммы, где «r» - время ретракции от момента добавления раствора хлорида кальция в кювету до образования первых нитей фибрина, что регистрируется отклонением стрелки самописца на 1 мм. За это время происходит активация факторов свертывания крови, образование тромбина и первых нитей фибрина. Величина «k» характеризует время от образования первых нитей фибрина до формирования фибринового сгустка стандартной плотности (отклонение стрелки на 20 мм). Свойства фибринового сгустка оценивали по максимальному отклонению стрелки самопишущего прибора. Для более точной характеристики структурных свойств фибринового сгустка вычисляли «индекс тромбодинамического потенциала» – ИТП по формуле Rabi:

$$ИТП=E/K;$$
$$E=100*Ma/100–Ma$$

где:

К
- время от момента образования первых нитей фибрина до образования фибринового сгустка определенной условной плотности (при отклонении стрелки регистрирующего устройства на 20 мм);

Ма
- максимальная амплитуда, характеризующая свойства

фибринового сгустка

Наличие растворимых комплексов мономеров фибрина (РКМФ) рассматривали как тест степени активности внутрисосудистого свертывания крови. Агрегация тромбоцитов исследовалась на агрегатометре АР 2110 (Беларусь) по методу Born, т.е. по данным фотоэлектрической регистрации динамики изменения светопропускания (оптической плотности) образца плазмы при ее перемешивании со стимуляторами агрегации - растворами аденозиндифосфата (АДФ) с концентрациями 1.10-3М и суспензией коллагена. Предварительная оценка проводилась по характеру кривых: «необратимая агрегация», «обратимая агрегация» (дезагрегация) и «двухфазная агрегация» (рис. 1). Затем вычислялись параметры агрегации:

- Тма (%) – величина максимальной агрегации (характеризует ее интенсивность) - отношение изменения светопропускания образца исследуемой плазмы к интервалу светопропускания от 0% до 100%;

- Тва (%) - величина вторичной агрегации - отношение изменения светопропускания образца плазмы на этапе вторичной агрегации к интервалу от 0% до 100%. «Тва» характеризует интенсивность вторичной агрегации только для двухфазных кривых агрегатограммы;

- Тда (%) - величина дезагрегации - отношение изменений светопропускания образца исследуемой плазмы на этапах обратимой и первичной агрегации к «Тда», характеризует интенсивность дезагрегации только для обратимой агрегации;

- tлп (сек) - время латентного периода коллаген-агрегации от момента добавления стимулятора до начала реакции высвобождения эндогенных стимуляторов. «tлп» характеризует время начала реакции высвобождения эндогенных стимуляторов агрегации и синтеза циклических эндоперекисей простагландинов и тромбоксана А2 в тромбоцитах.

Ультразвуковое исследование органов малого таза и молочных желез

Исследование проводилось с помощью прибора GE VOLUSON E8 EXPERT, год выпуска 2010 (прибор экспертного класса) работающего в реальном масштабе времени. Эхографию проводили с использованием трансабдоминального и внутривлагалищного датчиков с частотой 3,5 и 5 мГц. После измерения 3-х размеров матки и яичников, осуществляли исследование эндометрия (М-эхо). Внимание уделялось величине внутреннего зева, полости матки (длина, толщина, ширина) и структуре эндометрия, состоянию яичников с обеих сторон.

УЗИ молочных желез проводилось до назначения контрацепции и при соответствующих показаниях.

При УЗИ органов брюшной полости оценивалась эхогенность паренхимы печени, селезенки, поджелудочной железы, почек, наличие камней в желчном пузыре, наличие объемной патологии органов брюшной полости.

Молекулярно-генетические методы исследования

Исследование микрофлоры влагалища

Для количественной оценки состава микрофлоры влагалища использовались метод ПЦР ("Фемофлор 16" и определение патогенных микроорганизмов).

Количественная оценка состава вагинальной микробиоты методом ПЦР «Фемофлор 16»

К молекулярно-генетическим методам исследования относилось проведение мультиплексной ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени (наборы ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Россия). Забор

биологического материала осуществлялся путем взятия соскоба клеток из переходной зоны эпителия шейки матки цитощеткой, которую погружали в эппендорф объемом 1,5 мл со стерильным 0,9% раствором натрия хлорида (500мкл) и вращали в нем в течение 10-15 секунд. Затем щетка удалялась, эппендорф закрывался крышкой, маркировался и доставлялся в лабораторию. Далее эппендорф центрифугировали при следующих условиях: скорость центрифугирования – 13000 об/мин, время центрифугирования – 10 мин, температура центрифугирования – комнатная. Следующим этапом удаляли надосадочную жидкость. Осадок (объемом 50-100 мкл) замораживали при температуре -70 °С. Допустимое время обработки и закладки на хранение материалов составляло 30 минут. Данный метод дает возможность проведения количественной и качественной оценки состава 45 микрофлоры влагалища (*Lactobacillus spp., Enterobacteriaceae spp., Streptococcus spp., Staphylococcus spp., Gardnerella vaginalis, Prevotella, Porphyromonas spp., Eubacterium spp., Sneathia spp., Leptotrichia spp., Fusobacterium spp., Megasphaera spp., Veillonella spp., Dialister spp., Lachnobacterium spp., Corynebacterium spp., Mobiluncus spp., Peptostreptococcus spp., Atopobium vaginae, Ureaplasma urealyticum, Ureaplasma parvum, Mycoplasma hominis, Candida spp., Mycoplasma genitalium*).

Критерии формирования лабораторного заключения по результатам исследования методом «Фемофлор»

Критерии оценки состояния биоценоза влагалища были разработаны Е.С. Ворошилиной и соавторами (Ворошилина, Кротова et al. 2008; Ворошилина, Тумбинская et al. 2011).

Лабораторное заключение начинали с анализа показателя КВМ (контроля взятия материала). Этот показатель отражает количество ДНК клеток человека, попавших в пробирку с биологическим материалом. Для получения адекватных результатов исследования величина КВМ должна быть больше 104 ГЭ/образец. Все образцы, полученные в ходе исследования,

были валидны по данному показателю.

Результаты исследования вагинального биоценоза, полученные методом ПЦР-РВ, интерпретировали следующим образом. Заключение «нормоценоз» выставлялся в случае, если доля лактобактерий составляла более 80% от общей бактериальной массы (ОБМ) (Тихомиров and Олейник 2004), доля условно-патогенных аэробных и анаэробных микрооганизмов составляла менее 20% от ОБМ, а абсолютные количества грибов рода кандида и микоплазм не превышали 104 ГЭ/образец (Липова, Болдырева et al. 2009). Как «относительный нормоценоз» рассматривали вариант биоценоза, при котором на фоне высокого содержания лактобактерий (более 80% от ОБМ) были выявлены микоплазмы и/или грибы рода *Candida* в количестве, превышающем 104 ГЭ/образец. При умеренном снижении доли лактобактерий (от 20 до 80% от ОБМ) и увеличении доли аэробов или анаэробов выставляли заключения «умеренный аэробный дисбиоз» или «умеренный анаэробный дисбиоз» соответственно. Снижение доли лактобактерий ниже 20% от ОБМ при резком увеличении доли анаэробов оценивали как «выраженный анаэробный дисбиоз», при увеличении доли аэробов – «выраженный аэробный дисбиоз».

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

Исключение патогенных микроорганизмов

Метод ПЦР также применялся для выявления возбудителей урогенитальных инфекций, таких как: *Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhea, Trichomonas vaginalis, Mycoplasma genitalium*, (качественное определение) и герпесвирусов (ВПГ-1, ВПГ-2, ЦМВ). Использовались коммерческие наборы (ДНК-Технология, Россия).

При выявлении возбудителей ИППП пациенткам назначалось соответствующее лечение, однако данные женщины исключались из исследования согласно критериям исключения.

Для проведения ПЦР использовали детектирующий амплификатор ДТ – 96 (ДНК-Технология, Россия). После прохождения амплификации, по показателю индикаторного цикла программно рассчитывается количество общей бакмассы, лактобактерий и каждого из условно-патогенных микроорганизмов.

Специальные методы исследования

Изучение полиморфизма генов

Для анализа забирали кровь из кубитальной вены обычным способом в пробирки, содержащие ЭДТА в качестве антикоагулянта и замораживали при температуре -70°С до момента исследования.

Выделение ДНК проводили по методу Higuchi (R.Higuchi, H.Erlich, 1989) с некоторыми модификациями. 0,5 мл крови, взятой с ЭДТА в качестве антикоагулянта, смешивали в 1,5 мл микроцентрифужных пробирках типа Эппендорф с 0,5 мл лизирующего раствора, состоящего из 0,32М сахарозы, 10 мМТрис-HCl pH 7,5, 5 мММgCl, 1% Тритона Х-100, центрифугировали в течении 1 мин. при 10000 об/мин, супернатант удаляли, а осадки клеточных ядер два раза отмывали указанным буфером. Последующий протеолиз проводили в 50 мкл буферного раствора, содержащего 50мМ KCl, 10 мМТрис-HCl pH 8,3, 2,5мМ MgCl, 0,45% NP40, 045% Твина 20 и 250 мкг/мл протеиназы К при 37°С в течение 20 мин. Инактивировали протеиназу К при 98°С в течение 20 мин. Полученные образцы ДНК до типирования хранили при -20°С. Концентрация ДНК определенная на ДНК-минифлуориметре (Hoefer, США) составляла в среднем 50-100 мкг/мл.

Определение замен одиночных нуклеотидов проводили модифицированным методом «примыкающих проб» (adjacentprobes, kissingprobes), используя оригинальные олигонуклеотиды.

При идентификации замен одиночных нуклеотидов вначале проводили ПЦР с праймерами, общими для обоих вариантов нуклеотидной последовательности, затем понижали температуру реакционной смеси для гибридизации полученной матрицы с олигонуклеотидными пробами. Для определения варианта последовательности использовали два типа олигонуклеотидов, гибридизующихся на матрицу рядом. Первый тип олигонуклеотидов метили флуорофором, второй – гасителем флуоресценции.

Для предотвращения неспецифического отжига праймеров и повышения чувствительности тест-систем использовали Taq-полимеразу блокированную специфическими антителами.

В ходе генотипирования использовали один общий олигонуклеотид с гасителем флуоресценции и два сиквенс-специфичных олигонуклеотида несущих различные флуорофоры. Олигонуклеотидные пробы, соответствующие тому или иному варианту последовательности метили различнымифлуорофорами, что позволило определять оба варианта в одной пробирке. После поведения ПЦР и гибридизации измеряли уровень флуоресценции в ходе температурной денатурации дуплексов олигонуклеотидов и полученных матриц в режиме реального времени. Определение генотипа проводили путем анализа кривых плавления. Если анализируемый образец содержал только один вариант нуклеотидной последовательности гена, т.е. был гомозиготен по данному полиморфизму, температура плавления для пробы образующей совершенный дуплекс была существенно выше, нежели для пробы образующей несовершенный дуплекс. Если же анализировали гетерозиготный образец, содержащий оба варианта нуклеотидной последовательности, каждый из вариантов проб мог образовать совершенный дуплекс, поэтому температуры их плавления были практически одинаковы.

Полимеразную цепную реакцию и определение температуры плавления олигонуклеотидных проб проводили с помощью детектирующего амплификатора ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

В работе определяли следующие генные полиморфизмы:

CD14: -260 (-159) C>T
IL10: -592 A/C

IL1A: -889 C>T
IL1B: -31 T>C

IL1B: 3953 (3954) C>T
IL1R1: Pst11970 C>T

IL1RN: 11100 msp1 T>C
IL4: -33 C>T
IL4: -590 C>T
IL4R: 1902 A>G (Gln576Arg)
IL6: 174 C>G
IL6R: 1510 (1073) A>C
(Asp358Ala)
IL8: -251 A>T
TGFB: -509 C>T
TLR9: -1486 T>C
TNF: -238 G>A

Статистическая обработка данных

Статистическая обработка данных выполнена на индивидуальном компьютере с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel» и пакета прикладных программ «Statistica for Windows» v. 7.0, StatSoftInc. (США).

Все полученные количественные анамнестические, клинические, лабораторные и инструментальные данные обработаны методом вариационной статистики. Для каждого количественного параметра были определены: среднее значение (M), среднеквадратическое отклонение (δ), ошибка среднего (m), медиана (Me), 95% доверительный интервал, для качественных данных - частота (%).

Для сравнения числовых данных (после проверки количественных

данных на нормальное распределение) использовали метод дисперсионного анализа ANOVA (для нескольких групп) и t-критерий Стъюдента для 2-х независимых выборок. Для сравнения непараметрических данных применяли методы Круаскала-Уоллиса (для нескольких групп), попарное сравнение осуществляли с помощью критерии Манна-Уитни (для 2-х групп) для несвязанных совокупностей.

Анализ количественных данных, изменяющихся в динамике, осуществлялся с помощью t-критерий Стъюдента для 2-х зависимых выборок или непараметрических критериев Вилкоксона и Фридмена.

Для нахождения различий между качественными показателями использовали метод $\chi 2$ с поправкой Йетса на непрерывность, для вычисления которой прибегали к построению «сетки 2х2» и «3х2», а также точный критерий Фишера для небольших выборок.

Статистически значимыми считались отличия при $P<0,05$ (95%-й уровень значимости) и при $P<0,01$ (99%-й уровень значимости).

Связь между изучаемыми показателями оценивалась по результатам корреляционного анализа с вычислением коэффициента корреляции Пирсона (r) или Спирмена (R) и последующим установлением его значимости по критерию t.

Корреляция признавалась низкой (слабой) при коэффициенте корреляции от 0 до 0,3, средней - от 0,3 до 0,7, высокой (сильной) - от 0,7 до 1,0. В зависимости от знака при коэффициенте корреляция признавалась прямой (положительной) и обратной (отрицательной).

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Особенности клинико – лабораторных и анамнестических данных пациенток

По данным анкетирования нами были оценены: репродуктивная и менструальная функция пациенток, экстрагенитальная и гинекологическая патология в анамнезе и в настоящее время, контрацептивный анамнез, наличие побочных эффектов и осложнений на фоне применения тех или иных методов контрацепции.

Подробный анализ анамнестических данных пациенток в 4-х группах показал, что все женщины включенные в исследование, были в репродуктивном возрасте.Средний возраст пациенток статистически значимо не отличался и составил 30,4±5,6 года (Me=30 (26;34). В таблице 2 представлены данные, о распределении пациенток по группам в зависимости от возраста.

Таблица 2 - Возраст обследуемых женщин (n=120)

	1 группа n=30	2 группа n=30	3 группа n=30	4 группа n=30	Все вместе n=120
возраст	30,6±6,4	29,7±4,7	30,1±4,6	31,9±5,6	30,5±5,6
до 35 лет	24(80%)	23(76,7%)	24(80%)	17 (56,7%)	88 (73,3%)
35 лет и старше	6 (20%)	7 (23,3%)	6 (20%)	13 (43,3%)	32 (26,7%)

Статистически значимых различий между группами не выявлено (p>0,05) (критерий ANOVA)

Существенных различий в возрасте пациенток во всех группах выявлено не было (p>0,05). Как видно из таблицы, большинство женщин 88/120 (73,3%) были моложе 35 лет.

Все обследуемые пациентки имели женский тип телосложения, правильно развитые вторичные половые признаки. Антропометрические характеристики (рост, вес, ИМТ) женщин представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Массо-весовые показатели обследуемых женщин (n=120)

	1 группа n=30	2 группа n=30	3 группа n=30	4 группа n=30	Все вместе n=120
Рост, см	166,4±6,1	165,5±4,8	165,9±8,0	165,4±4,9	165,8±5,6
Вес, кг	60,7±9,5	58,5±9,5	58,1±7,2	64,4±10,0	60,3±9,5
ИМТ, кг/см^2	23,7±3,5	22,9±3,9	23,3±2,8	24,47±2,7	23,3±3,4

Статистически значимых различий между группами не выявлено (p>0,05)

Среднее значение ИМТ - 22,3±3,4 кг/м^2 медиана 23,8; Большинство женщин были нормостенического телосложения - 94 (78,3%), 20 (16,7%) - астенического и только 6 (5,0%) пациентки – гиперстенического телосложения (ИМТ более 25 кг/м^2). К началу исследования различий в массе тела у женщин всех групп не было отмечено (p>0,05).

Включенные в исследование пациентки, проживали в одинаковых климатогеографических условиях, преимущественно в городе Москва 94/120 (78,3%), имели среднее или высшее образование. Профессиональных вредностей при сборе анамнеза не отмечали. Вредные привычки: курение 15/120 женщин (12,5 %) (Таблица 4).

Таблица 4 - Данные анкетирования обследуемых женщин (n=120)

	1 группа n=30	2 группа n=30	3 группа n=30	4 группа n=30	Все вместе n=120
Проживание в городе	18/30 (60%)	24/30 (80%)	24/30 (80%)	28/30 (93,3%)	94/120 (78,3 %)
Высшее образование	22/30 (73,3%)	21/30 (70%)	24/30 (80%)	20/30 (66,7%)	87/120 (72,5 %)
Вредные привычки	4/30 (13,3%)	3/30 (10%)	5/30 (16,7%)	3/30 (10%)	15/1420 (12,5 %)
Употребление алкоголя	4/30 (13,3%)	1/30 (3,3%)	6/30 (20%)	3/30 (10%)	14/120 (11,7 %)

Статистически значимых различий между группами не выявлено (p>0,05)

Анамнез

Анализ анамнестических данных показал, что из перенесенных инфекционных заболеваний, пациентки чаще всего отмечали ОРВИ, грипп,

ОРЗ, ангина. Инфекционный индекс составил - 2,5 ± 1,2 балла. У 116/120 (96,7 %) женщин имелись указания на перенесенные детские инфекционные заболевания (корь, краснуха, ветряная оспа, инфекционный паротит). Более подробно структура инфекционных заболеваний в исследуемых группах представлена в таблице 5.

Таблица 5 - Структура перенесенных инфекционных заболеваний в анамнезе у исследованных групп (n=120)

Заболевания	1 группа n=30	2 группа n=30	3 группа n=30	4 группа n=30	Все вместе n=120
ОРВИ	29 (96,7%)	29 (96,7%)	30 (100%)	25 (83,3%)	2 (1,7 %)
Грипп	28 (93,3%)	29 (96,7%)	27 (90%)	26 (86,7%)	2 (1,7 %)
Ангина	22 (73,3%)	27 (90%)	17 (56,7%)	17 (56,7%)	83 (69,2 %)
Гепатит А	2 (6,7%)	1 (3,3%)	1 (3,3%)	1 (3,3%)	5 (4,2 %)
Ветрянная оспа	4 (13,3 %)	6 (20 %)	5 (16,7 %)	3 (10 %)	18 (15 %)
Краснуха	2 (6,7 %)	3 (10 %)	2 (6,7 %)	4 (13,3 %)	11 (9,2 %)
Корь	1 (3,3 %)	2 (6,7 %)	-	1 (3,3 %)	4 (3,3 %)

Достоверных различий по встречаемости инфекционных заболеваний в анамнезе пациенток выявлено не было ($p>0,05$).

Различные заболевания пищеварительной системы отмечали 33/120 (27,5 %) пациенток, дыхательной системы - 35/120 (29,2 %), мочевыделительной системы - 24/120 (20,0%) обследуемых женщин. Вегетососудистая дистония в анамнезе отмечена у 15/120 (12,5 %) женщин. Заболевания щитовидной железы у 15/120 (12,5%) пациенток, мастопатия – у 27/120 (22,5 %). Спектр сопутствующих экстрагенитальных заболеваний представлен в таблице 6.

Таблица 6 - Структура перенесенных экстрагенитальных заболеваний в исследуемых группах (n =120)

	1 группа n=30	2 группа n=30	3 группа n=30	4 группа n=30	Все вместе n=120
Аутоимм.заб-я	1 (3,3%)	3 (10%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (3,3 %)
Заболевания щ.ж.	4 (13,3%)	7 (23,3%)	3 (10%)	1 (3,3%)	15 (12,5 %)
СД	2 (6,7%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (1,7 %)
Ожирение	1 (3,3%)	1 (3,3%)	3 (10%)	3 (10%)	8 (6,7 %)
Мастопатия	5 (16,7%)	5 (16,7%)	7 (23,3%)	10 (33,3%)	27 (22,5 %)
Офтальмологические заболевания	6 (20%)	8 (26,7%)	6 (20%)	7 (23,3%)	27 (22,5 %)
Аллергическик реакции	8 (26,7%)	10 (33,3%)	10 (33,3%)	10 (33,3%)	38 (31,7 %)

Заболевания пищеварительной системы	10 (33,3%)	8 (26,7%)	6 (20%)	9 (30%)	33 (27,5 %)
Заболевания мочевыводящей системы	7 (23,3%)	7 (23,3%)	5 (16,7%)	5 (16,7%)	24 (20 %)
ВСД	5 (16,7%)	5 (16,7%)	4 (13,3%)	1 (3,3%)	15 (12,5 %)
Заболевания дыхательных путей	8 (26,7 %)	7 (23,3 %)	8 (26,7 %)	12 (40 %)	35 (29,2 %)

Статистически значимых различий между группами не выявлено (p>0,05).

Оперативные вмешательства ранее были произведены 22/120 (18,3 %) женщинам: 14/120 (11,7 %) - аппендэктомия, 11/120 (8,5%) – тонзиллэктомия. По числу оперативных вмешательств исследуемые группы были сопоставимы (p>0,05).

Гинекологический анамнез

Особое внимание в нашем исследовании уделялось анализу репродуктивного поведения женщин. Учитывались сведения о возрасте менархе, начале половой жизни, о количестве половых партнеров, числе беременностей и их исходах и т.д.

Средний возраст менархе составил 13,1±1,3 лет (95% ДИ: 12,8 – 13,6; медиана 13(9 -17). Позднее наступление менархе (в 16 и более лет) отмечалось у 7 (5,8%) женщин. У всех (100%) пациенток был регулярный менструальный цикл. В 1 группе средний возраст менархе составил 12,9 ± 1,0 лет, во 2 группе – 13,1 ± 1,3 лет, в 3 группе – 12,8 ± 1,1 лет, в 4 группе - 13,2 ± 0,9 лет. Средняя продолжительность менструации составила в 1 группе 5,2 ± 0,8 дня, во 2 группе -5,4 ± 1,1 дня, в 3 группе – 5,3 ± 0,9 дня, в 4 группе – 5,4 ± 0,5 дня. Средняя длина менструального цикла составила 29,2 ± 2,4 дней в 1 группе, 28,4 ± 1,8 дней во 2 группе, 28,7 ± 2,1 дней в 3 группе, 27,7 ± 3,5 дней в 4 группе.

Менструации были умеренными у большинства женщин 84/120 (70,0). Длительность менструации в течение 3-4 дней отметили 60/120 (50,0%) пациенток, в течение 5-7 дней – 51/120 (42,5%) женщин. Длительность

менструального цикла в среднем составила 27,4 дня. (95% ДИ: 26,9 – 27,8; медиана 28 (20 -35). Нарушение длительности менструального цикла отмечалось у 27/120 (22,5 %) женщин (таблица 7).

Таблица 7 - Характеристика менструальной функции пациенток в исследуемых группах (n=120)

	1 группа n=30	2 группа n=30	3 группа n=30	4 группа n=30	Все вместе n=120
Возраст менархе	13,1±1,5	13,2±1,1	13,2±1,1	12,8±1,3	13,1±1,6
Длительность выделений	4,6±1,3	4,5±1	4,7±1,5	4,8±1,1	4,6±1,2
Длительность цикла	27,1±2,9	27,6±2,4	27,5±2,9	27,3±2,3	27,4±2,4
Цикл регулярный	25 (83,3%)	25 (83,3%)	26 (86,7%)	24 (80%)	100 (83,3 %)
Межменстр. кров. выделения	5 (16,7%)	5 (16,7%)	4 (13,3%)	6 (20%)	20 (16,7 %)
Дисменорея	14 (46,7%)	13 (43,3%)	16 (53,3%)	15 (50%)	58 (48,3 %)

Статистически значимых различий между группами не выявлено (p>0,05).

Представленные данные свидетельствуют о том, что большинство женщин были замужем - 74/120 (61,7 %). Обращает на себя внимание тот факт, что большинство незамужних женщин имели постоянного полового партнера. Каждая 3-я незамужняя пациентка имела случайные половые связи, большинство женщин имели один брак, два и более – 12/120 (10 %) пациенток.

Таблица 8 - Характеристика половой жизни (n=120)

Показатель	1 группа n=30	2 группа n=30	3 группа n=30	4 группа n=30	Все вместе n=120
Начало половой жизни	19,0±5,0	18,1±2,1	17,6±4,2	19,3±4,4	18,8±4
Ко-во половых партнеров	2,5±2,8	2,2±1,4	3,6±4,2	1,6±1	2,5±2,8
Наличие постоянных половых партнеров в настоящее время	25 (83,3%)	26 (86,7%)	28 (93,3%)	25 (83,3%)	104(86,7%)

Статистически значимых различий между группами не выявлено (p>0,05)

Репродуктивный анамнез

При изучении акушерского анамнеза были получены следующие результаты: общие число беременностей в 1 группе составило 16 (53,3%), во 2 группе – 14 (46,7%), в 3 группе – 13(43,3 %), в 4 группе – 22 (73,3%) (таблица 9).

Количество самопроизвольных родов в 1 группе -12 (40%), 2 группе -9 (30%), 3 группе -8(26,7%), 4 группе- 17(56,7%). Общее количество операций кесарево сечение суммарно во всех группах составило13: 1 группе-1(3,3%) , 2 группе – 2(6,7%), 3группе- 3(10%) , 4 группе -7(23,3%). Число искусственных абортов составило 2(6,7%) в 1 группе, во 2 группе -0(0%), в 3группе -2(6,7%), 9(30%) в 4 группе. 2(1,7%) беременностей из общего числа завершились самопроизвольными выкидышами.

При анализе акушерского анамнеза статистически значимых различий в группах не было обнаружено (p>0,05)

Таблица – 9 Особенности акушерского анамнеза в исследуемых группах(n=120)

	1 группа n=30	2 группа n=30	3 группа n=30	4 группа n=30	Все вместе n=120
Наличие беременности в анамнезе	16 (53,3%)	14 (46,7%)	13 (43,3%)	22 (73,3%)	70 (53,8%)
Физиологические роды	12 (40%)	9 (30%)	8 (26,7 %)	17 (56,7%)	46 (38,3 %)
КС	1 (3,3%)	2 (6,7%)	3 (10%)	7 (23,3%)	13 (10,8 %)
Медикаментозные аборты	2 (6,7%)	0 (0%)	2 (6,7%)	9 (30%)	13 (10,8 %)
вакуум-аспирация	4 (13,3%)	7 (23,3%)	2 (6,7%)	4 (13,3%)	17 (14,2 %)
Самопроизвольныевыкидыши	2 (6,7%)	0 (0%)	2 (6,7%)	3 (10%)	7 (5,8 %)
Неразвивающиеся беременности.	1 (3,3%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3,3%)	2 (1,7 %)

Структура перенесенных гинекологических заболеваний выглядела следующим образом (Таблица 10): вульвовагинальный кандидоз – 59/120 (49,2%), ИППП (уреаплазменная и микоплазменная инфекции, хламидиоз,

генитальный герпес) – 52/120 (43,3%), бактериальный вагиноз – 26/120 (21,7%), эндометриоз – 18/120 (15%), кисты яичников (функциональные кисты,) – 18/120 (15%), ВЗОМТ (хронический эндометрит, хронический сальпингоофорит) – 16/4120 (13,3%), миома матки – 12/120 (10%), СПКЯ – 8%. 30% пациенток перенесли такие оперативные вмешательства на органах малого таза, как тубэктомии, миомэктомии без вскрытия полости матки.

Таблица 10 - Структура перенесенных гинекологических заболеваний в исследуемых группах (n=120)

Заболевание	1 группа (n=30) M ± δ*	2 группа (n=30) M ± δ*	3 группа (n=30) M ± δ*	4 группа (n=20) M ± δ*	p-уровень**
Вульвовагинальный кандидоз	15 (50%)	17 (56,7%)	13 (43,3%)	14 (46,7%)	>0,05
Бактериальный вагиноз	5 (16,7%)	7 (23,3%)	5 (16,7%)	9 (30%)	>0,05
Уреаплазменная инфекция	9 (30%)	10 (33,3%)	13 (43,3%)	9 (30%)	>0,05
Микоплазменная инфекция	5 (16,7%)	3 (10%)	4 (13,3%)	1 (3,3%)	>0,05
Хламидийная инфекция	3 (10%)	3 (10%)	3 (10%)	3 (10%)	>0,05
ВПЧ-инфекция	8 (26,7%)	6 (20%)	9 (30%)	5 (16,7%)	>0,05
Генитальный герпес	3 (10%)	4 (13,3%)	1 (3,3%)	2 (6,7%)	>0,05
Хронический сальпингоофорит, хронический эндометрит	4 (13,3%)	6 (20%)	3 (10%)	3 (10%)	>0,05
СПКЯ	1 (3,3%)	2 (6,7%)	2 (6,7%)	2 (6,7%)	>0,05
Кисты яичников	3 (10,0%)	4 (13,3%)	6 (20,0%)	5 (16,7%)	>0,05
Эндометриоз	5 (16,7%)	4 (13,3%)	6 (20%)	3 (10%)	>0,05
Миома матки	2 (6,7%)	2 (6,7%)	3 (10%)	5 (16,7%)	>0,05

Статистически значимых различий между группами не выявлено (p>0,05)

При изучении перенесенных гинекологических заболеваний и оперативных вмешательств на органах малого таза не было выявлено статистически значимых различий среди исследуемых групп (p>0,05).

Таким образом, большинство пациенток, обратившихся на гинекологический прием, были фертильного возраста, считали себя здоровыми и ставили основной задачей подбор эффективной контрацепции.

При анализе данных о частоте раннее использованных методов контрацепции было выявлено, что большинство женщин отдавали предпочтение использованию гормональных методов контрацепции: КОК ранее использовали -125/300 (41,6%), влагалищное кольцо - 21/300 (7,0%), трансдермальный пластырь - 7 (2,3%), ВМК - 68/300 (22,6%) женщин. Средне эффективные методы контрацепции (презервативы, спермициды) использовали - 178/300 (59,3%) пациенток.

Всем женщинам было проведено комплексное клинико-лабораторное обследование. Метаболическое влияние на организм женщины оценивалось по анализу данных липидного спектра крови, углеводного обмена и параметров системы гемостаза.

У большинства женщин 259/300 (86,3%) средние значения параметров биохимического анализа крови, липидного спектра крови, гемостаза перед выбором контрацепции соответствовали референсным значениям, только у 8/300 (2,7%) были выявлены противопоказания к назначению КОК. Нами не было выявлено межгрупповых различий в исследуемой выборке по основным показателям (вес, рост, возраст и данные анамнеза) ($p>0,05$). За весь период наблюдения не было зарегистрировано наступивших беременностей, что соответствует данным литературы.

3.2. Состояние микробиоценоза влагалища у пациенток до начала применения гормональной контрацепции

Поскольку главным представителем постоянной микрофлоры влагалища являются лактобациллы, именно их количество определяет состояние нормоценоза.

Состояние микробиоценоза влагалища у всех 120 пациенток исследовали методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с помощью тест-системы «Фемофлор» (ООО «НПО ДНК-технология», Москва). В зависимости от количества лактобацилл и условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) выделили четыре группы вагинального микробиоценоза – абсолютный нормоценоз, условный нормоценоз, умеренный дисбиоз и выраженный дисбиоз [28]. Микробиоценоз влагалища на основании полученных данных оценивали, как абсолютный нормоценоз в случаях, когда лактобациллы составляли более 80% от общей бактериальной массы (ОбМ) а количество микроорганизмов-ассоциантов (Mycoplasma spp., Ureaplasma spp., Candida spp.) при этом составляло менее 104 геном-эквивалентов в 1 мл — гЭ/мл (далее все количества микроорганизмов указаны в этих единицах), если же количество ассоциантов превышало указанный порог, то такой вариант микробиоценоза расценивали как условный нормоценоз.

В случаях, когда доля лактобацилл составляла 20–80% от ОбМ, микробиоценоз расценивали как умеренный дисбиоз. Если доля лактобацилл не превышала 20% от ОбМ, микробиоценоз расценивали как выраженный дисбиоз. Кроме определения варианта микробиоценоза, оценивали и количества отдельных групп условно-патогенных микроорганизмов (УПМ): *Enterobacteriaceae, Streptococcus spp., Staphylococcus spp., Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.* (группа GPP), *Eubacterium spp., Sneathia spp./Leptotrichia spp./ Fusobacterium spp.* (группа SLF), *Megasphaera spp./Veillonella spp./ Dialister spp.* (группа MVD), *Lachnobacterium spp./Clostridium spp.* (группа LC), *Mobiluncus spp./Corynebacterium spp.* (группа MC), *Peptostreptococcus spp., Atopobium vaginae.* Для оценки видового состава лактофлоры проводили определение количества *Lactobacillus spp.* и генотипирование шести видов лактобацилл (*L. crispatus, L. iners, L. jensenii, L. gasseri, L. johnsonii, L. vaginalis*) методом ПЦР-РВ с использованием реагентов для научного применения (ООО «НПО ДНК-

Технология», Москва). Для анализа были отобраны только те пробы, в которых сумма всех выделенных видов лактобацилл была сопоставима с общим количеством *Lactobacillus spp.* и составляла не менее 70%. В качестве средних величин при оценке количеств отдельных групп УПМ использовали медианы.

Таким образом, в случаях, когда популяция лактобацилл представлена несколькими видами, один вид имеет весомое количественное преимущество над другими в данный момент времени. Что не исключает смены доминирующего вида при изменении среды. Ранее ряд исследователей продемонстрировали, что качественный и количественный состав вагинальной микрофлоры может кардинально изменяться в течение короткого промежутка времени [8, 9, 10].

Чтобы определить влияние гормональной контрацепции на состояние микрофлоры влагалища, нами изучено состояние 120 практически здоровых женщин молодого репродуктивного возраста.

Дисбиоз вагинальной микрофлоры был мало характерен для клинически здоровых женщин: только у 7/120 (3%) женщин состояние микробиоценоза влагалища соответствовало критериям выраженного дисбиоза и у 21/120 (9,1%) - умеренного дисбиоза. С другой стороны, полученные данные свидетельствуют о том, что каждая 10-я клинически здоровая женщин имела патологический вариант микробиоценоза влагалища, что позволяет отнести ее в группу риска по развитию воспалительных осложнений на фоне применения ГК. Возникает закономерный вопрос о правильности отнесения этих женщин в группу нормы изначально. Следует предполагать, что отсутствие клинических проявлений дисбиоза влагалища было обусловлено пониженной индивидуальной реактивностью у пациенток. Настораживает тот факт, что не было выявлено микроскопических маркеров дисбиоза у этих пациенток. Для того, чтобы разобраться в причинах этого явления, изучили структуру дисбиозов у женщин данных групп.

Оказалось, что если в структуре умеренных дисбиозов доминируют анаэробные дисбиозы (81,0% всех случаев), то при выраженных дисбиозах увеличивается роль факультативных анаэробов (42,9% всех случаев). При этом у всех пациенток с дисбиозом в качестве доминирующих в составе микробиоценоза облигатных анаэробов чаще всего выявляли Gardnerella spp. и Eubacterium spp., среди факультативных анаэробов — Enterobacteriaceae spp.

Количественный состав влагалищного биоценоза обследованных женщин на момент обращения для подбора контрацепции представлен в таблице 11.

Таблица 11 - Количественный состав биоценоза влагалища на момент начала исследования (n=120)

	1 группа n=30	2 группа n=30	3 группа n=30	4 группа n=30
Общая бактериальная масса	6,94 (6,26;7,47)	6,88 (6,35;7,21)	7,25 (6,56;7,85)	7,38 (6,5;8,09)
Лактобактерии	7,06 (6,21;7,47)	6,94 (5,88;7,38)	7,22 (6,09;7,68)	7,35 (6,26;7,85)
Eubacterium spp.	3,94 (3,09;5,47)	4,88 (3,5;5,12)	3,85 (3,38;5,21)	3,62 (2,79;4,65)
Gardnerella vaginalis	3,38 (2,76;5,35)	3,79 (1,91;5,76)	3,22 (2,41;4,06)	3,29 (2,65;4,71)
Prevotella bivia/Porphyromonas spp.	2,79 (2,65;3,56)	3,35 (2,47;4,26)	2,94 (2,71;3,94)	2,97 (2,71;4,53)
Peptostreptococcus spp.	2,74 (2,18;3,15)	2,85 (2,26;3,41)	2,94 (2,56;3,35)	2,56 (1,82;3,5)
Enterobacteriaceae	2,47 (2,15;2,82)	2,29 (2,06;3,24)	2,46 (2,18;3,47)	2,46 (2,26;3,09)
Atopobium vaginae	2,35 (1,79;2,68)	1,79 (0;2,47)	2,21 (0;2,74)	2,26 (0;2,94)
Streptococcus spp.	2,35 (2;3,24)	3,76 (2,32;4,91)	2,78 (2,09;3,59)	2,54 (2,24;3,44)
Mobiluncus spp. /Corynebacterium spp.	2,24 (1,32;3)	2,88 (1,91;3,94)	2,91 (1,94;3,68)	2,75 (2;3,53)

Lachnobacterium spp. /Clostridium spp.	2,15 (1,12;3,09)	2,35 (1,32;3,38)	2,38 (1,85;3,41)	2,28 (0,65;3,03)
Megasphaera spp. /Veilonella spp. /Dialister spp.	2,15 (1,85;3,21)	2,5 (0;4,12)	2,37 (1,71;3,18)	2,51 (1,97;4,24)
Sneathia spp. /Leptotrihia spp. /Fusobacterium spp.	2,15 (0;2,53)	1,97 (0;2,59)	1,87 (0;2,53)	2,01 (0;2,53)
Staphylococcus spp.	2,12 (1,68;2,62)	2,21 (1,53;3,21)	2,63 (1,62;3,44)	2,37 (1,74;3,41)
Enterococcus spp.	0 (0;1,53)	0 (0;1,74)	0,43 (0;2,18)	0 (0;1,71)
Candida spp.	2,41 (2,21;2,71)	2,26 (1,79;2,41)	2,31 (1,94;2,76)	2,32 (2,15;2,56)

Статистически значимых различий по абсолютному количеству микроорганизмов между группами выявлено не было.

На момент начала исследования состояние влагалищной микрофлоры у большей части пациенток 80/120 (66,2%) было классифицировано как нормоценоз. Статистически значимых различий по частоте встречаемости дисбиоза на момент назначения контрацепции между группами выявлено не было.

Таблица 12 - Частота встречаемости дисбиоза на фоне применения контрацепции (n=120)

Состояние биоценоза влагалища	1 группа (n=30)		2 группа (n=30)		3 группа (n=30)		4 группа (n=30)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Дисбиоз	10	34,5%	9	33,3%	10	33,3%	11	36,7%
Нормоценоз	19	65,5%	18	66,7%	20	66,7%	19	63,3%

Результаты исследования показали, что во влагалище практически здоровых женщин содержится различное количество клеток лактобацилл - ведущего индикатора благополучия, следовательно, женщины могут по-разному отвечать на применение различных методов контрацепции.

С учетом этого, нами выделена подгруппа женщин предъявляющих жалобы на выделения, дискомфорт, запах на фоне применения контрацепции. В связи с этим через 1 месяц после начала применения контрацепции 14/120 (11,7%) пациенткам была назначена противовоспалительная терапия. При этом, в группе использующих барьерные или естественные методы контрацепции лечение было назначено 11/30 (36,7%) пациенток, в то время, как среди пациенток, использовавших КОК, необходимость в лечении возникла только у 3/30 (10,0%) (OR=0.19 (0.05- 0.78), p=0,03). Среди пациенток, использовавших ВКК и ВМС, ни одна не нуждалась в проведении лечения противовоспалительными препаратами (OR=0.06 (0,01-0.93), p=0.008). Все пациентки, получавшие противовоспалительную терапию, были выделены в отдельную подгруппу для дальнейшего анализа.

При ретроспективном анализе установлено, что 2/3 пациенток, которые в дальнейшем нуждались в лечении, до назначения контрацепции имели дисбиоз влагалища 7/11 (63,6%) в группе барьерной контрацепции и 2/3 (66,7%) в группе КОК), тогда как доля дисбиоза влагалища среди пациенток, не нуждавшихся в применении местной противовоспалительной терапии составила 3/30 (10%,), 6/30 (20,0%), 10/30 (33,3%), 11/30 (36,7%) соответственно по группам. Таким образом, вероятность применения противовоспалительной на фоне контрацепции повышалась более, чем в 3 раза при исходном дисбиозе влагалища (таблица 13). Полученные данные позволили считать дисбиотическое состояние микрофлоры влагалища при назначении контрацепции существенным фактором риска развития воспалительных заболеваний.

Таблица 13 - Вероятность применения противовоспалительной терапии на фоне контрацепции в зависимости от исходного состояния биоценоза влагалища

Группа	Необходимость лечения	Исходное состояние биоценоза влагалища			
		Дисбиоз		Нормоценоз	
		N	Доля	N	Доля
1 группа	без лечения	3	30,0%	16	80,0%
	Леченые	7	70,0%	4	20,0%
2 группа	без лечения	7	77,8%	20	95,2%
	Леченые	2	22,2%	1	4,8%
3 группа	без лечения	10	100%	20	100%
	Леченые	0	0%	0	0%
4 группа	без лечения	11	100%	19	100%
	Леченые	0	0%	0	0%

Был 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 проблем. Тем не менее, были обнаружены некоторые различия (рисунок 2).

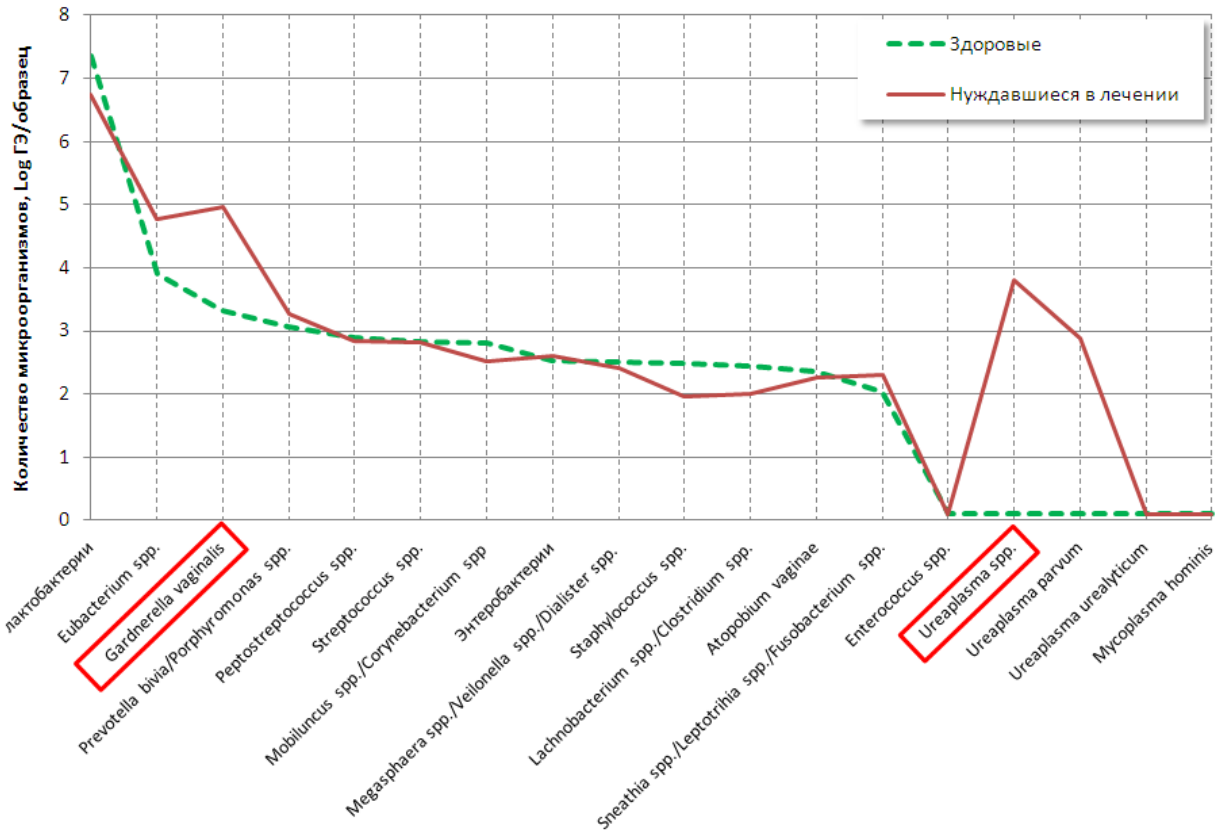


Рисунок 2 - Медиана абсолютного количества микроорганизмов, выявленных на первом визите у пациенток, потребовавших и не потребовавших лечения в дальнейшем. Выделены микроорганизмы, статистически значимо различавшиеся между группами (p<0,05 по критерию Манна-Уитни для несвязанных совокупностей)

Исходно абсолютное количество *G.vaginalis* у пациенток, впоследствии использовавших противоспалительную терапию, 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). 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 уреаплазмы 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).

Необходимо отметить, что уреаплазма не является прямым антагонистом лактобактерий и может существовать как при дисбиозе, так и

на фоне сохранной нормофлоры (т.н. условный нормоценоз). В связи с этим, был проведен сравнительный анализ состояния биоценоза у пациенток с наличием *U.parvum* во влагалище. Среди пациенток, не требовавщих лечения, в ¾ случаев при наличии *U.parvum* наблюдали преобладание нормофлоры, т.е. условный нормоценоз и только в 26% случаев *U.parvum* выявлялась при дисбиозе. При этом не выявлено статистически значимых различий в частоте встречаемости нормоценоза при наличии и отсутствии *U.parvum* в этой группе. Для пациенток, в дальнейшем нуждавшихся в лечении, наблюдалось обратное соотношение: 75% женщин с *U.parvum* во влагалище имели дисбиоз различной степени выраженности, тогда как условный нормоценоз, обусловленный *U.parvum* выявлялся только у 25% пациенток, нуждавшихся в лечении. 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 применения противовоспалительных препаратов в зависимости от типа используемой контрацепции. Учитывая наибольшую частоту необходимости лечения в группе использующих барьерные или естественные методы контрацепции, было высказано предположение о благоприятном воздействии гормональной контрацепции на влагалищную микрофлору, а выраженность эффекта зависела от метода контрацепции. Наименьшим положительным эффектом обладали КОК. Косвенное подтверждение этой гипотезы было получено при динамическом наблюдении за пациентками, не использовавших противовоспалительные препараты на протяжении всего периода наблюдения.

Результаты динамического наблюдения

В ходе динамического наблюдения частота выявления дисбиоза на фоне применения кольца и ВМС существенно не менялась, хотя и имела незначительную тенденцию к снижению.

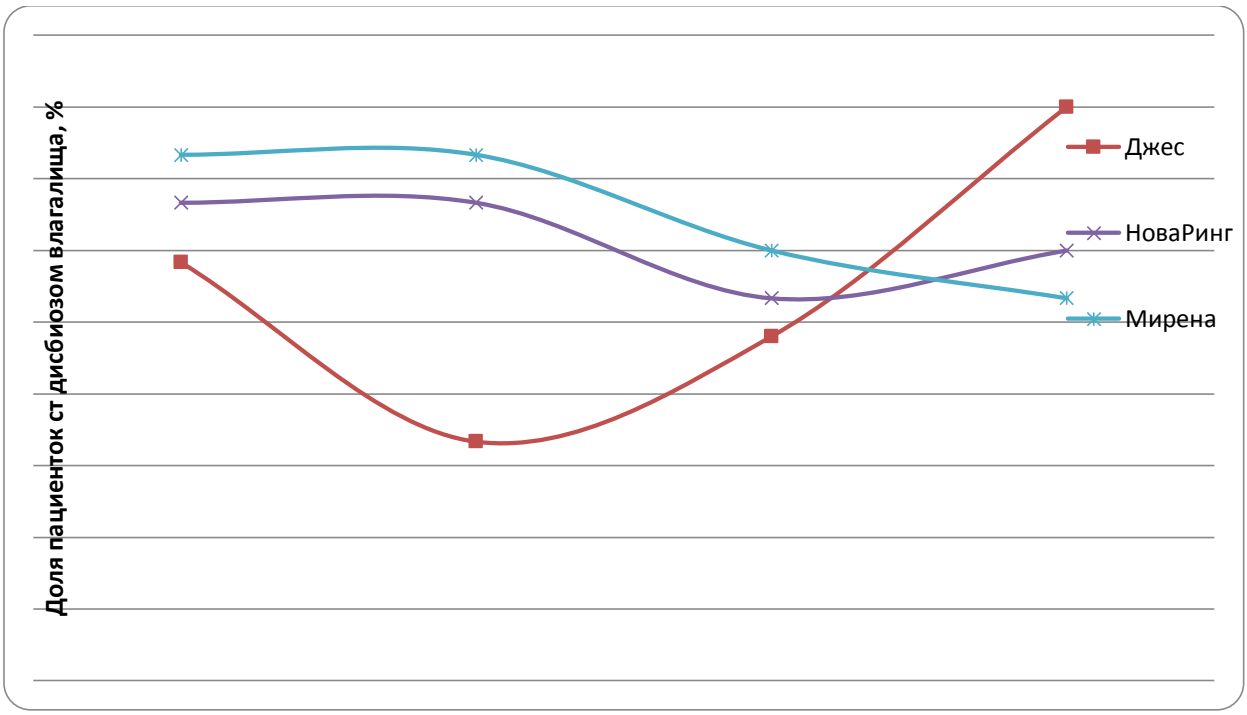


Рисунок 3 - Частота выявления дисбиоза влагалища среди пациенток, не требовавших лечения в зависимоти от метода контрацепции.

Интересным представлялся вопрос видового разнообразия выявленного дисбиоза. Поскольку абсолютное количество дисбиозов было небольшим, использовали качественный анализ величины D: дисбиозы с величиной D от 1 до 3 классифицировали как биоценозы с низким видовым разнообразием, а при величине D 4 и более – как биоценозы с высоким видовым разнообразием.

Таблица 14 - Видовое разнообразие дисбиозов

величина D видовое разнообразие	исходно		Через 3 мес. контрацепции		Через 6 мес. контрацепции		Через 9 мес. контрацепции	
	N=30	%	N=30	%	N=30	%	N=30	%
1 группа								
1-3	19	63,3%	18	60%	12	40%	7	23,3%
4 и более	11	36,7%	12	40%	18	60%	23	79,7%
2 группа								
1-3	23	76,7%	24	80%	23	76,7%	23	76,7%
4 и более	7	23,3%	6	20%	7	23,3%	7	23,3%
3 группа								
1-3	15	50%	15	50%	15	50%	15	50%
4 и более	15	50%	15	50%	15	50%	15	50%
4 гуппа								
1-3	22	73.3%	23	76.7%	23	76.7%	22	73.3%
4 и более	8	26.7%	7	23.3%	7	23.3%	8	26.7%

Среди пациенток контрольной группы, не использовавших противовоспалительную терапию, исходно все выявленные дисбиозы характеризовались низким видовым разнообразием. В процессе динамического наблюдения за этой группой пациенток наблюдался выраженный рост видового разнообразия дисбиозов и к 9 месяцу наблюдения доля дисбиозов с высоким видовым разнообразием составляла 22/30 (73.3%) $p>0.001$. На фоне приема во 2 группе существенных изменений видового разнообразия дисбиозов выявлено не было. Доля биоценозов с высоким видовым разнообразием среди дисбиозов в этой группе не превышала ¼.

Среди пациенток, использовавших ВКК и ВМС при достаточно высоком видовом разнообразии дисбиозов (15/30 (50%) и 8/30 (26.7%) исходно соответственно) существенной динамики в ходе наблюдения не зафиксировано.

Таким образом, проведённое при помощи молекулярно - генетических методов исследование не противоречит существующим представлениям о

структуре вагинальных микробиоценозов, значительным образом дополняя наши представления о качественном и количественном составе микробиоты. Высокая чувствительность метода позволяет идентифицировать даже незначительные количества микроорганизмов, формирующих микробиоценоз.

Данные, полученные в ходе настоящего исследования, позволяют утверждать, что определяющей характеристикой нормального микробиоценоза является количественное взаимоотношение между нормальной флорой (лакто- бациллами) и условно-патогеными микроорганизмами, которое определяется доминированием лактофлоры. При этом наиболее стабильные варианты нормоценоза формируются в тех случаях, когда лактофлора представлена преимущественно *Lactobacillus crispatus*, видом, обладающим наибольшими протективными свойствами.

У клинически здоровых женщин всех групп показана незначительная представленность факультативно-анаэробных микроорганизмов (таких как стафилококки и стрептококки) по сравнению с облигатно-анаэробными микроорганизмами в микробиоценозе влагалища. Применение ПЦР-РВ для выявления *Atopobium vaginae* показало, что данный микроорганизм, в отличие от *Gardnerella vaginalis*, чрезвычайно редко является компонентом нормального микробиоценоза.

В то же время у каждой пятой клинически здоровой женщины репродуктивного возраста выявляли *Ureaplasma spp.* в количестве более 10^4 ГЭ/мл. У 10% женщин репродуктивного возраста без клинических признаков дисбиотических процессов во влагалище были выявлены дрожжеподобные грибы в количествах более 10^4 ГЭ/мл. Учитывая отсутствие каких-либо клинических признаков воспаления или дискомфорта данное состояние можно рассматривать как вариант нормального микробиоценоза. Вопросы стабильности во времени и устойчивости к внешним воздействиям такого микробиоценоза требуют дополнительного исследования.

Вагинальные лактобациллы обладают выраженным защитным потенциалом по отношению как к УПМ, так и облигатным патогенам. Полученные в ходе настоящего исследования данные свидетельствуют о том, что вагинальный микробиоценоз представляет собой устойчивую систему, на которую различные эндогенные и экзогенные факторы (в том числе ГК) оказывают незначительное влияние.

Состояние вагинального микробиоценоза на фоне применения барьерных (презерватив) или естественных (прерванный половой акт, ритмический метод) методов контрацепции.

На фоне использования барьерных методов контрацепции бактериальная обсемененность влагалища была достаточно высокой и практически не менялась в процессе наблюдения. Также не наблюдалось каких-либо изменений в структуре биоценоза влагалища за весь период наблюдения. Медиана общей бактериальной массы составляла 7,16 (6,22-7,65) ГЭ/образец. Основным представителем микробиоценоза влагалища были латобактерии, которые составляли 99,0 (53,9-99,9)%. Следующими по представленности были эубактерии, доля которых составляла 0,1 (0-1,2)%. Все остальные группы микроорганизмов выявлялись в незначительных количествах (Рисунок 4).

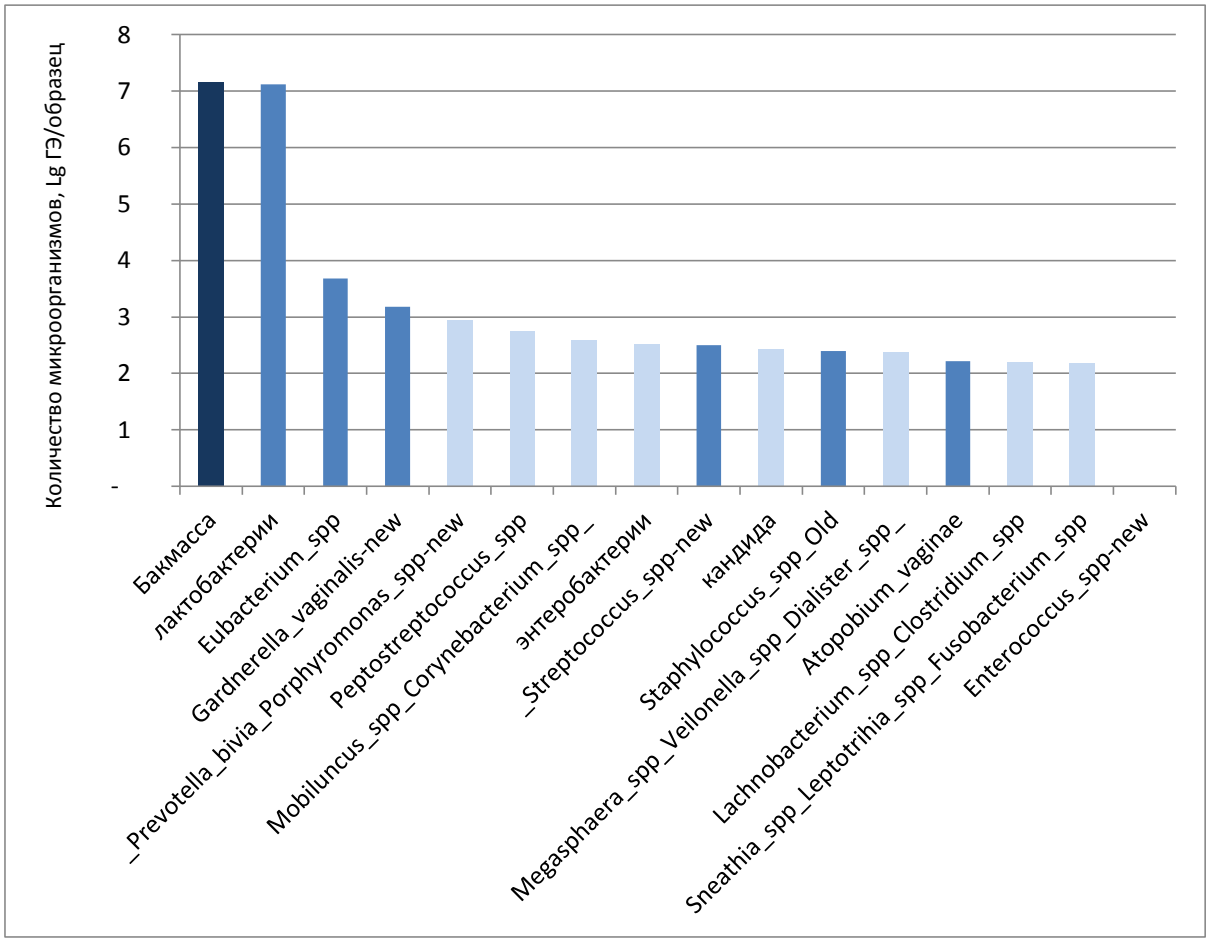


Рисунок 4 - Состояние вагинального микробиоценоза

Светлым отмечены группы микроорганизмов, количество которых было меньше, чем линейный диапазон соответствующей тест-системы.

В 65,5% случаев состояние биоценоза влагалища у пациенток данной группы было классифицировано как нормоценоз.

Грибы рода *Candida* в диагностически значимом количестве были выявлены в 4 случаях за весь период наблюдения (3,4%). *Micoplasma hominis* в диагностически значимом количестве была выявлена в 7 случаях (6,0%). Уреаплазмы в диагностически значимом количестве выявлялись в 9 (7,8%) наблюдений. Во всех случаях это была *U.parvum*.

Был проведен анализ видового состава нормофлоры у данной группы пациенток в зависимости от состояния биоценоза. Основными представителями лактобактреий были *L. crispatus*, *L. iners* и *L.gasseri*. Обращало на себя внимание, что при нормоценозе основным представителем

нормофлоры были *L. crispatus*, тогда как при дисбиозе преобладали *L. iners* (рисунок 5).

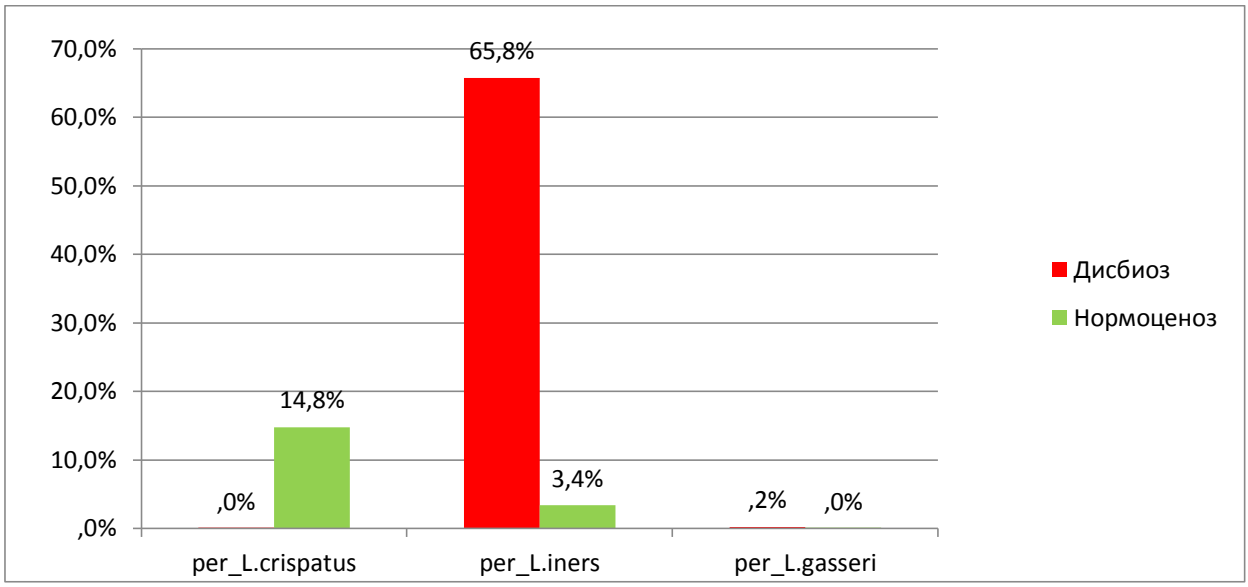


Рисунок 5 - Видовой состав нормофлоры с доминирование отдельных видов лактобацилл

При этом, несмотря на то, что *L. gasseri* выявлялись достаточно редко (медиана доли этого вида не превышала 1%), при дисбиозе в ряде наблюдений этот вид мог составлять всю нормофлору.

Медиана суммарной доли *L.iners* и *L. gasseri* при дисбиозе составляла 99,2 (71,7-100%), тогда как при нормоценозе – 25,9 (0,2-94,6) ($p=3*10^{-5}$).

Таким образом, у большинства пациенток, использующих барьерные или естественные методы контрацепции, во влагалище преобладали лактобактерии. В структуре нормофлоры основными представителями были *L. crispatus, L. iners и L.gasseri*, при этом выявлены статистически значимые различия в структуре нормофлоры у пациенток с нормоценозом и дисбиозом. При нормоценозе в основном встречались *L. crispatus*, тогда как при дисбиозе преобладали *L. iners и L.gasseri***.**

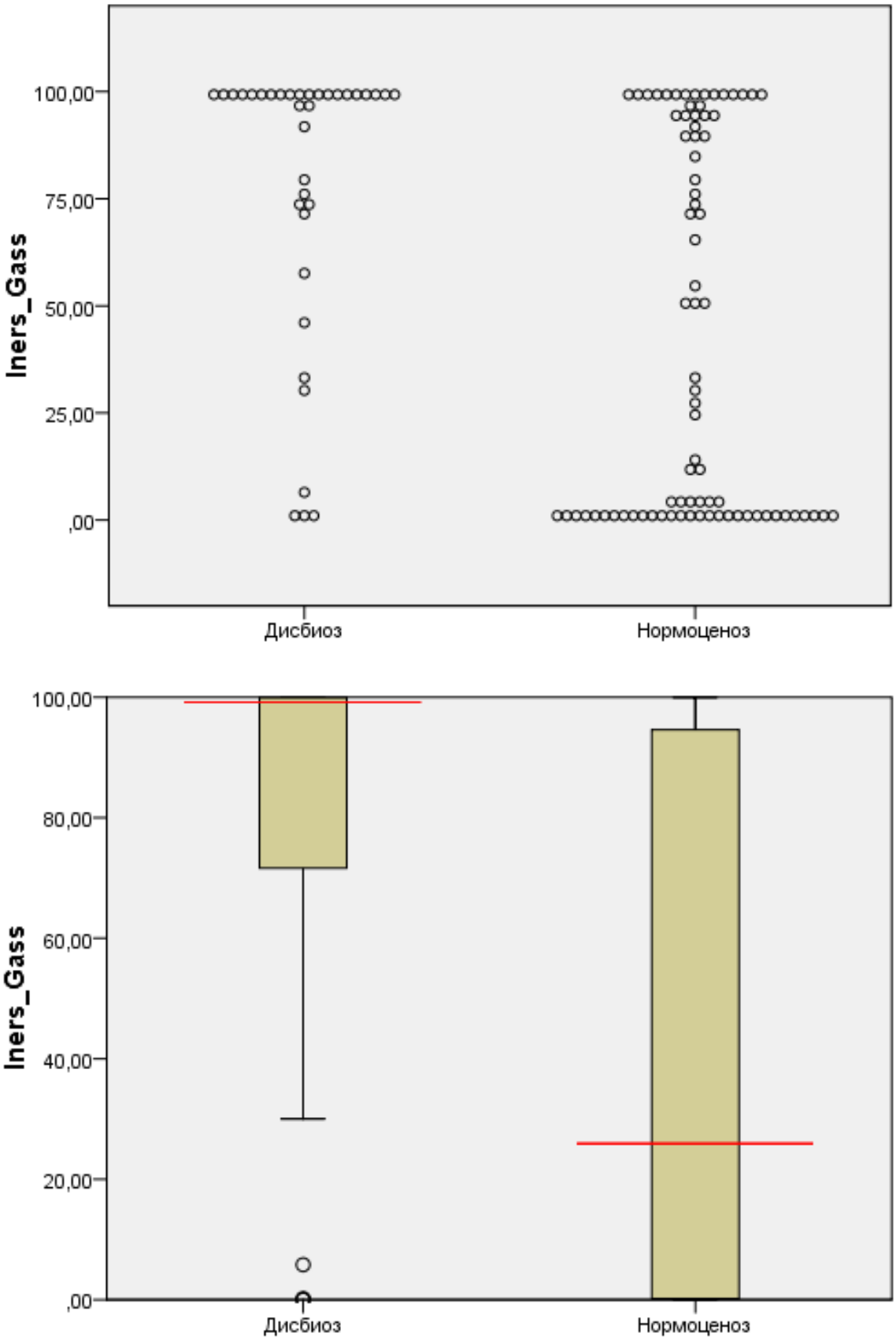


Рисунок 6 – Видовой состав лактобактерий

Состояние вагинального микробиоценоза на фоне применения влагалищного кольца

Оценка микробиоценоза влагалища проводилась методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени.

Бактериальная обсемененность влагалища была достаточно высокой и практически не менялась на фоне применения влагалищного кольца. Медиана общей бактериальной массы колебалась от 7,10 до 7,25 ГЭ/образец на протяжении всего периода наблюдения. Основным представителем микробиоценоза влагалища были латобактерии.

Таблица 15 - Представители микробиоценоза влагалища на фоне использования влагалищного кольца(n=30)

		Визит			
		0	1	2	3
Общая бактериальная масса	Медиана	7,25	7,10	7,10	7,12
	25-й Процентиль	6,56	6,03	6,24	6,09
	75-й Процентиль	7,85	7,59	7,76	7,71
Лактобактерии	Медиана	7,22	6,88	7,09	6,84
	25-й Процентиль	6,09	5,85	6,44	5,50
	75-й Процентиль	7,68	7,50	7,85	7,62
Энтеробактерии	Медиана	2,46	2,53	2,60	2,44
	25-й Процентиль	2,18	2,29	2,29	2,18
	75-й Процентиль	3,47	2,82	3,12	2,76
Enterococcus spp.	Медиана	0,43	-	-	-
	25-й Процентиль	-	-	-	-
	75-й Процентиль	2,18	1,97	-	-
Eubacterium spp.	Медиана	3,85	4,34	4,29	3,66
	25-й Процентиль	3,38	3,00	3,18	3,00
	75-й Процентиль	5,21	5,79	5,21	4,91
Sneathia spp.+ Leptotrihia spp.+ Fusobacterium spp.	Медиана	1,87	1,97	1,91	1,87
	25-й Процентиль	-	-	-	-
	75-й Процентиль	2,53	2,44	2,44	2,32
Megasphaera spp. + Veilonella spp.+ Dialister spp.	Медиана	2,37	2,32	2,46	2,32
	25-й Процентиль	1,71	1,74	1,62	-
	75-й Процентиль	3,18	4,44	3,94	3,21
Lachnobacterium spp.+Clostridium spp.	Медиана	2,38	2,57	2,43	2,12
	25-й Процентиль	1,85	2,03	1,47	-
	75-й Процентиль	3,41	3,71	3,26	2,62

Mobiluncus spp.+ Corynebacterium spp.	Медиана	2,91	2,85	2,49	2,40
	25-й Процентиль	1,94	2,26	1,74	1,59
	75-й Процентиль	3,68	3,65	3,53	3,06
Peptostreptococcus spp.	Медиана	2,94	3,03	2,69	2,53
	25-й Процентиль	2,56	2,09	2,00	1,97
	75-й Процентиль	3,35	3,82	3,32	3,29
Atopobium vaginae	Медиана	2,21	1,69	0,54	1,87
	25-й Процентиль	-	-	-	-
	75-й Процентиль	2,74	2,74	2,68	2,74
Staphylococcus spp.	Медиана	2,63	2,40	2,22	2,15
	25-й Процентиль	1,62	1,85	1,82	1,38
	75-й Процентиль	3,44	3,62	3,09	2,74
Streptococcus spp.	Медиана	2,78	2,90	3,03	2,62
	25-й Процентиль	2,09	2,09	1,97	1,91
	75-й Процентиль	3,59	4,59	4,21	2,97
Gardnerella vaginalis	Медиана	3,22	3,03	3,88	2,84
	25-й Процентиль	2,41	1,88	2,71	2,26
	75-й Процентиль	4,06	5,35	5,88	4,82
Prevotella bivia+Porphyromonas spp.	Медиана	2,94	3,01	3,04	2,96
	25-й Процентиль	2,71	2,59	2,74	2,65
	75-й Процентиль	3,94	4,47	4,24	3,59
Ureaplasma parvum	Медиана	-	-	-	-
	25-й Процентиль	-	-	-	-
	75-й Процентиль	3,00	2,71	3,85	3,74
Ureaplasma urealyticum	Медиана	-	-	-	-
	25-й Процентиль	-	-	-	-
	75-й Процентиль	-	-	-	-
Mycoplasma hominis	Медиана	-	-	-	-
	25-й Процентиль	-	-	-	-
	75-й Процентиль	-	-	-	-
Candida spp.	Медиана	2,31	2,29	2,60	2,46
	25-й Процентиль	1,94	1,76	2,24	2,15
	75-й Процентиль	2,76	2,59	3,06	2,79

Из условнопатогеной микрофлоры наиболее представленным видом была *G. vaginalis*. Медиана абсолютного количества данного микроорганизма составляло от 2,84 до 3,88 ГЭ/образец. При этом медиана относительного количества *G. vaginalis* не превышала 1%. *Streptococcus spp*. и *Staphylococcus spp*. практически не встречались во влагалище обследованных пациенток. Медиана суммарной доли этих факультативно-анаэробных микроорганизмов

колебалась на протяжении наблюдения от 0,01 до 0,11%, тогда как суммарная доля облигатно-анаэробных микроорганизмов составляла от 0,47 до 1,29%.

Грибы рода *Candida* в диагностически значимом количестве не были выявлен ни у одной пациентки. *Micoplasma hominis* в диагностически значимом количестве была выявлена у одной пациентки перед началом исследования, уреаплазмы в диагностически значимом количестве обнаруживались у двух пациенток 2/30 (6,7%) до начала и через 3 месяца использования влагалищного кольца. Через 6 месяцев высокое содержание уреаплазм наблюдали у 7/30 (23,3%) пациенток и через 9 месяцев – у 5/30 (16,7%). На момент начала исследования состояние влагалищной микрофлоры у большей части 20/30 (66,7%) пациенток, использовавших влагалищное кольцо, было классифицировано как нормоценоз. Это же соотношение сохранялось и через 3 месяца после использования данного вида контрацепции. На 6-ом месяце наблюдения зафиксирована максимальная доля пациенток с нормоценозом влагалища 22/30 (73,3%). Через 9 месяцев после продолжения использования влагалищного кольца доля пациенток с нормоценозом составляла 21/30 (70,0%).

Был проведен анализ видового состава нормофлоры у данной группы пациенток в зависимости от состояния. Основными представителями лактобактреий были *L. crispatus, L. iners* и *L. jensenii*. Было обнаружено, что при нормоценозе в составе лактофлоры чаще всего преобладали *L. crispatus,* а *L. iners* и *L. jensenii* составляли каждый около 5%, -тогда как при дисбиозе основную массу лактофлоры составляли *L. iners.*

Состояние микробиоценоза влагалища на фоне применения монофазного комбинированного орального эстроген-гестагенного контрацептивного препарата, содержащий 20 мкг этинилэстрадиола и 3 мг дроспиренона.

Бактериальная обсемененность влагалища была достаточно высокой и практически не менялась на фоне применения КОК. Медиана общей бактериальной массы колебалась от 6,59 до 7,43 ГЭ/образец на протяжении всего периода наблюдения. Основным представителем микробиоценоза влагалища были латобактерии.

Таблица 16 - Представители микробиоценоза влагалища на фоне применения КОК (n =30)

		Визит			
		0	1	2	3
Общая бактериальная масса	Медиана	6,88	6,59	7,43	6,79
	25-й Процентиль	6,35	5,97	6,71	6,21
	75-й Процентиль	7,21	7,53	7,85	7,35
Лактобактерии	Медиана	6,94	6,85	7,43	6,81
	25-й Процентиль	5,88	6,12	6,32	5,31
	75-й Процентиль	7,38	7,44	7,97	7,22
Энтеробактерии	Медиана	2,29	2,59	2,66	2,50
	25-й Процентиль	2,06	2,38	2,25	2,13
	75-й Процентиль	3,24	3,12	3,34	2,93
Enterococcus spp.	Медиана	0	0	0	0
	25-й Процентиль	0	0	0	0
	75-й Процентиль	1,74	1,76	1,79	1,62
Eubacterium spp.	Медиана	4,88	3,44	4,12	4,10
	25-й Процентиль	3,50	3,00	3,54	3,10
	75-й Процентиль	5,12	4,38	5,29	5,25
Sneathia spp.+Leptotrihia spp.+Fusobacterium spp.	Медиана	1,97	1,38	2,09	0,78
	25-й Процентиль	0	0	0	0
	75-й Процентиль	2,59	2,29	2,59	2,25
Megasphaera spp. +Veilonella spp.+Dialister spp.	Медиана	2,50	2,26	2,56	2,43
	25-й Процентиль	0	0	1,96	1,85
	75-й Процентиль	4,12	2,91	3,24	4,04
Lachnobacterium spp.+Clostridium spp.	Медиана	2,35	2,26	2,44	2,46
	25-й Процентиль	1,32	0	2,22	1,84
	75-й Процентиль	3,38	2,71	2,91	2,99

Mobiluncus spp.+Corynebacterium spp.	Медиана	2,88	3,12	3,40	2,69
	25-й Процентиль	1,91	1,94	1,96	1,16
	75-й Процентиль	3,94	3,88	4,28	3,63
Peptostreptococcus spp.	Медиана	2,85	2,71	2,84	2,50
	25-й Процентиль	2,26	0	2,59	0
	75-й Процентиль	3,41	3,18	3,35	3,50
Atopobium vaginae	Медиана	1,79	0	1,97	1,85
	25-й Процентиль	0	0	0	0
	75-й Процентиль	2,47	2,18	2,50	2,41
Staphylococcus spp.	Медиана	2,21	3,00	3,04	2,44
	25-й Процентиль	1,53	1,62	2,34	1,68
	75-й Процентиль	3,21	3,38	3,72	3,12
Streptococcus spp.	Медиана	3,76	3,12	3,16	3,57
	25-й Процентиль	2,32	1,97	1,99	1,99
	75-й Процентиль	4,91	4,09	4,12	4,13
Gardnerella vaginalis	Медиана	3,79	2,62	3,10	3,44
	25-й Процентиль	1,91	1,74	2,10	2,25
	75-й Процентиль	5,76	4,24	4,53	5,75
Prevotella bivia+Porphyromonas spp.	Медиана	3,35	3,03	3,53	2,99
	25-й Процентиль	2,47	2,47	2,78	2,44
	75-й Процентиль	4,26	3,62	3,96	4,56
Ureaplasma parvum	Медиана	0	0	0	0
	25-й Процентиль	0	0	0	0
	75-й Процентиль	3,50	1,15	0	1,09
Ureaplasma urealyticum	Медиана	0	0	0	0
	25-й Процентиль	0	0	0	0
	75-й Процентиль	0	0	0	0
Mycoplasma hominis	Медиана	0	0	0	0
	25-й Процентиль	0	0	0	0
	75-й Процентиль	0	0	0	0
Candida spp.	Медиана	2,26	2,21	2,24	2,19
	25-й Процентиль	1,79	1,41	1,84	1,90
	75-й Процентиль	2,41	2,47	2,50	2,51

Из условно патогенной микрофлоры наиболее представленными были эубактерии и *G. vaginalis*. Абсолютное количество эубактерий до начала наблюдения было максимальным (4,88 (3,5-5,12 ГЭ/образец) и незначительно снижалось на фоне применения КОК, достигая минимального значения (3,44 (3,00-4,38) ГЭ/образец) через 3 месяца после начала применения контрацепции. Медиана абсолютного количества *G. vaginalis*

характеризовалась сходной тенденцией и колебалась от 3,79 (1,91-5,76) ГЭ/образец до начала применения контрацепции до 2,62 (1,74-4,24) ГЭ/образец через месяц применения КОК (рисунок 7).

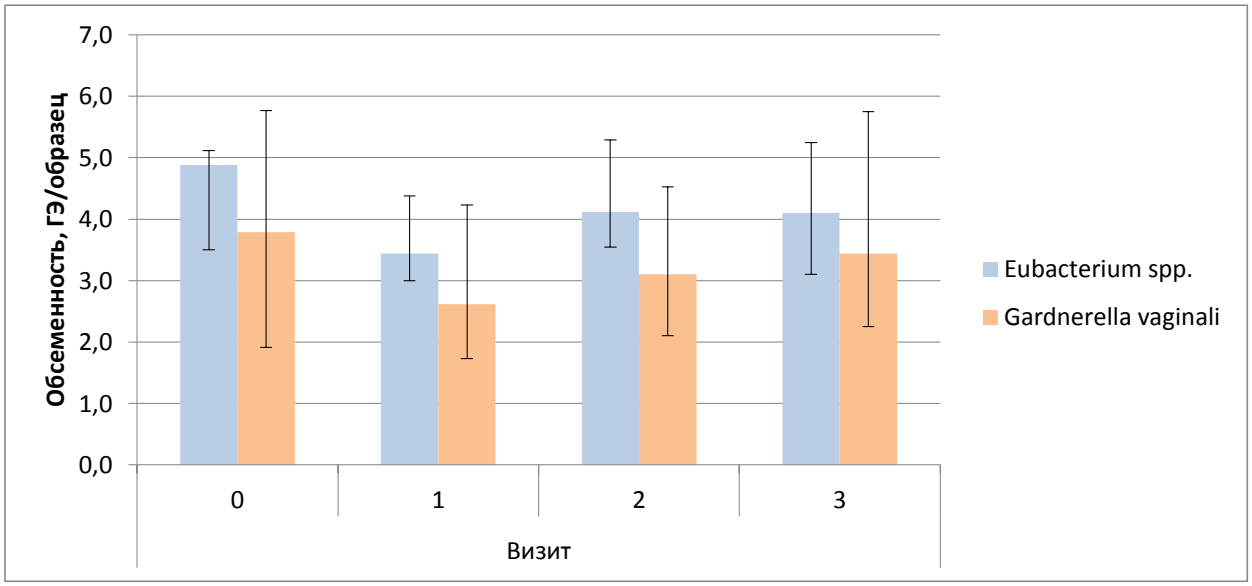


Рисунок 7 - Динамика изменения абсолютного количества наиболее представленных условнопатогенных микроорганизмов на фоне применения КОК

При этом медиана относительного количества эубактерий и *G. vaginalis* не превышала 1%. Streptococcus spp.и Staphylococcus spp. практически не встречались во влагалище обследованных пациенток. Медиана суммарной доли этих факультативно-анаэробных микроорганизмов колебалась на протяжении наблюдения от 0,02 до 0,16%, тогда как суммарная доля облигатно-анаэробных микроорганизмов составляла от 0,3 до 4,9%.

Грибы рода *Candida* в диагностически значимом количестве не были выявлен ни у одной пациентки. *Micoplasma hominis* в диагностически значимом количестве была выявлена однократно через 3 и 6 месяцев применения КОК и в двух случаях через 9 месяцев. *Ureaplasma* в диагностически значимом количестве обнаруживались у четырех пациенток до начала приема КОК и однократно через 6 месяцев использования контрацепции. Через 9 месяцев высокое содержание *Ureaplasma* наблюдали у 4 пациенток.

На момент начала исследования состояние влагалищной микрофлоры у большей части 20/30 (66,7%) пациенток, использовавших КОК, было классифицировано как нормоценоз. Через 3 месяца применения контрацепции доля пациенток с нормоценозом возрастала до 25/30 (83,3%). Через 6 и 9 месяцев доля пациенток с нормоценозом влагалища составила 23/30 (76,7%) и 19/30 (63,3%) соответственно.

Был проведен анализ видового состава нормофлоры у данной группы пациенток в зависимости от состояния биоценоза (рисунок 8). Основными представителями лактобактреий были *L. crispatus, L. iners* и *L. jensenii*. Было обнаружено, что при дисбиозе влагалища в составе лактофлоры преобладали *L. iners*, тогда как *L. crispatus* и *L. jensenii* практически не встречались. Указанное соотношение практически не изменялось на фоне применения КОК. При нормоценозе влагалища до начала приема контрацепции основную долю лактофлоры составляли *L. crispatus* и *L. jensenii*, однако на фоне приема КОК наблюдалось изменение структуры лактофлоры, характеризующееся увеличением доли *L. iners* с 0 (0-5,8)% до 90,6 (4,1-96,8)% и исчезновением *L. crispatus* и *L. jensenii.*

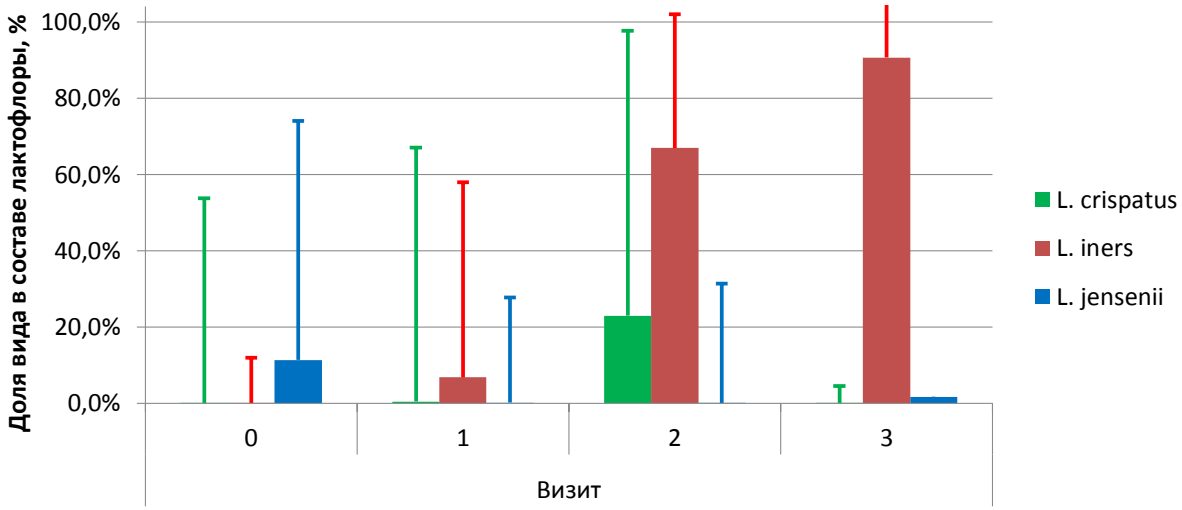


Рисунок 8 - Видовой состав нормофлоры влагалища при нормоценозе у пациенток, использовавших КОК

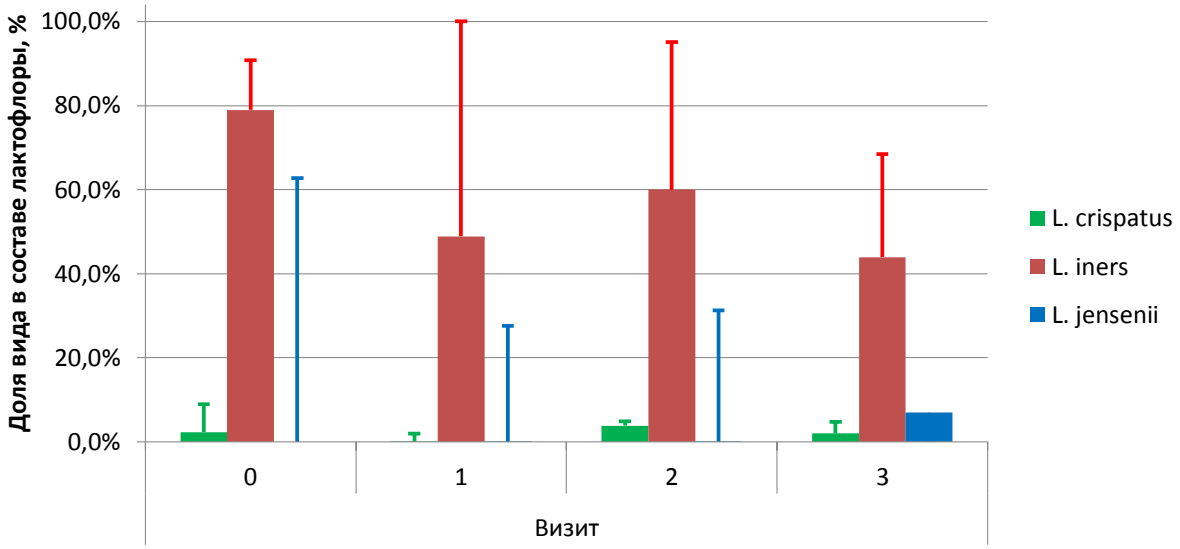


Рисунок 9 - Видовой состав нормофлоры влагалища при дисбиозе у пациенток, использовавших КОК

Таким образом, у большинства пациенток, использовавших КОК, во влагалище преобладали лактобактерии. На фоне применения контрацепции наблюдалось незначительное снижение доли основных условнопатогенным микроорганизмов (эубактерии и *G. vaginalis*), достигая минимального значения через 3 месяца после начала применения контрацепции.

В структуре нормофлоры основными представителями были *L. crispatus, L. iners* и *L. jensenii*, при этом до начала применения КОК при нормоценозе в основном встречались *L. crispatus* и *L. jensenii*, тогда как дисбиоз сопровождался преобладанием *L. iners*. На фоне применения КОК у пациенток с дисбиозом влагалища не выявлено существенной динамики в структуре нормофлоры. У пациенток с номоценозом на фоне применения контрацепции наблюдалось резкое увеличение доли *L. iners* начиная с 3 месяца наблюдения. Через 6 месяцев приема КОК у пациенток с нормоценозом структура нормофлоры не отличалась от таковой при дисбиозе, а через 9 месяцев доля *L. iners* при нормоценозе превышала 80%, что характерно для дисбиотических изменений биоценоза влагалища.

На фоне приема КОК наблюдалось 2-х кратное снижение доли пациенток с дисбиозом через 3 месяца после начала приема препарата, однако, в дальнейшем доля таких пациенток росла, достигая к 9 месяцу 40%, что на 10% превышало таковую в начале наблюдения.

Состояние вагинального микробиоценоза на фоне применения ЛНГ- ВМС

Бактериальная обсемененность влагалища была достаточно высокой и практически не менялась на фоне применения спирали. Также не наблюдалось каких-либо изменений в структуре биоценоза влагалища за весь период наблюдения. Медиана общей бактериальной массы составляла 7,38 (6,46-7,96) ГЭ/образец на протяжении всего периода наблюдения. Основным представителем микробиоценоза влагалища были латобактерии, которые составляли 99,4 (47,2-100)%. Следующими по представленности были эубактерии, доля которых составляла 0,1 (0-1,2)%. Все остальные группы микроорганизмов выявлялись в незначительных количествах (Рисунок 10).

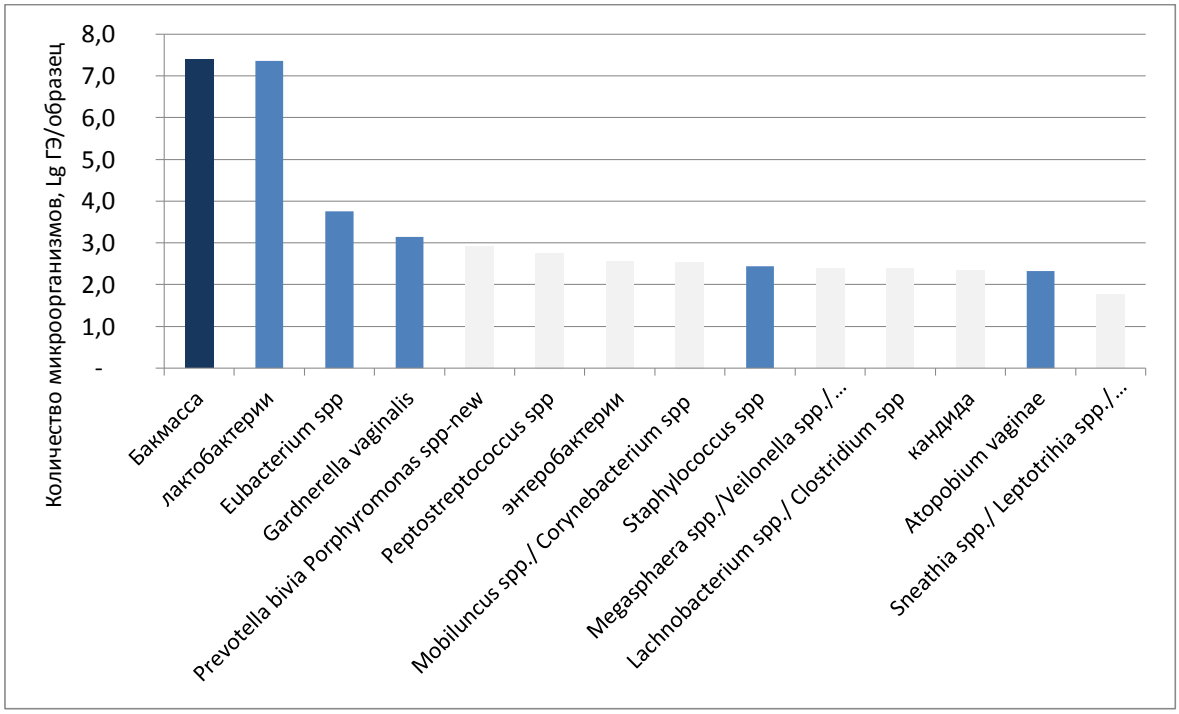


Рисунок 10 – Состояние вагинального микробиоценоза на фоне применения ЛНГ- ВМС

Светлым отмечены группы микроорганизмов, количество которых было меньше, чем линейный диапазон соответствующей тест-системы.

В 21/30 (70,0%) случаев состояние биоценоза влагалища у пациенток данной группы было классифицировано как нормоценоз.

Грибы рода *Candida* в диагностически значимом количестве были выявлены в 2 случаях за весь период наблюдения (1,7%). *Micoplasma hominis* в диагностически значимом количестве была выявлена в 5 случаях (4,5%). Уреаплазмы в диагностически значимом количестве выявлялись в 12 (11,1%) наблюдений. Во всех случаях это была *U.parvum*. Был проведен анализ видового состава нормофлоры у данной группы пациенток в зависимости от состояния биоценоза. Основными представителями лактобактреий были L. crispatus, *L. iners* и *L.gasseri.* Обращало на себя внимание, что при нормоценозе основным представителем нормофлоры были *L. crispatus*, тогда как при дисбиозе преобладали L. iners (рисунок 11).

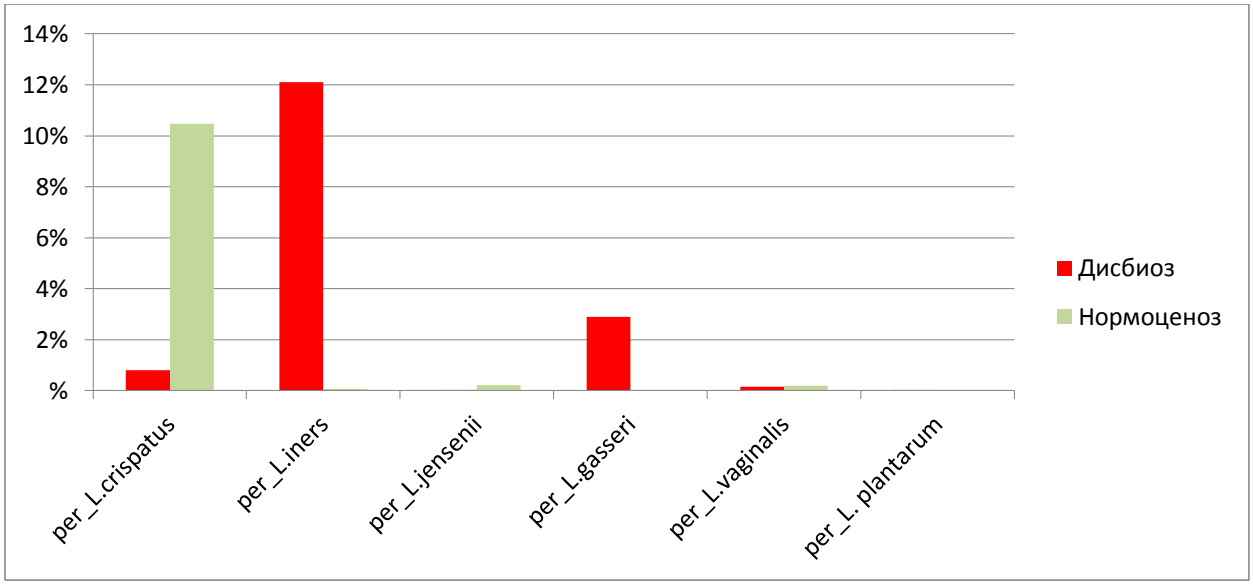


Рисунок 11 - Видовой состав нормофлоры с доминирование отдельных видов лактобацилл на фоне использования ВМС

Таким образом, у большинства пациенток, использовавших ВМС, во влагалище преобладали лактобактерии. Существенных изменений в состоянии биоценоза влагалища на фоне применения контрацепции не обнаружено.

В структуре нормофлоры основными представителями были были *L. crispatus, L. iners* и *L.gasseri.,* при этом при нормоценозе в основном встречались L. crispatus, тогда как при дисбиозе преобладали *L. Iners.* Не выявлено существенной динамики в структуре нормофлоры на фоне применения контрацепции.

Взаимосвязь отдельных видов лактобацилл с суммарной долей лактофлоры в вагинальном микробиоценозе и группами условно-патогенных микроорганизмов, ассоциированными с дисбиозом влагалища.

Один из механизмов защиты от инфекционных заболеваний нижних отделов половых путей у женщин репродуктивного возраста обусловлен доминированием лактобактерий в составе микробиоценоза влагалища. Персистенция лактобактерий на слизистой влагалища подавляет рост условно-патогенных микроорганизмов за счет синтеза молочной кислоты, поддерживающей кислую pH среды [85], бактериоцинов [234] и перекиси водорода [145; 235; 236]. Отдельные виды лактобацилл с различной частотой обнаруживались и доминировали у пациенток с абсолютным нормоценозом, умеренным и выраженным дисбиозами. Вагинальная лактофлора чаще была представлена преимущественно *L. iners* (48,5% случаев) и *L. crispatus* (30,3% случаев), реже — *L. gasseri* и *L. jensenii* (12,3% и 7,1% случаев, соответственно). В зависимости от состояния микробиоценоза влагалища различалась вероятность внутриродового доминирования отдельных видов лактобацилл. Для *L. crispatus* вероятность доминирования выше всего при абсолютном нормоценозе (85%), *L. gasseri* и *L. jensenii* — при умеренном дисбиозе (74% и 52%, соответственно), *а L. iners* — при выраженном дисбиозе (96%). Различались средние количества УПМ на фоне доминирования отдельных видов лактобацилл: при доминировании видов *L. crispatus* и *L. gasseri* они минимальны, а при доминировании вида *L. jensenii* и, особенно, при доминировании *L. iners* — максимальны. Полученные

данные позволяют утверждать, что прогностически наиболее благоприятным вариантом микробиоценоза влагалища является абсолютный нормоценоз с доминированием *L. crispatus*. Такой вариант нормоценоза будет обладать большей устойчивостью к воздействию различных эндогенных и экзогенных факторов. Нормоценоз с доминированием *L. iners, L. gasseri* или *L. jensenii* следует расценивать как менее благоприятный и стабильный вариант биоценоза, который потенциально может трансформироваться в дисбиоз. Способность данного вида доминировать при нормоценозе и сохраняться при дисбиотических состояниях с повышенным уровнем pH может обеспечивать реколонизацию влагалища другими видами лактобацилл после устранения инициирующего фактора дисбиоза [26]. В таком случае *L. iners* можно рассматривать как буфер между нормоценозом и дисбиозом, а его выявление в сочетании с *L. crispatus*, как дополнительный маркер устойчивости микробиоценоза к воздействиям факторов окружающей среды.

Таким образом, доминирование *L. jensenii* следует расценивать как прогностически неблагоприятный признак. Однако данный вид редко является доминирующим и чаще выявляется как вспомогательный вид, тогда как доминирующими являются виды *L. crispatus* и *L. iners.* В случае выявления сочетания *L. iners/L. jensenii* прогноз будет менее благоприятным, чем при выявлении сочетания *L. crispatus/L. jensenii.*

Была проанализирована структура нормофлоры в зависимости от состояния микробиоценоза влагалища (Рисунок 12).

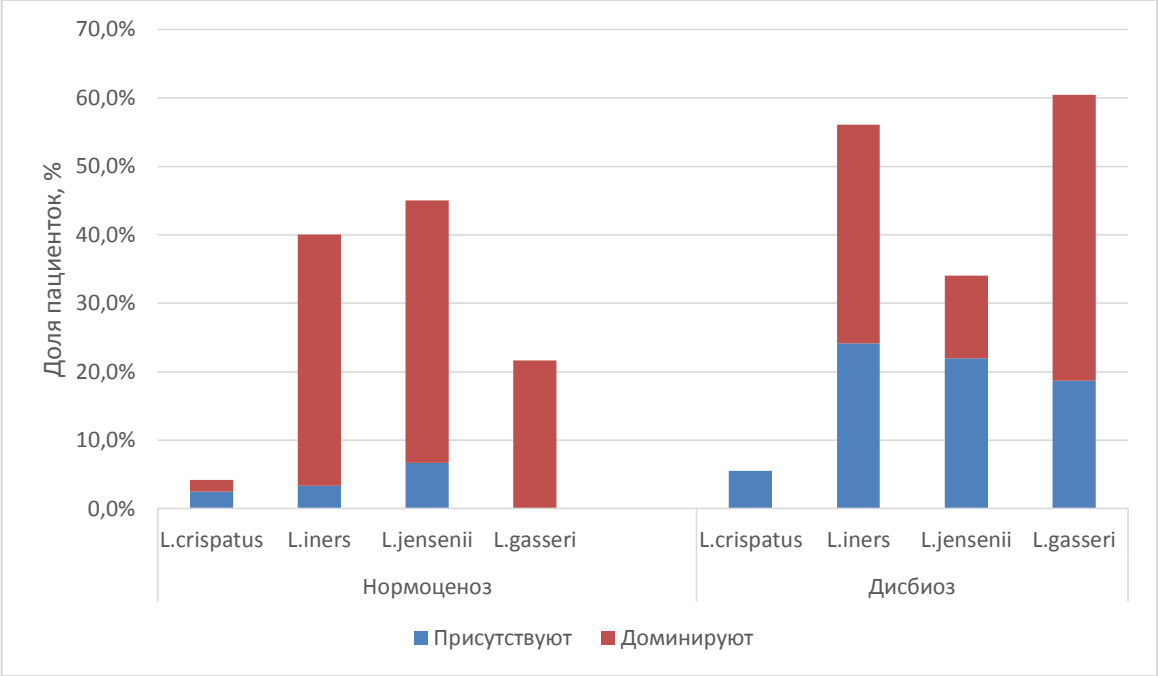


Рисунок 12 - Частота встречаемости основных видов лактобактерий в зависимости от состояния микробиоценоза влагалища у пациенток на фоне гормональной контрацепции.

Полиморфизмы генов и состояние микробиоценоза влагалища

В качестве потенциальной причины неблагоприятного развития дисбиотического состояния влагалища был проведен анализ полиморфизма генов цитокинов.

Частоты распределения аллелей и генотипов всех исследованных полиморфизмов подчинялись закону Харди-Вайнберга и не различались между группами.

Таблица 17 - Распределние аллелей и генотипов исследованных генных полиморфизмов по группам (n=120)

Полиморфизм	Генотип	1 группа n=30	2 группа n=30	3 группа n=30	4 группа n=30
CD14: -260 (-159) C>T	T/T	6	10	6	11
		20,0%	33,3%	20,0%	36,7%
	C/T	14	16	14	14
		46,7%	53,3%	46,7%	46,7%
	C/C	10	4	10	5
		33,3%	13.3%	33,3%	16,7%

TGFB: -509 C>T	C/C	16	9	18	15
		53,3%	30.0%	60,0%	50,0%
	C/T	12	20	12	12
		40,0%	66.70%	40,0%	40,0%
	T/T	2	1	0	3
		6,7%	3,3%	0,0%	10,0%
IL10: -592 A/C	A/A	4	4	3	2
		13,3%	13,3%	10,0%	6,7%
	C/A	12	13	9	12
		40,0%	43,3%	30,0%	40,0%
	C/C	14	13	18	16
		46,7%	43,3%	60,0%	53,3%
TLR9: -1486 T>C	C/C	10	2	3	4
		33,3%	6.7%	10,0%	13,3%
	T/C	14	13	17	15
		46,7%	43,3%	56,7%	50,0%
	T/T	6	15	10	11
		20,0%	50.0%	33,3%	36,7%
IL1A: -889 C>T	C/C	14	10	11	15
		46,7%	33,3%	36,7%	50,0%
	C/T	16	16	17	14
		53,3%	53.3%	56,7%	46,7%
	T/T	0	4	2	1
		0,0%	13,3%	6,47%	3,3%
IL1R1: Pst11970 C>T	C/C	8	10	15	17
		26,7%	33,3%	50,0%	56,7%
	C/T	16	14	13	10
		53,3%	46.7%	43,3%	33,3%
	T/T	6	6	2	3
		20,0%	20.0%	6,7%	10,0%
IL1B: -31 T>C	C/C	4	2	4	3
		13,3%	6.7%	13,3%	10,0%
	T/C	16	15	14	15
		53,3%	50.0%	46,7%	50,0%
	T/T	10	13	12	12

		33,3%	43.3%	40,0%	40,0%
IL4: -33 C>T	C/C	16	19	19	21
		53,3%	63,3%	63,3%	70,0%
	C/T	10	5	10	7
		33,3%	16,7%	33,3%	23,3%
	T/T	4	6	1	2
		13,3%	20,0%	3,3%	6,7%
IL1B: 3953 (3954) C>T	C/C	20	14	16	17
		66,7%	46,7%	53,3%	56,7%
	C/T	10	13	12	12
		33,3%	43,3%	40,0%	40,0%
	T/T	0	3	2	1
		0,0%	10,0%	6,7%	3,3%
IL4: -590 C>T	C/C	16	20	19	21
		53,3%	66,7%	63,3%	70,0%
	C/T	10	4	10	7
		33,3%	13,3%	33,3%	23,3%
	T/T	4	6	1	2
		13,3%	20,0%	3,3%	6,7%
IL1RN: 11100 msp1 T>C	C/C	4	8	3	7
		14,3%	26,7%	10,0%	23,3%
	T/C	7	11	15	6
		23.3%	36,7%	50,0%	20,0%
	T/T	19	11	12	17
		63,3%	36,7%	40,0%	56,7%
IL4R: 1902 A>G (Gln576Arg)	A/A	14	19	20	22
		46,7%	63,3%	66,7%	73,3%
	A/G	16	10	10	8
		53,3%	33,3%	33,3%	26,7%
	G/G	0	1	0	0
		0,0%	3,3%	,0%	,0%
IL6: 174 C>G	C/C	4	5	6	5
		13,3%	16,7%	20,0%	16,7%
	G/C	12	16	15	15

		40,0%	53,3%	50%	50,0%
	G/G	14	9	9	10
		46,7%	30,0%	30,0%	33,3%
IL6R: 1510 (1073) A>C (Asp358Ala)	A/A	12	9	17	11
		40,0%	30,0%	56,7%	36,7%
	A/C	18	17	10	17
		60,0%	56,7%	33,3%	56,7%
	C/C	0	4	3	2
		0,0%	13,3%	10,0%	6,7%
IL8: -251 A>T	A/A	8	7	11	4
		26,7%	23,3%	36,7%	13,3%
	A/T	16	13	13	18
		53,3%	43,3%	43,3%	60,0%
	T/T	6	10	6	8
		20,0%	33,3%	20,0%	26,7%
TNF: -238 G>A	G/A	0	1	4	1
		0,0%	3,3%	13,3%	3,3%
	G/G	30	29	26	29
		100,0%	96,7%	86,7%	96,7%

Отсутствие статистически значимых различий в распределении генотипов между обследованными группами подтвердил репрезентативность выборок.

Также был проведен анализ ассоциации генетических маркеров с состоянием биоценоза влагалища перед назначением контрацепции.

Таблица 18 - Распределение аллелей и генотипов в зависимости от состояния биоценоза влагалища до начала контрацепции

Полиморфизм	Генотип	Состояние биоценоза влагалища до начала использования контрацепции	
		Дисбиоз	Нормоценоз
CD14: -260 (-159) C>T	T/T	11	22
		28,2%	27,16%
	C/T	20	38
		51,3%	46,91%
	C/C	8	21
		20,5%	25,93%

TGFB: -509 C>T	C/C	16	42
		41,0%	51,85%
	C/T	20	36
		51,3%	44,44%
	T/T	3	3
		7,7%	3,70%
IL10: -592 A/C	A/A	2	11
		5,1%	13,58%
	C/A	16	30
		41,0%	37,04%
	C/C	21	40
		53,8%	49,38%
TLR9: -1486 T>C	C/C	4	15
		10,3%	18,52%
	T/C	22	37
		56,4%	45,68%
	T/T	13	29
		33,3%	35,80%
IL1A: -889 C>T	C/C	17	33
		43,6%	40,74%
	C/T	18	45
		46,2%	55,56%
	T/T	4	3
		10,3%	3,70%
IL1R1: Pst11970 C>T	C/C	15	35
		38,5%	43,21%
	C/T	17	36
		43,6%	44,44%
	T/T	7	10
		17,9%	12,35%
IL1B: -31 T>C	C/C	2	11
		5,1%	13,58%
	T/C	22	38
		56,4%	46,91%
	T/T	15	32
		38,5%	39,51%

IL4: -33 C>T	C/C	25	50
		64,1%	61,73%
	C/T	7	25
		17,9%	30,86%
	T/T	7	6
		17,9%	7,41%
IL1B: 3953 (3954) C>T	C/C	19	48
		48,7%	59,26%
	C/T	19	28
		48,7%	34,57%
	T/T	1	5
		2,6%	6,17%
IL4: -590 C>T	C/C	25	51
		64,1%	62,96%
	C/T	7	24
		17,9%	29,63%
	T/T	7	6
		17,9%	7,41%
IL1RN: 11100 msp1 T>C	C/C	7	15
		17,9%	18,52%
	T/C	14	25
		35,9%	30,86%
	T/T	18	41
		46,2%	50,62%
IL4R: 1902 A>G (Gln576Arg)	A/A	24	51
		61,5%	62,96%
	A/G	14	30
		35,9%	37,0%
	G/G	1	0
		2,6%	0,0%
IL6: 174 C>G	C/C	4	16
		10,3%	19,7%
	G/C	22	36
		56,4%	44,4%
	G/G	13	29
		33,3%	35,8%

IL6R: 1510 (1073) A>C (Asp358Ala)	A/A	12	37
		30,8%	45,7%
	A/C	24	38
		61,5%	46,9%
	C/C	3	6
		7,7%	7,4%
IL8: -251 A>T	A/A	10	20
		25,6%	24,7%
	A/T	24	36
		61,5%	44,4%
	T/T	5	25
		12,8%	30,7%
TNF: -238 G>A	G/A	1	5
		2,6%	6,2%
	G/G	38	76
		97,4%	93,8%

При анализе распределения аллелей и генотипов исследованных генов статистически значимой ассоциации с состоянием дисбиоза влагалища перед назначением контрацепции выявлено не было (таблица 18).

В ходе поиска генетических предикторов развития клинической картины, потребовавшей применения противовоспалительных препаратов было установлено, что среди пациенток, нуждавшихся в лечении, 40% имели генотип T/T полиморфизма IL4: -590 C>T, в то время, как среди пациенток, не нуждавшихся в лечении, этот генотип встречался в 6,9% случаев ($p = 0.008$, OR=9.05 (2.18- 37.53). Данный маркер характеризуется выраженной ассоциацией с воспалительными заболеваниями на фоне гормональной контрацепции и может быть использован для формирования группы риска.

Для полиморфизма IL1RN: 11100 msp1 T>C была выявлена ассоциация частотного аллеля T с возникновением необходимости применения противовоспалительной терапии. Генотипическая частота этого аллеля среди женщин, нуждавшихся в лечении, составляла 85% по сравнению с 62% ($p=0,05$, OR = 3.47 (1.02-11.88)). Однако широкое распространение аллеля T в

популяции приводит к низкой прогностической ценности положительного ответа и нецелесообразности использования данного маркера в диагностических целях. Тем не менее, перспективным представляются дальнейшие исследования в этой области.

В результате проведенного генетического анализа перед назначением контрацепции не было выявлено генетической предрасположенности к дисбиозу влагалища. В соответствии с теорией многофакторных заболеваний, наряду с генетической составляющей, важную роль в возникновении воспалительных заболеваний влагалища должны играть факторы внешней среды. Нами было установлено, что таким фактором являлось состояние микробиоценоза влагалища. Среди пациенток, не использовавших гормональную контрацепцию, риск развития воспалительных заболеваний статистически значимо зависел от наличия дисбиоза. Тем не менее, связь между дисбиозом и развитием воспалительных заболеваний не была абсолютной, что и обусловило поиск генетической предрасположенности к усугублению дисбиотических нарушений у определенной группы пациенток. Было установлено, что генотип IL4: -590 T/T и аллель T полиморфизма IL1RN: 11100 msp1 T>C являются фактором риска развития воспалительных заболеваний.

Закономерно, что функционально значимые генные полиморфизмы играют существенную роль в особенностях течения воспалительных заболеваний, вызванных условнопатогенной микрофлорой.

Таким образом, носительство гаплотипа TT по локусам -33 C>T и -590 C>T гена IL4 в гомозиготном состоянии или аллеля T полиморфного локуса IL1R1: Pst11970 C>T 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 выявленные в ходе однофакторного анализа предикторы. В модель вошли 2 независимых

бинарных признака: наличие дисбиоза до назначения контрацепции и наличие гомозиготного носительства гаплотипа ТТ по локусам -33 C>T и -590 C>T гена IL4. Уравнение канонической дискриминантной функции имело вид:

Z=1,081 [Дисбиоз]+ 2,797[ТТ]-0.651, где*

Z – дискриминантная функция

[Дисбиоз] - наличие дисбиоза до назначения контрацепции

[ТТ] - гомозиготное носительство гаплотипа ТТ 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 (рисунок 13).

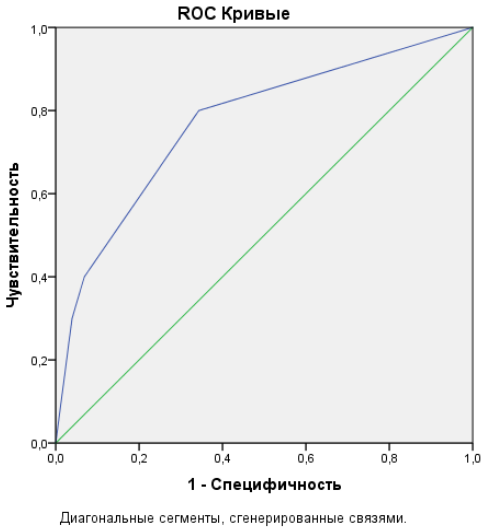


Рисунок 13 - Характеристическая кривая разработанной модели

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). 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.

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Состав микрофлоры влагалища у каждой женщины уникален, в то же время качественный и количественный состав вагинальной микробиоты в норме подчиняются определенным законам, что позволяет в полной мере реализовать предназначенную защитную функцию. Результаты настоящего исследования подтверждают представления о том, что индивидуальный характер вагинального микробиоценоза связан с особенностями иммунной системы, обусловленных генетическим многообразием популяции. Высокая частота носительства полиморфизмов генов системы провоспалительных и противовоспалительных цитокинов объясняет разнообразие индивидуального реагирования врожденного и приобретенного иммунитета. Становится понятным, что бессимптомное или напротив чрезмерно бурное течение инфекций репродуктивного тракта у части женщин может быть объяснено индивидуальными иммуно-генетическими особенностями[5,26]. Принимая во внимание этого факта в ряде случаев может позволить оградить пациентку от ненужной (потенциально неэффективной) терапии, либо даст возможность индивидуально скорректировать лечение.

Нормальный микробиоценоз влагалища у женщин характеризуется присутствием лактофлоры в количестве более 80% от общей бактериальной массы и доминированием среди лактобацилл определенного вида — Lactobacillus crispatus [4,5,9, 12, 45,81, 82].

С современных позиций репродуктивной медицины использование гормональных контрацептивов рассматривается не только как возможность предохранения от наступления нежелательной беременности, но и как один их компонентов комплекса охраны здоровья женщины. Для предотвращения возникновения побочных эффектов при назначении гормональной терапии необходимо выявлять индивидуальные противопоказания к ней, проводить индивидуальное прогнозирование вероятных побочных эффектов, для дифференцированного подхода к лабораторно – инструментальному

обследованию пациенток. В течение последних десятилетий гормональные контрацептивы постоянно совершенствовались, что способствовало не только снижению побочных эффектов, но и повышению приемлемости этих средств контрацепции. Основные требования, предъявляемые к гормональным противозачаточным препаратам, являются высокая эффективность и безопасность. При этом, при оценке потенциального влияния гормональных препаратов на организм женщины практически не учитывается состояние микробиоты влагалища. Несмотря на то, что изучению состояния микробиоценоза влагалища давно уделяется пристальное внимание как отечественными, так и зарубежными учеными [2, 21,37], в их работах, в основном, используется микробиологический метод, что несколько искажает картину вагинальной экосистемы. В нашем исследовании проведена комплексная оценка микробиоценоза влагалища методом ПЦР с детекцией результатов в режиме реального времени, что позволило более точно описать структуру микробиоты, включая такие плохокультивируемые микроорганизмы, как, например, Atopobium vaginae.

Влагалищная нормофлора у клинически здоровых женщин репродуктивного возраста представлена несколькими видами Lactobacillus spp. и составляет основу биоценоза влагалища. Абсолютное количество лактобактерий может колебаться в достаточно широких пределах. По данным разных авторов количество лактобацилл во влагалище здоровой женщины составляет от 105 до 109 КОЕ/мл, что составляет примерно 95% всей микрофлоры. Колонизируя слизистую влагалища, лактобактерии участвуют в формировании экологического барьера и тем самым поддерживают гомеостаз макроорганизма [20]. Следует отметить существование нескольких механизмов, обеспечивающих колонизационную резистентность вагинального биотопа, основные из которых - кислотообразование и продукция перекиси водорода. Также лактобациллы предупреждают адгезию потенциальных патогенных микроорганизмов блокируя рецепторы эпителиальных клеток. Лактобактерии, продуцирующие

перекись водорода, при взаимодействии с пероксидазой цервикальной слизи и галоидными соединениями подавляют рост и размножение многих видов бактерий, в частности Gardnerella vaginalis, Candida spp., Mobiluncus spp. и анаэробов. Кроме того, лактобактерии синтезируют аминокислоты, лизоцим, антибиотико-подобные вещества (бактериоцины), которые также обладают антагонистической активностью в отношении патогенной и условно-патогенной микрофлоры влагалища. Принцип преобладания Lactobacillus spp. над другими микроорганизмами, населяющими влагалище, и положен в основу концепции нормоценоза этого биотопа. У практически здоровых женщин постоянная микрофлора вагинального микробиоценоза влагалища преобладает над транзиторными микроорганизмами и определяет «нормоценоз». Доминирование условнопатогенной микрофлоры трактуется как «дисбиоз», который может сопровождаться воспалительным ответом, обусловливая патологическое состояние нижнего отдела репродуктивного тракта женщины, требующее медикаментозной коррекции. Таким образом, нарушение соотношения лактобактерий и условнопатогенной микрофлоры свидетельствует о снижении колонизационной резистентности влагалищного биоценоза, что, в свою очередь, приводит к повышению риска инфекционно-воспалительных заболеваний. Сходные результаты были получены в работе Меджидовой М.К., где дисбиоз влагалища, наблюдаемый перед родами, повышал риск осложненного течения пуэрперия.

Тем не менее, сам по себе дисбиоз влагалища не должен и не может рассматриваться как самостоятельное заболевание, требующее лечения. Однозначное преобладание условнопатогенной микрофлоры возможно в том случае если лактобациллы исчисляются единичными клетками или отсутствуют вовсе, при этом может наблюдаться отсутствие воспалительной реакции, расцененное нами, как бессимптомный дисбиоз. Такие пациентки не имели противопоказаний к назначению гормональной контрацепции и включались в наше исследование. В тоже время, в своей работе мы убедительно показали, что даже безсимптомный дисбиоз является

существенным фактором риска развития серьезных нарушений, которые в обязательном порядке уже через несколько месяцев потребуют активной врачебной тактики. Представленные данные свидетельствуют, что оценка состояния влагалищной микрофлоры является хорошим диагностическим критерием, позволяющим оценить риск развития воспалительных заболеваний.

Жизнедеятельность лактобактерий во влагалище тесно связана с клетками многослойного плоского эпителия. Рост и созревание эпителиальных клеток, синтез гликогена, продукция слизистого секрета в шейке матки происходят под действием эстрогенов. Из гликогена при участии клеточных ферментов образуются сахара: мальтоза и декстроза, являющиеся питательной средой для бактерий (в первую очередь лактофлоры). Продукт жизнедеятельности лактобацилл — α-оксипропионовая молочная кислота, создает кислую реакцию влагалищного содержимого.

Таким образом, использование гормональной контрацепции потенциально может вносить свой вклад в изменение состояние вагинального микробиоценоза - динамической экосистемы, высокочувствительной к любым факторам внешней среды, включая гормоны, поступающие из вне.

При динамическом наблюдении в течение года за пациентками, использующими различные методы гормональной контрацепции, не было обнаружено статистически значимых изменений в структуре микробиоты влагалища. Одной из существенных причин этого была выраженная гетерогенность клинических групп по варианту биоценоза влагалиша (нормоценоз или дисбиоз). Данный факт отражает особенности отбора выборки – состояние биоценоза влагалища не входило в критерии включения/исключения и анализировались post factum. Такой дизайн исследования был специально выбран для изучения реального распределения различных вариантов биоценоза влагалища среди женщин, обращающихся

для подбора гормональной контрацепции. Таким образом, можно говорить о том, что достаточно значимая доля пациенток, которым потребовалось назначение антибактериальных препаратов в период наблюдения, отражает реальную ситуацию, по возникновению воспалительных заболеваний влагалища и шейки матки, складывающаюся при назначении гормональных препаратов. Вышесказанное обусловило наш пристальный интерес к этой группе пациенток.

Важно отметить, что на необходимость лечения существенное влияние оказал выбранный метод гормональной контрацепции. противовоспалительные препараты в ходе исследования применялисть только при назначении КОК и в контрольной группе. По-видимому, циклические колебания гормонального фона, характерные для естественного или индуцированного менструального цикла «расшатывают» микроэкосистему влагалища. Очевидно, что нормальный биоценоз должен обладать достаточной устойчивостью к подобного рода физиологическим воздействиям. Учитывая, что вторым фактором риска воспалительных заболеваний был дисбиоз влагалища, наблюдаемый перед назначением контрацепции, можно сделать вывод, что именно снижение колонизационной резистентности биотопа делает влагалище уязвимиым при естественных колебаниях гормонального фона.

В соответствии с теорией многофакторных заболеваний, наряду с генетической составляющей, важную роль в возникновении воспалительных заболеваний влагалища должны играть факторы внешней среды. Нами было установлено, что таким фактором являлось состояние микробиоценоза влагалища. Среди пациенток, не использовавших гормональную контрацепцию, риск развития воспалительных заболеваний статистически значимо зависел от наличия дисбиоза. Тем не менее, связь между дисбиозом и развитием воспалительных заболеваний не была абсолютной, что и обусловило поиск генетической предрасположенности к усугублению дисбиотических нарушений у определенной группы пациенток. Было

установлено, что генотип IL4: -590 T/T и аллель T полиморфизма IL1RN: 11100 msp1 T>C являются фактором риска развития воспалительных заболеваний.

Закономерно, что функционально значимые генные полиморфизмы играют существенную роль в осбенностях течения воспалительных заболеваний, вызванных условнопатогенной микрофлорой [28,35,123,125.140].

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

В ходе поиска генетических предикторов развития клинической картины дисбиоза, потребовавшей применения местной антибактериальной терапии было установлено, что статистически значимые различия между пациентками, нуждавшимися и не нуждавшимися в лечении, наблюдались 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). 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>T/-590 C>T) распределение генотипов соответствовало аутосомно-рецессивной модели наследования, ассоцированной с гаплотипом TT. Гомозиготные носительницы этого гаплотипа имели повышенный риск возникновения воспалительный заболеваний нижнего отдела полового тракта на фоне применения ГК требующей проведения терапии (OR=3,51 (1,55-7,93), p=0,0006).

Для полиморфного локуса IL1R1: Pst11970 C>T 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>T составило 4,31 (1,12-16,56), p=0,0001.

Для полиморфизма IL1RN: 11100 msp1 T>C была выявлена ассоциация частотного аллеля Т с возникновением необходимости применения противовоспалительной терапии. Генотипическая частота этого аллеля среди женщин, нуждавшихся в лечении, составляла 86% по сравнению с 62% (p=0.014). 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, перспективным представляются дальнейшие исследования в этой области.

Таким образом, носительство гаплотипа ТТ по локусам -33 C>T и -590 C>T гена IL4 в гомозиготном состоянии или аллеля Т полиморфного локуса IL1R1: Pst11970 C>T ассоциировано с повышенным риском возникновения необходимости лечения воспалительных заболеваний нижнего отдела полового тракта женщин на фоне применения гормональной контрацепции. Многофакторный анализ для выявления сочетанного влияния нескольких факторов риска на возникновение необходимости лечения на фоне гормональной контрацепции не проводился.

Таким образом, наличие дисбиоза является важным прогностическим критерием при назначении метода контрацепции. У женщин принимающих гормональную контрацепцию значимым фактором риска развития воспалительных заболеваний является дисбиоз влагалища, обусловленный повышением доли *G. vaginalis.*

Пациентки с генотипом IL4: -590 T/T или носители аллеля Т

полиморфного локуса IL1R1: Pst11970 C>T имеют высокий риск развития воспалительных заболеваний и требуют контроля микробиоценоза влагалища на фоне применения гормональной контрацепции.

Таким образом, нами разработаны математические модели наследования факторов риска развития дисбиотических состояний влагалища с учетом клинических и молекулярно-генетических предикторов, которые позволяют оптимизировать дифференцированный подход в ведении пациенток использующих гормональные методы контрацепции что будет способствоать снижению числа воспалительных заболеваний нижнего отдела генитального тракта.

ВЫВОДЫ

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

2. До начала применения контрацепции состояние влагалищной микрофлоры у 65,0% женщин было классифицировано как нормоценоз, у 29,2 % – умеренный дисбиоз, у 5,8% соответствовало критериям выраженного дисбиоза. В структуре умеренных и выраженных дисбиозов в 80,0% случаев доминировали анаэробные дисбиозы. В качестве доминирующих в составе микробиоценоза выявляли *Gardnerella spp*.и *Eubacterium spp., Enterobacteriaceae spp*.

3. При применении гормональных методов контрацепции состояние вагинального микробиоценоза достоверно чаще характеризовалось дисбиозом, чем при использовании барьерных методов (33 .8% и 29.9% соответственно). Частота дисбиоза достоверно увеличивалась через 1 месяц применения контрацепции: в I группе (барьерные методы) на 63,3% и III (Кольцо) на 67,7%; во II (КОК) на 46,7%, в IV (ВМС) на 40% . Изменения биоценоза влагалища характеризовались отсутствием клинических проявлений в 30 % случаев. Коррегирующая терапии на фоне контрацепции назначалась в 3 раза чаще, чем при исходном дисбиозе.

4. Через 6 месяцев применения гормональных методов контрацепции у 10 % женщин наблюдались дисбиотические нарушения. При дисбиозе преобладали *L. Iners*. Необходимо отметить, что U.parvum не является прямым антагонистом лактобактерий и может существовать как при дисбиозе, так и на фоне сохранной нормофлоры/

5. Пациентки с генотипом IL4: -590 T/T или носители аллеля T полиморфного локуса IL1R1: Pst11970 C>T имеют достоверно более высокий

риск развития воспалительных заболеваний влагалища и требуют контроля микробиоценоза влагалища на фоне применения ГК. Выявлены статистически значимые 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) различия между пациентками нуждавшимися и не нуждавшимися в лечении.

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

На фоне применения КОК факторами риска развития воспалительных заболеваний влагалища является дисбиоз и наличие полиморфных локусов генов IL4, IL1R1, IL1RN.

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 является неблагоприятным предиктором и требует динамического наблюдения.

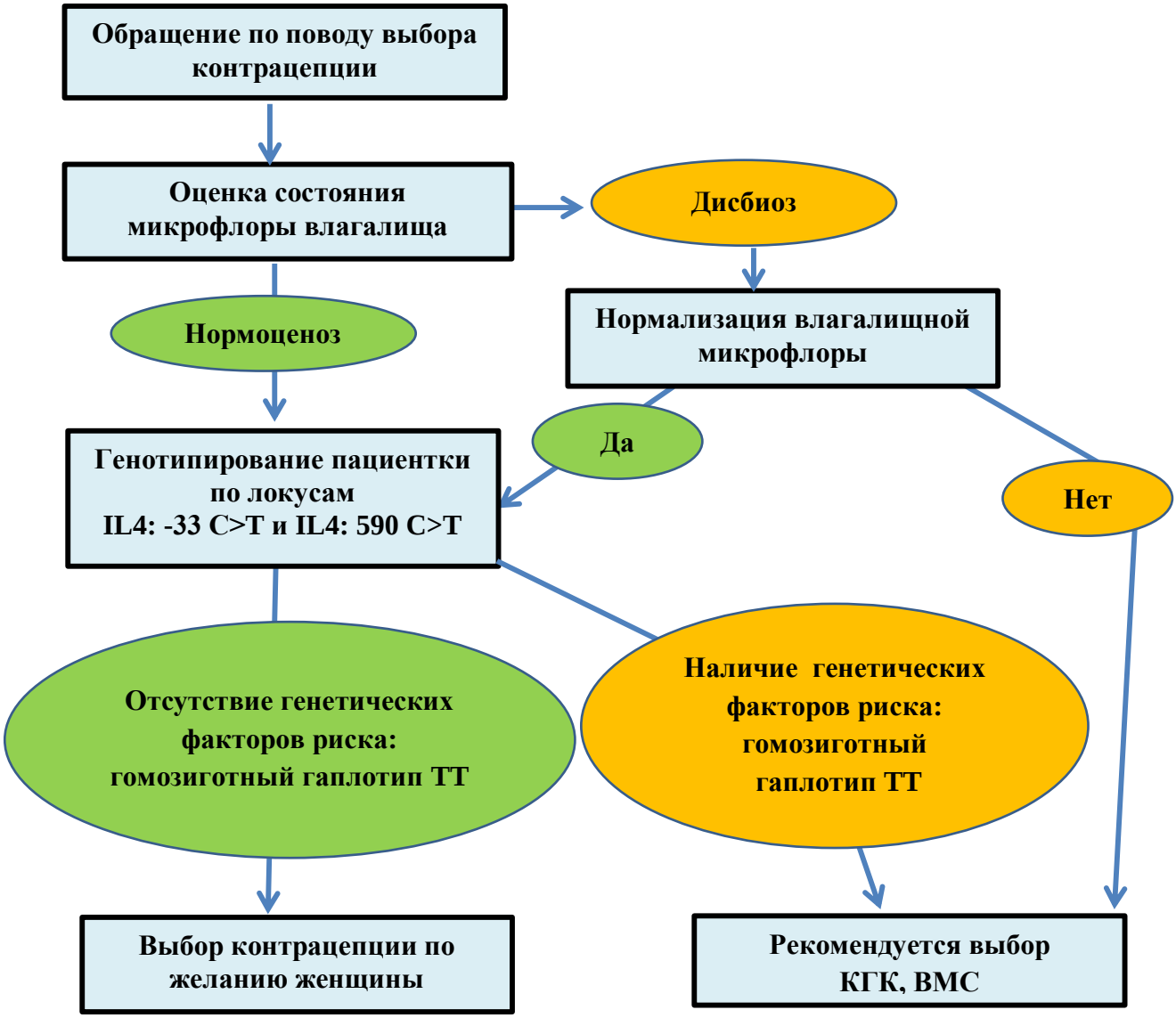
2. Дисбиоз влагалища до назначения контрацепции, является фактором риска воспалительных заболеваний влагалища на фоне контрацепции, это не является жестким ограничением при выборе метода контрацепции. Современное назначенное лечение позволяет добиться как субъективного, так и объективного улучшения. В случае выявления дисбиотических изменений микрофлоры влагалища, целесообразно проведение этиопатогенетической терапии до использования КОК, 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 pH – метрия, по результатам которой определяются дальнейшие методы диагностики («Фемофлор», микроскопия).

4. У женщин с рецидивирующим дисбиозом влагалища на фоне применения КОК целесообразно, в дополнение к клиническим методам, проводить молекулярно – генетическое исследование на наличие полиморфизма генов IL4, IL1R1, IL1RN.

5. При выявлении у пациентки дисбиоза до назначения контрацепции и гомозиготном носительстве гаплотипа TT 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.

Алгоритм ведения пациенток при назначении контрацепции с учетом разработанной модели.



СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

АД - артериальное давление

АДФ - аденозинфосфат

АЛТ - аланинтрансаминаза

АСТ - аспартаттрансаминаза

БСПС - белок, связывающий половые стероиды

ВМГС - внутриматочная гормональная рилизинг система

ВМС - внутриматочное средство

ГК - гормональная контрацепция

ГРС - гормональные рилизинг-системы

ЖКТ - желудочно-кишечный тракт

ИМТ - индекс массы тела

ИТП - индекс тромбодинамического потенциала

КПИ - кариопикнотический индекс

КЖ - качество жизни

КОК - комбинированные оральные контрацептивы

ПМС - предменструальный синдром

СЗ - симптом зрачка

СРС - симптом растяжения цервикальной слизи

ТДС - трансдермальная система

ТГ - триглицериды

УЗИ - ультразвуковое исследование

ХС - холестерин

ХС-ЛПНП - холестерин липопротеинов низкой плотности

ЕЕ - этинилэстрадиол

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Артымук, Н.В. Полиморфизм ферментов метаболизма эстрогенов у женщин с гиперпластическими процессами в эндометрии в период перименопаузы / Н.В. Артымук // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2009. – Т. 9, №2. – С. 17-20.

2. Байкова, И.Е. Лекарственное поражение печени. Болезни органов пищеварения / И.Е. Байкова, И.Г. Никитин // РМЖ. – 2009. - том 11, № 1. – С. 1.

3. Байрамова, Г.Р. Современный подход к выбору контрацепции с учетом индивидуальных потребностей женщин в разные периоды жизни / Г.Р. Байрамова, И.И. Баранов, А.С. Каткова, Л.А. Нестерова // Акушерство и гинекология. – 2016. - №1. – С. 27-30.

4. Баранов, В.С. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины / В.С. Баранов. - СПб., Н-Л, 2009. – 528 с.

5. Белякина, И.В. Влияние различных методов контрацепции на микробиоценоз влагалища и качество жизни женщин: дисс. … канд. мед. наук: 14.01.01 / Белякина Ирина Владимировна. - М., 2013. – 173 с.

6. Бороян, Р.Г. Клиническая фармакология для акушеров-гинекологов - 3-е изд., перераб. и доп. / Бороян Р.Г. - М.: Практическая медицина, 2008. - 169 с.

7. Будиловская, О.В. Видовое разнообразие вагинальных лактобацилл в норме и при дисбиотических состояниях / О.В. Будиловская, Е.В. Шипицына, Е.Н. Герасимова и др. // Журнал акушерства и женских болезней. — 2017. — Т. 66, №2. — С. 24-32.

8. Буеверов, А.О. Лекарственные поражения печени / А.О. Буеверов // РМЖ. – 2012. - №3. – С. 107.

9. Бурменская, О.В. Состояние локального иммунитета при хроническом рецидивирующем вульвовагинальном кандидозе / О.В. Бурменская, Г.Р. Байрамова, О.С. Непша и др. // Акуш. и гинекол. – 2011. -

№1. – С. 52–56.

10. Вахитова, Ю.В. Анализ полиморфизма гена глутатион-Б-трансферазы в популяциях Волго-Уральского региона / Ю.В. Вахитова, З.М. Султанаева, Т.В. Викторова и др. // Генетика. - 2001. - Т. 37, № 2. - С. 268 - 270.

11. Ворошилина, Е.С. Биоценоз влагалища с точки зрения количественной ПЦР: что есть норма? / Е.С. Ворошилина, Л.В. Тумбинская, А.Е. Донников и др. // Акуш. и гинекол. – 2011. - №1. – С. 57–65.

12. Габидуллина, Р.И. Эффекты комбинированной оральной контрацепции на микробиоту влагалища / Р.И. Габидуллина, Р.Р. Багирли, А.М. Шарапова, Э.И. Галимьянова // Практическая медицина. - 2018. - Том 16, № 6. - С. 106-110.

13. Доброхотова, Ю.Э. Гормональный статус и микробиоценоз влагалища / Ю.Э. Доброхотова, Н.Г. Затикян // Оржин. — 2008. — №2(2). — С. 7-9.

14. Иванова, Е.В. Прогнозирование осложнений и побочных эффектов при применении гормональной контрацепции у женщин репродуктивного возраста: дисс. … канд. мед. наук: 14.01.01 / Иванова Елена Владимировна. - М., 2016. – 173 с.

15. Ивашкин, В.Т. Болезни печени и желчевыводящих путей: Руководство для врачей / Ивашкин В.Т. – М.: Издательский дом «М-Вести», 2005. - 536 с.

16. Карахалис, Л.Ю. Персонифицированный выбор гормональной контрацепции / Л.Ю. Карахалис // Гинекология. – 2018. - №20 (4). – С. 52–54. DOI: 10.26442/2079-5696_2018.4.52-54.

17. Карахалис, Л.Ю. Контрацептивные и неконтрацептивные эффекты дроспиренона / Л.Ю. Карахалис, А.Р. Жигаленко, Е.И. Стебло // Репродукт. здоровье детей и подростков. - 2015. - № 2. - С. 73–77.

18. Караченцев, А.Н. Гепатобилиарная система как мишень нежелательных эффектов лекарственных эстрогенов и гестагенов / А.Н.

Караченцев // Российский вестник акушера – гинеколога. – 2004. - №6. – С. 20–25.

19. Кира, Е.Ф. Комбинированная терапия инфекционных заболеваний женских половых органов / Е.Ф. Кира // Гинекология. – 2010. – т.12 (1). – С. 26–29.

20. Кирющенков, П.А., Тамбовцева М.А. Рациональная конрацепция: как свести риск к минимуму? / П.А. Кирющенков, М.А. Тамбовцева // Гинекология. - 2015. - № 2. - С. 41–44.

21. Корчагина, Р.П. Полиморфизм генов биотрансформациикcенобиотиков GSTM1, GSTT1, CYP2D6, вероятных маркеров риска онкологических заболеваний, в популяциях коренных этносов и русских Северной Сибири / Корчагина Р.П., Осипова Л.П., Вавилова Н.А. и др. // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2011. - Том 15, № 3. - 449 с.

22. Кузнецова, И.В. Персональный подбор гормональной контрацепции / И.В.Кузнецова // Гинекология. – 2017. – т.19(4). – С. 36–43. DOI: 10.26442/2079-5696_19.4.36-43

23. Кукес, В.Г. Метаболизм лекарственных средств: клинико-фармакологические аспекты — Научная монография / Кукес В.Г. - М.: Реафарм, 2004. – С. 113–120.

24. Кукес, В.Г. Метаболизм лекарственных средств. Научные основы персонализированной медицины: руководство для врачей / Кукес В.Г., Грачев С.В., Сычев Д.А., Раменская Г.В. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. - 304 с.

25. Кукес, В.Г. Изучение биотрансформации лекарственных средств — путь к повышению эффективности и безопасности фармакотерапии / В.Г. Кукес, Д.А. Сычев, Е.В. Ших // Врач— 2007. — № 1. – С. 6–8.

26. Ляхович, В.В. Геномная медицина и новые подходы к диагностике и лечению онкозаболеваний / В.В. Ляхович, В.А. Вавилин, А.Ю. Гришанова и др. // Бюллетень СО РАМН. – 2004. - Т. 112, № 2. - С. 20-26.

27. Медицинские аспекты женского здоровья. Ведение женщин с кровотечениями, использующих гормональные контрацептивы // Руководство Королевского колледжа акушеров и гинекологов. - Великобритания. – 2012. - 1-3. – С. 17-47.

28. Мураков, С.В. Бактериальный вагиноз у пациенток при нарушениях местной иммунологической реактивности / С.В. Мураков // Рос. журн. кожных и венерических болезней. – 2014. - №1. – С. 62–64.

29. Национальные медицинские критерии приемлемости методов контрацепции. - М., 2012. – 21 с.

30. Нижевич, А.А. Изучение полиморфизма генов, ответственных за метаболизм ингибиторов протонной помпы у детей с H.Pylori инфекцией: есть ли связь с эффективностью эрадикационной терапии? / А.А. Нижевич, Б.Б. Юнусбаев, М.М. Туйгунов и др. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2009. - №3. – С. 101.

31. Олина, А.А. Гормональная контрацепция: алгоритм выбора / А.А. Олина, Т.А. Метелева // РМЖ. Мать и дитя. - 2019. - №2. – С. 76-82.

32. Пестрикова, Т.Ю. Современные особенности репродуктивного поведения молодежи Сахалинской области / Т.Ю. Пестрикова, В.А. Пруд // Дальневосточный медицинский журнал. - 2014. - № 1. - С. 100–102.

33. Подзолкова, Н.М. Мифы о контрацепции в современной России / Н.М. Подзолкова, Л.В. Ерофеева, Э.М. Сафина, Л.В. Сумятина // Фарматека. - 2014. - № 12. - С. 8–11.

34. Подзолкова, Н.М. Гормональная контрацепция и сердечно-сосудистый риск / Н.М. Подзолкова, В.И. Подзолков, М.В. Писарев // Гинекология. — 2012. — Т. 14, №5. — С. 22–29.

35. 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. - 17 (2). – С. 4–13.

36. Прилепская, В.Н. Современная контрацепция: от профилактике к

эффективному лечению / В.Н. Прилепская, Е.Г. Назаренко // Медицинский оппонент. – 2018. - №2. – С. 62-68.

37. Прилепская, В.Н. Контрацепция и фолаты: новые возможности профилактики и лечения / В.Н. Прилепская, Е.Г. Назаренко // Гинекология. 0 2018. - №1(20). – С. 47-49.

38. Прилепская, В.Н. Пролонгированная контрацепция. Современные возможности, эффективность, перспективы / В.Н. Прилепская, Ю.С. Хлебова // Гинекология. – 2016. - №1(18). – С. 88-91.

39. Пруд, В.А. Гормональная контрацепция как один из самых эффективных и популярных методов предохранения от нежелательной беременности / В.А. Пруд // Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2016. - №1. – С. 44-52.

40. Пустотина, О.А. Современная гормональная контрацепция: эволюция и тромбофилические риски. Эффективная фармакотерапия / О.А. Пустотина // Акушерство и гинекология. – 2014. - №4 (45). – С. 11-15.

41. Пустотина, О.А. Эволюция гормональной контрацепции / О.А. Пустотина // Фарматека. - 2015. - № 3. - С. 15–21.

42. Рыбина, Е.В. Современные методы оценки микробиоценоза влагалища / Е.В. Рыбина // Журнал акушерства и женских болезней. – 2015. – т. LXIV, вып. 1. – С. 53-66.

43. Середенин, С.Б. Лекции по фармакогенетике / Середенин С.Б. – М.:МИА, 2004 – 303 с.

44. Серов, В.Н. Комбинированная оральная контрацепция: дифференцированный выбор и лечебные аспекты / В.Н. Серов, Ю.Ю. Соколова // Русский медицинский журнал. – 2010. - №19. – С. 1196-1999.

45. Серов, В.Н. Гормональная контрацепция как метод реабилитации после абортов / В.Н. Серов // Гинекология. – 2010. - №2(12). – С. 26-28.

46. Серов, В.Н. Комбинированная оральная контрацепция: дифференцированный выбор и лечебные аспекты / В.Н. Серов, Ю.Ю.

Соколова // РМЖ. Мать и дитя. – 2010. - №19(18). – С. 1196-1198.

47. Сумятина, Л.В. Современные гормональные контрацептивы: новые возможности выбора / Л.В. Сумятина // Пробл. репродукции. - 2014. - № 6. - С. 46–48.

48. Тихомиров, А.Л. Эволюция комбинированной гормональной контрацепции / А.Л. Тихомиров, А.Е. Батаева // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. - 2011. – Т. 10, №1,4,5. – С. 11–14.

49. Тумбинская, Л.В. Особенности биоценоза влагалища у женщин с нормальным и промежуточным типом мазка по результатам полимеразной цепной реакции в режиме реального времени / Л.В. Тумбинская, Е.С. Ворошилина, А.Е. Донников и др. // Акуш. и гинекол. – 2011. - №1. С. 66–70.

50. Уварова, Е.В. Гормональная контрацепция в подростковом периоде жизни / Е.В. Уварова // Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2018. - Том 14, № 2. – С. 78-104.

51. Урумбаева, К.У. Влияние различных видов контрацепции на микрофлору влагалища // К.У. Урумбаева, Б.Н. Бищекова, Х.Н. Орымбекова и др. // Фармация Казахстана. – 2016. -№3(178). – С. 15-17.

52. Филиппова, И. От продуманной контрацепции – к осознанному материнству / И. Филиппова // Ремедиум. - 2015. - № 5. - С. 30–34.

53. Харенкова, Е.Л. Генетический полиморфизм ферментов метаболизма эстрогенов у женщин с гиперпластическими процессами эндометрия в перименопаузе / Е.Л. Харенкова, Н.В. Артымук, Е.В. Иленко // Сибирский научный медицинский журнал. – 2009. - № 2. – С. 5-8 .

54. Хрунин, А.В. Полиморфизм генов глутатион-Б-трансфераз в популяциях русского населения Европейской части России / А.В. Хрунин, Д.В. Хохрин, С.А. Лимборская // Генетика. - 2008. - Т. 44. - С. 1429 - 1434.

55. Чечулина, О.В. Персонифицированный подход к выбору метода контрацепции / О.В. Чечулина, О.В. Данилова // Практическая медицина. - 2018. – т. 16(9). – С. 40-42.

56. Чижова, Г.В. Мотивации женщин к принятию решения о

производстве аборта / Г.В. Чижова, В.Г. Дьяченко, Н.В. Шиганцова // Здравоохр. Дальнего Востока. - 2014. - № 3. - С. 28–32.

57. Шахламова, М.Н. Оральная контрацепция с использованием «натуральных» гормонов: эффективность и безопасность / М.Н. Шахламова, Л.Д. Белоцерковцева, А.И. Давыдов // Вопр. гин., акуш. и перинатол. - 2014. - № 6. - С. 58–64.

58. Шибина, Л.В. Экспрессия генов TLR2 и TLR9 эпителиальными клетками слизистой оболочки цервикального канала у женщин с воспалительными заболеваниями органов малого таза / Л.В. Шибина, О.А. Свитич, Л.И. Краснопрошина и др. // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2013. - №3. – С. 68–72.

59. Юдина, М.А. Методы коррекции местного иммунитета у больных с бактериальным вагинозом / М.А. Юдина // Рос. вестн. акушера-гинеколога. – 2013. – т. 13 (6). – С. 74–76.

60. Aroutcheva, A.A. Antimicrobial protein produced by vaginal Lactobacillus acidophilus that inhibits Gardnerella vaginalis / A.A. Aroutcheva, J.A. Simoes, S. Faro // Infect. Dis. Obstet. Gynecol. — 2001. — Vol. 9, №1. — P. 33-39.

61. Bageman, E. Coffee consumption and CYP1A2*1F genotype modify age at breast cancer diagnosis and estrogen receptor status / E. Bageman, C. Ingvar, C. Rose, H. Jernstrom // Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. – 2008. - Vol. 17(4). – P. 895-901.

62. Barnhart, K.T. Return to fertility following discontinuation of oral contraceptives / K.T. Barnhart, C.A. Schreiber // Fertil and Steril. — 2009. — Vol. 91. — №3. — P. 659–663.

63. Bitzer, J. Current issues and available options in combined hormonal contraception / J. Bitzer, J.A. Simon // Contraception. - 2011. - Vol. 84. - P. 342–356.

64. Brooks, G. Medical microbiology / Brooks G., Butel J., Morse S. - The McGraw Hill Companies, Inc, 2007. – 800 p.

65. Brooks, J.P. Effects of combined oral contraceptives, depot medroxyprogesterone acetate and the levonorgestrel-releasing intrauterine system on the vaginal microbiome / J.P. Brooks, D.J. Edwards, D.L. Blithe et al. // Contraception. — 2017. — Vol. 95, №4. — P. 405-413.

66. Bulun, S.E. Mechanisms of excessive estrogen formation in endometriosis / S.E. Bulun, B. Gurates, Z. Fang et al. // Journal of Reproductive Immunology. – 2002. – Vol. 55, №1-2. – P. 21-33.

67. Campisi, J. Stress-induced extracellular Hsp72 is a functionally significant danger signal to the immune system / J. Campisi, T.H. Leem, M. Fleshner // Cell Stress Chaperones. – 2003. - Vol. 8. – P. 272-86.

68. Christin-Maitre, S. Comparison of a 24-day and a 21-day pill regimen for the novel combined oral contraceptive, nomegestrol acetate and 17β-estradiol (NOMAC/E2): a doubleblind, randomized study / S. Christin-Maitre, D. Serfaty, N. Chabbert-Buffet et al. // Hum. Reprod. - 2011. - Vol. 26, № 6. - P. 1338–1347.

69. Cone, R.A. Vaginal microbiota and sexually transmitted infections that may influence transmission of cell-associated HIV / R.A. Cone // J Infect Dis. – 2014. - Vol. 210(3). – P. 616–621. doi:10.1093/infdis/jiu459.

70. Dasari, S. Role of microbial flora in female genital tract: A comprehensive review / S. Dasari, S.K. Anandan, W. Rajendra, L. Valluru // Asian Pac J Trop Dis – 2016. - Vol. 6(11). – P. 909-917.

71. De Seta, F. Effects of hormonal contraception on vaginal flora / F. De Seta, S. Restainoa, D. De Santoa // Contraception. — 2012. — №86. — P. 526-529.

72. De Seta, F. Effects of estroprogestins, containing natural estrogen on vaginal flora / F. De Seta, S. Restaino, R. Banco et al. // Gynecol. Endocrinol. — 2014. — Vol. 30, №11. — P. 830-835.

73. Deb, S. Quantifying effect of combined oral contraceptive pill on functional ovarian reserve as measured by serum anti-Mullerian hormone and small antral follicle count using three-dimensional ultrasound / S. Deb // Ultrasound. Obstet. Gynecol. — 2012. — Vol. 39. — P. 574–580.

74. Demir, A. The frequency of GSTT1 null genotype in Turkish population and lung cancer risk / A. Demir, S. Altin, I. Demir et al. // Original Communication. - 2005. - Vol. 11(2). - P. 89-93.

75. Ding, X. Human extrahepatic cytochromes P450: function in xenobiotic metabolism and tissue-selective chemical toxicity in the respiratory and gastrointestinal tracts / X. Ding, L.S. Kaminsky // Annu Rev Pharmacol Toxicol. – 2003. - Vol. 43. – P. 149-173.

76. Dossus, L. Reproductive risk factors and endometrial cancer: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition / L. Dossus, N. Allen, R. Kaaks et al. // Int J Cancer. – 2010. - Vol. 127 (2). – P. 442–451.

77. Egarter, C. Contraceptive counselling and factors affecting women's contraceptive choices: results of the CHOICE study in Austria / C. Egarter, C. Grimm, K. Nouri et al. // Reprod. Biomed. Online. - 2012. - Vol. 24(7). - P. 692–697.

78. Eschenbach, D.A. Effects of oral contraceptive pill use on vaginal flora and vaginal epithelium / D.A. Eschenbach, D.L. Patton, A. Meier et al. // Contraception. — 2000. — №62. — P. 107-112.

79. Evans, W.E. Pharmacogenomics — Drug Disposition, Drug Targets, and Side Effects, Review Article, Drug Therapy / W.E. Evans, H.L. McLeod // N Engl J Med. – 2003. - Vol. 348. – P. 538-549.

80. European Society of Human Reproduction and Embryology. Future reproductive lifespan may be lessened in oral contraceptive users: Lower measures of ovarian reserve. - ScienceDaily. — 2014.

81. Fazeli, A. Characterization of Toll-like receptors in the female reproductive tract in humans / A. Fazeli, C. Bruce, D.O. Anumba // Hum Reprod. – 2005. - Vol. 20. – P. 1372-1378.

82. Fosch, S.E. Contraception: Influence on Vaginal Microbiota and Identification of Vaginal Lactobacilli Using MALDI-TOF MS and 16S rDNA Sequencing / S.E. Fosch, C.A. Ficoseco, A. Marchesi et al. // Open Microbiol. J. — 2018. — №12. — P. 218-229.

83. Fosch, S. Influence of contraception on basic vaginal states: A prospective study / S. Fosch, C. Yones, M. Trossero et al. // Health. — 2015. — №7. — P. 238-244.

84. Frova, C. Glutathione Transferases in the Genomics Era: New Insights and Perspectives / C. Frova // Biomolecular Engineering. – 2006. - Vol. 23. – P. 149-169.

85. Gallo, M.F. Combination contraceptives: effects on weight / M.F. Gallo, L.M. Lopez, D.A. Grimes et al. // Corhrane Database Syst. Rev. – 2008. – № 4. CD 003987.

86. Ganz, T. Defensins in the urinary tract and other tissues / T. Ganz // J Infect Dis 2001. - Vol. 183. - P. 41-42.

87. Gardiner, S.J. Pharmacogenetics, Drug-Metabolizing Enzymes, and Clinical Practice / S.J. Gardiner, E.J. Begg // Pharmacol Rev. – 2006. - Vol. 58. – P. 521-590.

88. Geisler, S.A. GSTM1, GSTT1, and the risk of squamous cell carcinoma of the head and neck: A mini-HuGE review / S.A. Geisler, A.F. Olshan // American J. of Epidemiology. - 2001. - Vol. 154(2). - P. 95-105.

89. Gomaa, E. Z. Antimicrobial and anti-adhesive properties of biosurfactant produced by lactobacilli isolates, biofilm formation and aggregation ability / E. Z. Gomaa // J. Gen Appl. Microbiol. — 2013. — №59. — P. 425-436.

90. Gorodeski, G.I. Estrogen acidifies vaginal pH by up-regulation of proton secretion via the apical membrane of vaginal-ectocervical epithelial cells / G.I. Gorodeski, U. Hopfer, C.C. Liu, E. Margles // Endocrinol. — 2005. — Vol. 146(2). — P. 816-824.

91. Hancock, R.E. Cationic peptides: effectors in innate immunity and novel antimicrobials / R.E. Hancock // Lancet Infect Dis. – 2000. - Vol. 1. – P. 156-164.

92. Hatcher, R.A. Contraceptive Technology / R.A. Hatcher, J. Trussel, A.L. Nelson et al. // 19th revised ed. New York, NY: Ardent Media. - 2007.

93. Hel, Z. Sex steroid hormones, hormonal contraception, and the

immunobiology of human immunodeficiency virus-1 infection / Z. Hel, E. Stringer, J. Mestecky // Endocr. Rev. — 2010. — №31. — P. 79-97.

94. Hooper, D.J. Attitudes, awareness, compliance and preferences among hormonal contraception users: a global, cross-sectional, self-administered, online survey / D.J. Hooper // Clin. Drug. Investig. - 2010. - Vol. 30. - P. 749–763.

95. Ingelman-Sundberg, M. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoepigenetic and clinical aspects. / M. Ingelman-Sundberg, S.C. Sim, A. Gomez, C. Rodriguez-Antona // Pharmacol Ther. – 2007. - Vol. 116. – P. 496-526.

96. Lanktree, B.M. Meta-analysis of Dense Genecentric Association Studies Reveals Common and Uncommon Variants Associated with Height / B.M. Lanktree, Y. Guo, M. Murtaza et al. // American Journal of Human Genetics. – 2011. - Vol. 88(1). – P. 6-18.

97. Levin, R.J. Measuring female genital functions — A research essential but still a clinical luxury? / R.J. Levin // Sex Relationship Ther. — 2004. — №19. — P. 191-200.

98. Lopez, L.M. Skin patch and vaginal ring versus combined oral contraceptives for contraception / L.M. Lopez, D.A. Grimes, M.F. Gallo, K.F. Schulz // Cochrane Database Syst. Rev. — 2010. — №3.

99. Luoma, P.V. Cytochrome P450~physiological key factor against cholesterol accumulation and the atherosclerotic vascular process / P.V. Luoma // Ann Med. – 2007. - Vol. 39. – P. 359-370.

100. Machado, J.R. Mucosal immunity in the female genital tract, HIV/AIDS / J.R. Machado, M.V. da Silva, C.L. Cavellani et al. // Biomed Res Int. – 2014. - Vol. 2014. - 350195.

101. Madan, A. In vitro approaches for studying the inhibition of drug-metabolizing enzymes and indentifying the drug-metabolizing enzymes responsible for the metabolism of drugs in Drug-Drug Interactions / A. Madan, E. Usuki, L. Burton, B. Ogilvie, A. Parkinson // In: From Basic Pharmacokinetic Concepts to Marketing Issues (ed. Rodrigues, A.D.), Merkel Dekker Inc., West

Point, USA. – 2007. – P. 217-294.

102. McLellan, R.A. Characterization of a human glutathione S-transferase)i cluster containing a duplicated GSTM1 gene that causes ultra rapid enzyme activity / R.A. McLellan, M. Oscarson, A.-K. Alexandrie et al. // Molecular Pharmacology. – 1997. - Vol. 52(6). - P. 958 - 965.

103. Medical eligibility criteria for contraceptive use, 5th ed. — Geneva: WHO, 2015. — 276 p.

104. Meisel, P. Arylamine N-acetyltransferases and drug response / P. Meisel // Pharmacogenomics. – 2002. - Vol. 3. – P. 349-366.

105. Mestecky, J. Immunologic uniqueness of the genital tract: challenge for vaccine development / J. Mestecky, Z. Moldoveanu, M.W. Russell // Am J Reprod Immunol. – 2005. - Vol. 53(5). – P. 208-214.

106. Mogensen, T.H. Pathogen recognition and inflammatory signalling in innate immune defenses / T.H. Mogensen // Clin Microbiol Rev. – 2009. - Vol. 22. - 240-273.

107. Morison, L. Bacterial vaginosis in relation to menstrual cycle, menstrual protection method, and sexual intercourse in rural Gambian women / L. Morison, G. Ekpo, B. West et al. // Sex Transm. Infect. — 2005. — №81. — P. 242-247.

108. Muti, P. Estrogen metabolism and risk of breast cancer: a prospective study of the 2:16alpha-hydroxyestrone ratio in premenopausal and postmenopausal women. / P. Muti, H.L. Bradlow, A. Micheli et al. // Epidemiology Nov. - 2000. - Vol. 11(6). – P. 635-640.

109. Nebert, D.W. The P-450 gene superfamily: recommended nomenclature / D.W. Nebert, M. Adesnik, M.J. Coon // DNA.— 1987. - Vol. 6. – P. 1–11.

110. Ng, S.C. Mechanisms of action of probiotics: Recent advances / S.C. Ng, A.L. Hart, M.A. Kamm et al. // Inflamm Bowel Dis. — 2009. — Vol. 15(2). — P. 300-310.

111. Oddsson, K. Efficacy and safety of a contraceptive vaginal ring

(NuvaRing) compared with a combined oral contraceptive: a 1-year randomized trial / K. Oddsson, B. Leifels-Fischer, N.R. De Melo et al. // Contraception. — 2005. — №7. — P. 176-182.

112. Orfanelli, T. Human epididymis protein 4 and secretory leukocyte protease inhibitor in vaginal fluid: relation to vaginal components and bacterial composition / T. Orfanelli, A. Jayaram, G. Doulaveris et al. // Reprod Sci. – 2014. - Vol. 21(4). – P. 538-542.

113. Packiam, M. Protective role of Toll-like receptor 4 in experimental gonococcal infection of female mice / M. Packiam, H. Wu, S.J. Veit et al. // Mucosal Immunol. - 2012. - Vol. 5. – P. 19-29.

114. Pavlova, S.I. Genetic diversity of vaginal lactobacilli from women in different countries on 16S rRNA gene sequences / S.I. Pavlova, A.O. Kilic, J.S. So et al. // J. App. Microbiol. — 2002. — Vol. 92(3). — P. 451-459.

115. Petzinger, E. Drug transporters in pharmacokinetics / E. Petzinger, J. Geyer // Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. – 2006. - Vol. 372. – P. 465-475.

116. Qualye, A.J. The innate and early immune response to pathogen challenge in the female genital tract and the pivotal role of epithelial cells / A.J. Qualye // J Reprod Immunol. – 2002. - Vol. 57. – P. 61-79.

117. Rasmussen, B.B. The interindividual differences in the 3-demthylation of caffeine alias CYP1A2 is determined by both genetic and environmental factors. / B.B. Rasmussen, T.H. Brix, K.O. Kyvik, K. Brosen // Pharmacogenetics. 2002. - Vol. 12. – P. 473-478.

118. Read, C.M. New regimens with combined oral contraceptive pills: moving away from traditional 21/7 cycles / C.M. Read // Eur. J. Contracept. Reprod. Health Care. - 2010. - Vol. 15. - P. 32–41.

119. Roy, S. The effect of a contraceptive vaginal ring and oral contraceptives on the vaginal flora / S. Roy, J. Wilkins, D.R. Mishell // Contraception. — 1981. — №24. — P. 481-491.

120. Roumen, F.J. The contraceptive vaginal ring, NuvaRing ®, a decade

after its introduction / F.J. Roumen, D.R. Mishell // Eur. J. Contracept. Reprod. Health Care. - 2012. - Vol. 17(6). - P. 415–427.

121. Roura, E. The influence of hormonal factors on the risk of developing cervical cancer and pre-cancer: results from the EPIC cohort / E. Roura // PLoS One. — 2016. — Vol. 11(1). — P. e0147029. PMID: 26808155.

122. Sentman, C.L. NK cell function in the human female reproductive tract / C.L. Sentman, C.R. Wira, M. Eriksson // Am J Reprod Immunol. – 2007. - Vol. 57. – P. 108-115.

123. Setiawan, V.W. GSTT1 and GSTM1 null genotypes and the risk of gastric cancer: a case-controlstudy in a Chinese population / V.W. Setiawan, Z.F. Zhang, G.P. Yu et al. // Cancer Epidemial Biomarkers Prev. - 2000. - Vol. 9(1). - P. 73-80.

124. Sitruk-Ware, R. Contraception technology: past, present and future / R. Sitruk-Ware, A. Nath, D.R. Mishell // Contraception. – 2013. - Vol. 87(3). – P. 319–330.

125. Sisti, G. Interaction between the inducible 70-kDa heat shock protein and autophagy: effects on fertility and pregnancy / G. Sisti, T.T. Kanninen, I. Ramer, S.S. Witkin // Cell Stress Chaperones. - 2015. - Vol. 20(5). - 753-758.

126. Srinivasan, S. Temporal variability of human vaginal bacteria and relationship with bacterial vaginosis / S. Srinivasan, C. Liu, C.M. Mitchell et al. // PLoS One. — 2010. — №5. — P. e10197.

127. Straub, R.H. The complex role of estrogens in inflammation / R.H. Straub // Endocr. Rev. — 2007. — №28. — P. 521-574.

128. Sweeney, B.P. Liver enzyme induction and inhibition: implications for anaesthesia / B.P. Sweeney, J. Bromilow // Anaesthesia. – 2006. - Vol. 61. – P. 159-177.

129. Tamer, L. Glutathione-S-transferase gene polymorphisms (GSTT1, GSTM1, GSTP1) as increased risk factors for asthma / L. Tamer, M. Calikoglu, N.A. Ates et. al. // Respirology. - 2004. - Vol. 9. - P. 493 - 498.

130. Trussell, J. Burden of unintended pregnancy in the United States:

potential savings with increased use of long-acting reversible contraception / J. Trussell, N. Henry, F. Hassan et al. // Contraception. - 2013. Vol. 87(2). P. - 154–161.

131. Trussell, J. Reducing unintended pregnancy in the United States / J. Trussell, L.L. Wynn // Contraception. - 2008. - Vol. 77. - P. 1–9.

132. Utsunomiya, H. Steroid sulfatase and estrogen sulfotransferase in human endometrial carcinoma / H. Utsunomiya, K. Ito, T. Suzuki et al. // Clin Cancer Res. – 2004. - Vol. 10(17). – P. 5850- 5656.

133. Van Vlijmen, E.F. Thrombotic risk during oral contraceptive use and pregnancy in women with factor V Leiden or prothrombin mutation: a rational approach to contraception / E.F. Van Vlijmen, N. Veeger, S. Middeldorp et al. // Blood. — 2011. — Vol. 118(8). — P. 2055–2061. PMID: 21659542.

134. Ventolini, G. New insides on vaginal immunity and recurrent infections / G. Ventolini // J Genit Syst Disor. – 2013. - Vol. 2. – P. 1.

135. Veres, S. A comparison between the vaginal ring and oral contraceptives / S. Veres, L. Miller, B. Burington // Obstet. Gynecol. — 2004. — №104. — P. 555-563.

136. Vodstrcil, L.A. Hormonal contraception is associated with a reduced risk of bacterial vaginosis: A systematic review and meta-analysis / L.A. Vodstrcil, J.S. Hocking, M. Law et al. // PloS One. — 2013. — Vol. 8(9). — P. e 73055.

137. Wang, Q. Antiapoptotic effects of estrogen in normal and cancer human cervical epithelial cells / Q. Wang, X. Li, L. Wang et al. // Endocrinology. – 2004. - Vol. 145(12). – P. 5568-5579.

138. Wang, J. Lactobacillus inhibit adhesion of Staphylococcus aureus to HeLa cells. Sheng wu gong cheng xue bao / J. Wang, R. Zhang, L. Zhou et al. // Chinese J Biotechnol. – 2012. - Vol. 28 (6). – P. 715–725.

139. Wells, P.G. Glucuronidation and the UDP-glucuronosyltransferases in health and disease / P.G. Wells, P.I. Mackenzie, J.R. Chowdhury et al. // Drug Metab Dispos. – 2004. - Vol. 32. – P. 281-290.

140. WHO. Medical eligibility criteria for contraceptive use. Fouth

edition, 2009. - 125 p.

141. Witkin, S.S. Bacterial flora of the female genital tract: function and immune regulation / S.S. Witkin, I.M. Linhares, P. Giraldo // Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol – 2007. - Vol. 21. – P. 347-354.