

2
НОМЕР

БОИЦ

ISSN 2304-9081

ЭЛЕКТРОННЫЙ ЖУРНАЛ

<http://www.elmag.uran.ru>

БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УРО РАН

Оренбургская область
Гора Змеиная
Вельмовский П.В.



2023

УЧРЕДИТЕЛЬ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ОРЕНБУРГСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

© Коллектив авторов, 2023

УДК 579.65

Д.В. Комиссарова¹, В.К. Ильин¹, Т.В. Припутневич²,
В.В. Муравьёва², К.Н. Жигалова²

ПРЕБИОТИЧЕСКИЕ И ПРОБИОТИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ КОРРЕКЦИИ МИКРОБИОТЫ ВЛАГАЛИЩА У УЧАСТНИЦ НАЗЕМНЫХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ, МОДЕЛИРУЮЩИХ ОТДЕЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ КОСМИЧЕСКОГО ПОЛЁТА

¹ Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем Российской Академии Наук, Москва, Россия

² Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова, Москва, Россия

Цель. Оценить состояние микрофлоры влагалища и цервикального канала у женщин-испытательниц изоляционных экспериментов различной продолжительности, а также испытательниц экспериментов «сухой» иммерсии, а также эффективность различных способов профилактики дисбиозов половой системы.

Материалы и методы. Проанализированы данные по составу вагинальной микрофлоры и микрофлоры цервикального канала у испытательниц 14-суточного и 8-месячного изоляционного эксперимента, а также 3-суточной и 5-суточной «сухой» иммерсии. Во всех экспериментах, кроме 5-суточной «сухой» иммерсии не применялись средства коррекции и профилактики дисбиозов. В 5-суточной «сухой» иммерсии в качестве перорального средства профилактики дисбиозов использовался лактоферрин, в качестве местного – свечи на основе *Lactobacillus acidophilus*. Образцы вагинального отделяемого и отделяемого цервикального канала брались до начала эксперимента и после окончания (для 5-суточной «сухой» иммерсии была предусмотрена третья точка – спустя месяц после окончания исследований). Точки взятия биоматериала синхронизировались так, чтобы у каждой они попадали на определённые дни цикла. Всем испытательницам выполнена микроскопия вагинального отделяемого, окрашенного по Граму, и культуральное исследование в соответствии с медицинской технологией «Интегральная оценка состояния микробиоты влагалища. Диагностика оппортунистических вагинитов». Видовую идентификацию микроорганизмов проводили методом MALDI-TOF-MS анализа с использованием времяпролётного масс-спектрометра Autoflex III с программным обеспечением Maldi BioTyper (Bruker Daltonics; Германия) версии 4.0. Полученные данные проанализированы с помощью дискриминантного и дисперсионного анализов, непараметрического критерия Мак-Нимара, критерия хи-квадрат, непараметрических критериев Фридмана, Манна-Уитни, Краскеля-Уоллиса. Статистическая обработка проводилась в программе STATISTICA 12.

Результаты. В результате проведённых исследований было выявлено, что состояние микробиоты влагалища и цервикального канала ухудшается как в изоляционных экспериментах (вне зависимости от продолжительности изоляции), так и в «сухой» иммерсии (как в 3-суточной, так и в 5-суточной в группе, не использовавший средства профилактики). В изоляционных экспериментах отмечалось увеличение количества всех условно-патогенных видов микроорганизмов, в то время как в «сухой» иммерсии имелась тенденция к увеличению количества аэробных и факультативно-анаэробных видов микроорганизмов и снижению количества анаэробных условно-патогенных видов. Лактоферрин, применённый в качестве перорального средства профилактики, оказывал положительное действие на микрофлору влагалища на +30 сутки после окончания «сухой» иммерсии: было отмечено увеличение количества лактобацилл по сравнению с плацебной группой. У испытательниц, которые использовали пробиотические свечи на основе ацидофильных лактобацилл, количество условно-патогенных видов микроорганизмов сразу после окончания иммерсии было больше, чем в других группах, в то время как к +30 суткам после

окончания эксперимента данные различия нивелировались. Комбинация лактоферрина и местных пробиотических свечей не дала выраженного заметного эффекта.

Заключение. Суммируя выше сказанное, можно сделать вывод о том, что лактоферрин имеет пролонгированное положительное действие на микрофлору влагалища, при этом наиболее быстрым и эффективным средством является местное пробиотическое средство – вагинальные свечи. Поскольку комбинация лактоферрина и местных пробиотических свечей не дала выраженного заметного эффекта, что может быть связано как с небольшой выборкой, так и с отсутствием синергического эффекта данных двух препаратов, вероятно, наиболее эффективным представляется использование аутопробиотических свечей в качестве местного средства профилактики, как средства, которое будет действовать быстрее, чем пероральный пробиотик, и более эффективно, чем коммерческий препарат на основе ацидофильных лактобацилл. На данный момент это является предметом дальнейших исследований.

Ключевые слова: пробиотики, искусственная среда обитания, наземные модельные эксперименты, космическая микробиология.

D.V. Komissarova¹, V.K. Ilyin¹, T.V. Pripitnevich²,
V.V. Muravieva², Zhigalova K.N.²

PREBIOTIC AND PROBIOTIC METHODS FOR CORRECTION OF THE VAGINAL MICROBIOTA IN PARTICIPANTS OF GROUND MODELS OF EXPERIMENTS THAT SIMULATE INDIVIDUAL FACTORS OF SPACE FLIGHT

¹ Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

² National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov, Moscow, Russia

Aim. To assess the state of the vagina and cervical canal microflora of the volunteers, participating in isolation experiments of various durations, and volunteers, participating in “dry” immersion experiments, as well as the effectiveness of various methods for preventing dysbiosis of the reproductive system.

Materials and methods. The data on the composition of the vaginal and cervical canal microflora of the volunteers, participating in a 14 days and a 8 months isolation experiments as well as in a 3-day and a 5-day “dry” immersion experiments were analyzed. In all experiments, except for the 5-day “dry” immersion, no means of correcting and preventing dysbiosis were used. In the 5-day “dry” immersion, lactoferrin was used as an oral countermeasure, and suppositories based on *Lactobacillus acidophilus* were used as a topical countermeasure. Samples of the vaginal and cervical canal microflora were taken before the start of the experiment and after the end (for a 5-day “dry” immersion, a third point - a month after the end of the study - was provided). The biomaterial sampling points were synchronized so that each of them fell on certain day of the menstrual cycle. All samples were Gram-stained, and a cultural study in accordance with the medical technology “Integral assessment of the state of the vaginal microbiota. Diagnosis of opportunistic vaginitis” was made. Species identification of microorganisms was performed by MALDI-TOF-MS analysis using an Autoflex III time-of-flight mass spectrometer with Maldi BioTyper software (Bruker Daltoniks; Germany) version 4.0. The obtained data were analyzed using discriminant and dispersion analyses, non-parametric McNemar test, chi-square test, non-parametric Friedman, Mann-Whitney, Kruskal-Wallis tests. Statistical processing was carried out in the program STATISTICA 12.

Results. As a result of the conducted studies, it was revealed that the state of the microbiota of the vagina and cervical canal worsens both in isolation experiments (regardless of the duration of an isolation) and in “dry” immersion (both in 3-day and in 5-day immersion in the group that did not use any probiotic). In isolation experiments, an increase in the number of all

opportunistic microorganism species was noted, while in the “dry” immersion there was a trend towards increase in the number of aerobic and facultative anaerobic microbial species and decrease in the number of anaerobic opportunistic species. Lactoferrin, used as an oral probiotic, had a positive effect on the vaginal microflora at +30 day after the end of the “dry” immersion: an increase in the number of lactobacilli was noted compared to the placebo group. Volunteers, who used probiotic suppositories based on acidophilic lactobacilli, had greater number of opportunistic types of microorganisms immediately after the end of immersion than in other groups, while by +30 days after the end of the experiment, these differences leveled out. The combination of lactoferrin and local probiotic suppositories did not give a pronounced noticeable effect.

Conclusion. Summarizing the above, it can be concluded that lactoferrin has a prolonged positive effect on the vaginal microflora, while the fastest and most effective countermeasure is a local probiotic - vaginal suppositories. Since the combination of lactoferrin and topical probiotic suppositories did not give a pronounced noticeable effect, which may be due to both small number of samples or lack of a synergistic effect of these two drugs, probably the most effective is using autoprobiotic suppositories as a topical probiotic, which will act faster than an oral one and will be more effective than a commercial probiotics based on acidophilic lactobacilli. This is currently the subject of further research.

Key words: probiotics, artificial habitat, ground model experiments, space microbiology.

Введение

Нормальная микробиота влагалища играет важную роль в поддержании здоровья женщины, обеспечивая колонизационную резистентность влагалища и цервикального канала, и является весьма чувствительным индикатором, который может меняться из-за любых сдвигов во внешней и внутренней среде организма [1].

Основным компонентом нормальной микробиоты влагалища являются *Lactobacillus spp.*, которые создают среду, препятствующую размножению бактерий условно-патогенных и патогенных видов, а также создают барьер колонизации на пути вышеобозначенных микроорганизмов [2, 3]. В норме количество лактобацилл во влагалище составляет 10^6 - 10^8 КОЕ/мл. Одним из ключевых механизмов поддержания колонизационной резистентности лактобациллами является выработка перекиси водорода, которая, совместно с пероксидазой из цервикальной слизи, подавляет рост многих патогенных микроорганизмов. Таким образом, поддержание нормального количества *Lactobacillus spp* во влагалище играет важную роль в сохранении здоровья женщин.

В настоящее время для отработки средств профилактики в космических полётах широко используются наземные модельные эксперименты. Изоляционные эксперименты позволяют смоделировать целый ряд факторов космической миссии, таких как стресс и психоэмоциональное напряжение, связанные с нахождением в замкнутом пространстве в течение длительного време-

ни, постоянный микробный обмен между участниками имитируемой экспедиции, изменение режима питания и гигиены [4]. «Сухая» иммерсия также является одной из наиболее удобных моделей наземных экспериментов, суть которой заключается в погружении (кроме головы) испытателя в тёплую воду без контакта с водой благодаря плёнке, в которую завернут испытатель. Благодаря «сухой» иммерсии создаётся эффект безопорности, равномерной компрессии, перераспределения жидких сред организма и гипокинезии, что характерно для пребывания в космическом пространстве [5].

В настоящее время в наземных модельных экспериментах, имитирующих отдельные факторы космических полётов, принимает участие всё больше женщин. Ранее в исследованиях с участием мужчин-добровольцев было установлено, что в подавляющем большинстве подобных экспериментов состояние микрофлоры верхних дыхательных путей, покровных тканей и кишечника ухудшается – наблюдается рост условно-патогенного компонента и снижение количества протективных видов. Однако выработанные способы профилактики негативных эффектов отдельных факторов космического полёта не касались микрофлоры урогенитального тракта и, в частности, влагалища и цервикального канала.

Для поддержания состояния микробиоты активно применяются в настоящее время пребиотические и пробиотические препараты. Пребиотические препараты нацелены, в первую очередь, на создание благоприятной среды для размножения уже обитающих в конкретном биотопе протективных микроорганизмов. Пробиотические препараты представляют собой «живые штаммы строго отобранных микроорганизмов, которые при назначении в достаточных количествах оказывают благоприятное действие на здоровье хозяина» [6].

Оба типа препаратов доказали относительную эффективность в поддержании состояния микрофлоры и более всего изучены на примере кишечной микробиоты. Однако необходимо учитывать возможность развития аллергических реакций на тот или иной пре- или пробиотический препарат. Кроме того, пробиотические препараты, исследованные в изоляционных экспериментах, действительно поддерживают колонизационную резистентность кишечной микрофлоры и подавляют развитие условно-патогенных микроорганизмов, но лишь в течение того времени, пока испытатель принимает данный препарат [7]. Между тем, аутопробиотические препараты, изготовлен-

ные на основе протективных видов микробиоты каждого конкретного испытуемого, не имеют данных недостатков.

Отдельно необходимо отметить, что все биотопы организма человека взаимосвязаны друг с другом и нарушение колонизационной резистентности одного может повлечь ухудшение состояния микрофлоры в другом [8]. Поэтому даже несмотря на то, что приём пре- или пробиотика может осуществляться перорально и, таким образом, непосредственно влиять лишь на микрофлору кишечника, его положительное действие также распространяется и на вагинальную микрофлору. В частности, это было показано в эксперименте с участием 8 женщин-добровольцев, принимавших в качестве пищевой добавки напиток брожения на основе сахаромицет, бифидобактерий, лактобацилл и энтерококков [9].

В связи с этим наиболее оптимальным представляется комбинация перорального пребиотического препарата и местного пробиотического или аутопробиотического, которые одновременно укрепят барьер колонизации конкретного биотопа и создадут среду для благоприятного размножения аутофлоры.

В настоящем исследовании проанализированы данные, полученные в двух изоляционных экспериментах (14-ти суточном и 8-ми месячном), в которых не применялись никакие средства профилактики дисбиозов, а также в двух экспериментах с «сухой» иммерсией (3-х суточном, без использования средств профилактики, и 5-ти суточном, в котором использовались как местные, так и пероральные средства профилактики). В качестве перорального пробиотического препарата в 5-ти суточной «сухой» иммерсии использовался лактоферрин. Лактоферрин – это полифункциональный белок семейства трансферринов. Он содержится в человеческом организме, в секреторных жидкостях: молоке, слюне, слезах [10]. Белок лактоферрин в организме человека является его составляющей, легко распознается и не вызывает аллергии.

В качестве местного препарата для коррекции и профилактики дисбиоза влагалищной микрофлоры в 5-ти суточной «сухой» иммерсии использовались пробиотические свечи, содержащие ацидофильные лактобактерии штаммов NK1, NK2, NK5, NK12, которые относятся к представителям нормальной микрофлоры человека [11].

Целью данного исследования являлась оценка состояния микрофлоры влагалища и цервикального канала у женщин-испытательниц в двух изоляционных экспериментах различной продолжительности без использования

средств профилактики и в двух экспериментах с «сухой» иммерсией (3-х и 5-ти суточной), а также анализ влияния пероральных и местных пробиотических препаратов на коррекцию микробиоты вышеобозначенных биотопов.

Материалы и методы

Отделяемое влагалища и цервикального канала участниц 14-суточного изоляционного эксперимента «Эскиз» отбирали дважды: за 5-7 дней до начала эксперимента и сразу после его завершения, ориентируясь индивидуально на каждую испытуемую так, чтобы дни отбора пробы попадали на 10-15 дни менструального цикла. Всего в эксперименте принимало участие 2 женщины-испытательницы.

Для оценки состояния микрофлоры влагалища и цервикального канала женщин, участвующих в 8-месячном эксперименте «SIRIUS-21», исследовали отделяемое влагалища и брались мазки со стенок влагалища и из цервикального канала – за 7-10 дней до начала изоляционного эксперимента (20-23-и сутки менструального цикла) и в течение 7-10 дней (19-23-и сутки менструального цикла) после его окончания. У одной из девушек, прекратившей эксперимент раньше (на 33 сутки эксперимента), также были взяты пробы после её выхода из изоляционного комплекса в соответствии с днём менструального цикла (22-й день цикла). Всего были проанализированы данные 3-х участниц экипажа изоляционного эксперимента «SIRIUS-21».

В обоих изоляционных экспериментах испытательницы не применяли никаких средств профилактики дисбиотических состояний влагалища, а также антибиотики.

Образцы микробиоты влагалища и цервикального канала участниц 3-х и 5-ти суточной «сухих» иммерсий брались мазки до начала иммерсии (на 19-21 сутки менструального цикла), на 5-6 сутки после окончания иммерсии (19-22 сутки менструального цикла) и через 28-30 суток после второго взятия проб так, чтобы эта точка пришлась на 19-21 сутки следующего менструального цикла.

В 3-х суточной «сухой» иммерсии не применялись никакие способы коррекции дисбиозов. Число участниц исследования составило 6 человек. В 5-ти суточной «сухой» иммерсии в качестве перорального плацебо-препарата применялся мальтодекстрин, а в качестве вагинального плацебо-препарата – свечи с глюкозой. В качестве опытного препарата перорально применялся лактоферрин, интравагинально – свечи основе *Lactobacillus acidophilus*. Ис-

пытательницы были разделены на 4 группы в зависимости от используемых перорально и интравагинально препаратов: «Плацебо+Плацебо» (6 человек), «Плацебо+Лактобациллы» (4 человека), «Лактоферрин+Плацебо» (3 человека) и «Лактоферрин+Лактобациллы» (3 человека). Пероральный препарат испытательницы принимали с 1 по 30 дни эксперимента (1-5 дни – непосредственно иммерсионный эксперимент), местный препарат применялся с 1-го по 5-й дни иммерсии.

Микробиологический анализ состава микробиоты влагалища и цервикального канала женщин во всех экспериментах проводили на базе института микробиологии, антимикробной терапии и эпидемиологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

Всем испытательницам выполнена микроскопия вагинального отделяемого, окрашенного по Граму, и культуральное исследование в соответствии с медицинской технологией «Интегральная оценка состояния микробиоты влагалища. Диагностика оппортунистических вагинитов» [12]. Взятие материала осуществляли стерильным дакроновым тампоном из заднего свода влагалища и после обработки шейки стерильным ватным тампоном – из цервикального канала в пробирки с транспортной средой Эймса (Medical Wire, Англия). Вагинальное содержимое и отделяемое цервикального канала засеивали на селективные и неселективные агаризованные питательные среды. Для выделения факультативно-анаэробных микроорганизмов использовали: колумбийский агар, хромогенную прозрачную среду Brilliance (Oxoid, Великобритания), маннит-солевой агар (HiMedia, Индия), энтерококковый агар, среду Эндо и агар Сабуро (ФГУН «ГИЦПМ и Б», Оболенск, Россия). Инкубировали посевы в условиях CO₂ инкубатора (Joan, Франция). Лактобациллы культивировали на среде лактобакагар (ФГУН «ГИЦПМ и Б», Оболенск, Россия), строгие анаэробы – на прeredуцированном агаре Шедлера (Oxoid, Великобритания) с необходимыми добавками в условиях анаэробного бокса (Whitley DG 250 Anaerobic Workstation, Великобритания) в атмосфере трёхкомпонентной газовой смеси (N₂-80%; CO₂-10%; H₂-10%). Видовую идентификацию микроорганизмов проводили методом MALDI-TOF-MS анализа с использованием времяпролётного масс-спектрометра Autoflex III с программным обеспечением Maldi BioTyper (Bruker Daltonics; Германия) версии 4.0.

Программы всех 4-х экспериментов одобрены биоэтической комиссией ИМБП РАН и соответствуют принципам Хельсинкской декларации 1964 г.

Полученные данные проанализированы с помощью дискриминантного и дисперсионного анализов, непараметрических критериев Мак-Нимара, Фридмана, Манна-Уитни, Краскеля-Уоллиса и критерия хи-квадрат [13]. Статистическая обработка проводилась в программе STATISTICA 12.

Результаты и обсуждение

Для анализа результатов, полученных при оценке видового и количественного состава микрофлоры влагалища участниц 14-суточного изоляционного эксперимента, группа испытуемых была сравнена с группой женщин, ранее обследованных в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России и разделённых в зависимости от титра, вида выявленных микроорганизмов и клинической картины на две группы: нормоценоз и мезоценоз. Последнее состояние не является заболеванием и характеризуется содержанием в высоком титре условно-патогенных микроорганизмов на фоне достаточного количества лактобацилл, то есть может быть переходным состоянием между нормой и дисбактериозом. В отдельные две группы выделены ценозы до изоляции и после изоляции.

Дискриминантный анализ показал, что ценозы статистически значимо различаются по комплексу выявленных бактерий. Наиболее сильно как от мезоценоза и нормоценоза, так и от состояния влагалища до изоляции отличается микрофлора влагалища после изоляции, при этом нормоценоз и ценоз до изоляции наиболее близки друг к другу.

Полученные данные свидетельствуют о том, что состояние микрофлоры испытуемых до начала эксперимента в целом соответствовало нормоценозу. После окончания изоляционного эксперимента микробиота влагалища уже не соответствовала нормофлоре, что может свидетельствовать о необходимости профилактического приёма пробиотических или аутопробиотических средств коррекции микрофлоры для предотвращения возможного развития дисбактериоза.

Результаты исследования состояния микрофлоры влагалища 8-месячного изоляционного эксперимента показаны на рисунках 1 и 2. Как видно из диаграмм, количество практически всех анаэробных и факультативных анаэробных условно-патогенных микроорганизмов, по которым были найдены статистически значимые различия ($p < 0.05$), после 8-месячной изоляции увеличилось. Исключение составил только вид *Prevotella bivia*. При этом обращает на себя внимание то, что количество протективных лактоба-

цилл уменьшилось практически в полтора раза, и стало значительно ниже нормы (10^3 КОЕ/мл).

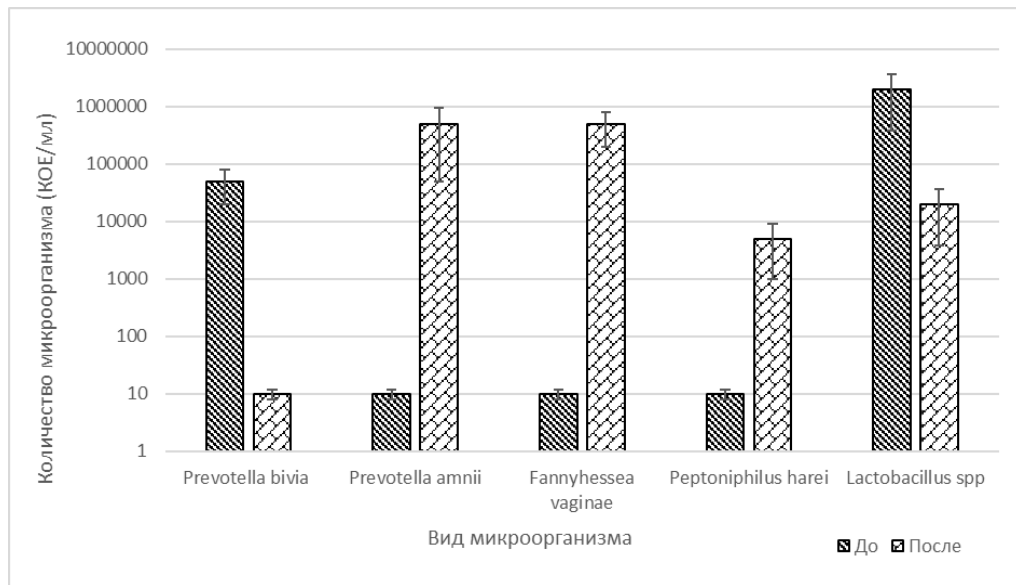


Рис. 1. Динамика численности анаэробных микроорганизмов в вагинальном отделяемом участниц 8-месячного изоляционного эксперимента SIRIUS-21.

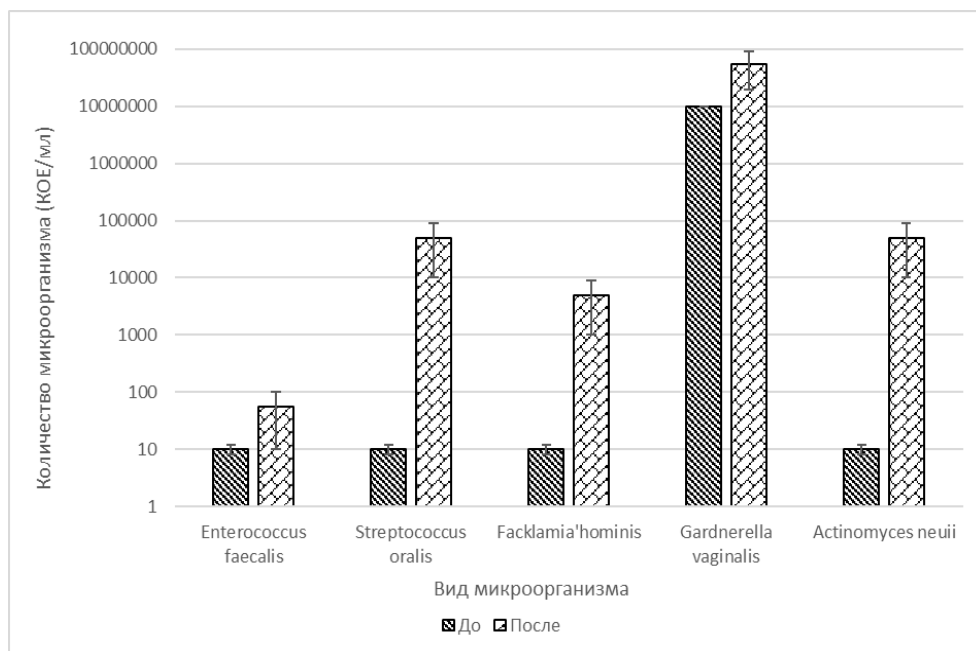


Рис. 2. Динамика численности условно-патогенных факультативных анаэробных и аэробных УПМ в вагинальном отделяемом участниц 8-месячного изоляционного эксперимента SIRIUS-21.

Необходимо отметить, что все микроорганизмы, данные по которым представлены на диаграммах, кроме лактобацилл, являются условно-патогенными и повышают риск развития бактериального вагиноза.

Количество условно-патогенных микроорганизмов цервикального ка-

нала также увеличилось на фоне снижения количества протективных лактобацилл более чем в два раза.

При анализе данных, полученных в 3-суточной и 5-суточной «сухих» иммерсиях, все микроорганизмы, идентифицированные в вагинальном и цервикальном отделяемом испытательниц, были разделены на три группы:

- аэробы и факультативные анаэробы (далее по тексту – аэробные УПМ), к которым были отнесены следующие виды микроорганизмов: *Staphylococcus* spp., *Enterococcus faecalis*, *Kytococcus schroeteri*, *Streptococcus* spp., *Actinomyces radingae*, *Rothia terrae*, *Candida* spp.;

- анаэробы (далее по тексту – анаэробные УПМ), к которым были отнесены *Gardnerella vaginalis*, *Veillonella* spp., *Finegoldia magna*, *Peptoniphilus harei*, *Prevotella bivia*, *Cutibacterium acnes*, *Propionibacterium avidum*, *Propionimicrobium lymphophilum*, *Anaerococcus murdochii*;

- протективные (далее по тексту – ПМ), к которым отнесены *Lactobacillus* spp.

При этом первые две группы рассматривались как условно-патогенные микроорганизмы (УПМ), увеличивающие при повышении титра риски развития воспалительных заболеваний.

После 3-х суточной "сухой" иммерсии у испытательниц, которые до изоляции имели высокий титр аэробных УПМ, количество аэробной микрофлоры существенно увеличилось, при этом количество ПМ снижалось. У испытательниц, которые до изоляции имели низкий титр аэробных УПМ, количество аэробной микрофлоры уменьшилось, а количество лактобацилл повысилось, что говорит об активации колонизационной резистентности микрофлоры влагалища. У испытательниц, у которых до изоляции обнаруживалась существенная обсеменённость анаэробной условно-патогенной микрофлорой, количество всех анаэробов, включая лактобациллы, снижалось.

Эти данные подтвердились при изучении состава и количества микроорганизмов в вагинальном отделяемом у испытательниц 5-ти суточной «сухой» иммерсии в группе «Плацебо+Плацебо», где не применялись никакие средства профилактики (рис. 3).

В группе «Лактоферрин+Плацебо» достоверное различие было обнаружено по анаэробным УПМ (рис. 4).

Как видно из рисунка 4, количество анаэробов в данной группе увеличилось к моменту окончания иммерсии и затем снизилось на +30 сутки после

эксперимента. Необходимо отметить, что употребление лактоферрина началось на 1-е сутки иммерсии и продолжалось в течение 30 дней, т.е. большую часть времени после окончания иммерсии испытательницы продолжали принимать лактоферрин, что, возможно, оказало влияние на состояние микрофлоры и вызвало снижение анаэробных УПМ.

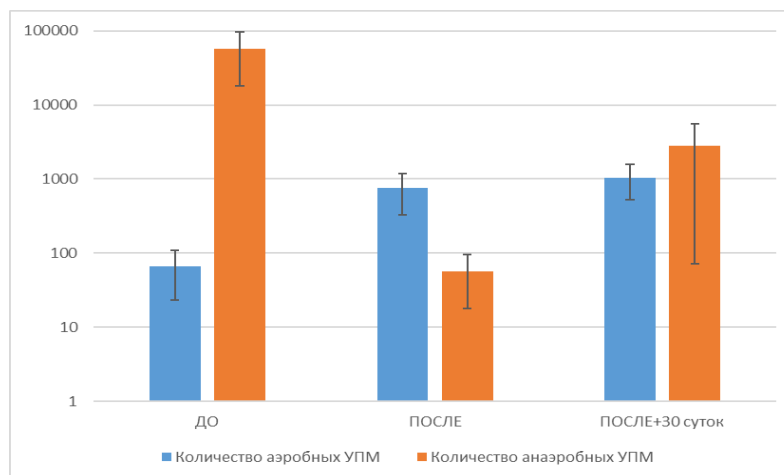


Рис. 3. Динамика аэробных и анаэробных УПМ в эксперименте 5-ти суточной сухой иммерсия в группе «Плацебо+Плацебо».

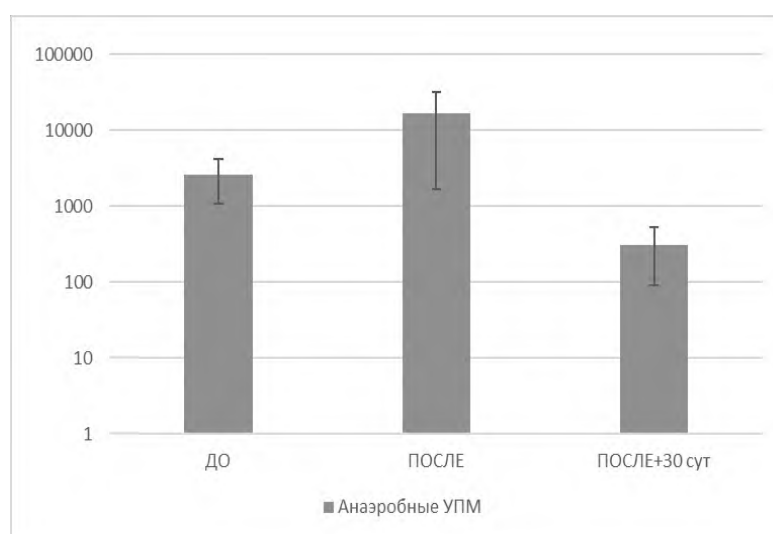


Рис. 4. Динамика аэробных и анаэробных УПМ в 5-ти суточной сухой иммерсии в группе «Лактоферрин+Плацебо».

В группах «Плацебо+Лактобациллы» и «Лактоферрин+Лактобациллы» непараметрический критерий Фридмана различий между тремя точками отбора биоматериала не выявил.

Полученные данные говорят о том, что иммерсионное воздействие оказывает негативное влияние на микрофлору влагалища: увеличивается доля аэробных УПМ. Пероральное употребление лактоферрина оказывает неболь-

шое стабилизирующее действие на микрофлору влагалища: количество аэробных УПМ не увеличивается, хотя и отмечается небольшое увеличение анаэробных УПМ сразу после окончания иммерсии. При последующем длительном употреблении лактоферрина происходит снижение количества микроорганизмов данной группы при стабильно низком титре аэробных УПМ, что говорит о пролонгированном действии препарата на основе лактоферрина.

Состояние микрофлоры в определённой точке между разными группами было оценено с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Выявлено достоверное различие между группами «Плацебо+Плацебо» и «Лактоферрин+Плацебо» на +30 сутки по количеству разных видов лактобацилл. Количество *Lactobacillus crispatus*, *L. vaginalis* и *L. gasseri* в группе «Лактоферрин+Плацебо» было выше, чем в группе «Плацебо+Плацебо», а количество *L. iners* – напротив, ниже (рис. 5).

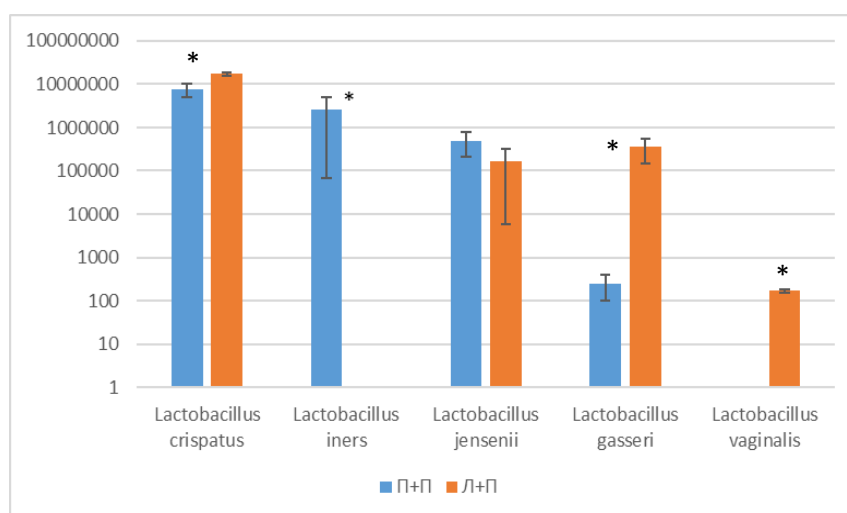


Рис. 5. Количество лактобацилл в группах «Плацебо+Плацебо» и «Лактоферрин + Плацебо» на +30 сутки после окончания иммерсии. * - статистически достоверные различия, $p < 0.05$.

Необходимо отметить, что *Lactobacillus iners* обладают наименьшим пробиотическим потенциалом и чаще всего встречаются у пациенток с инфекционно-воспалительными патологиями влагалища (ИВПВ) [14, 15]. Поэтому снижение данного вида лактобацилл в группе «Лактоферрин+Плацебо» скорее говорит о положительных тенденциях в микробиоте влагалища испытательниц данной группы.

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что лактоферрин имеет пролонгированное действие на микрофлору и способствует её нормализации, в частности, увеличению количества большинства

видов лактобацилл на +30 сутки после окончания «сухой» иммерсии, сдерживая при этом рост *L. iners*, обладающих наименьшим пробиотическим потенциалом, поскольку их большое количество ассоциировано с развитием ИВПВ.

Также были выявлены достоверные различия между группами «Лактоферрин+Плацебо» и «Плацебо+Лактобациллы» по анаэробным микроорганизмам непосредственно после окончания иммерсии. В группе «Плацебо+Лактобациллы» количество анаэробных УПМ было достоверно ниже, чем в группе «Лактоферрин+Плацебо».

Дополнительно с помощью критерия хи-квадрат были обработаны данные, на основе которых был вычислен эубиотический индекс, показывающий отношение положительных изменений в микрофлоре к отрицательным [7]. Достоверные различия между тремя группами по эубиотическому индексу были выявлены на точке «Фон-После» (рис. 6).

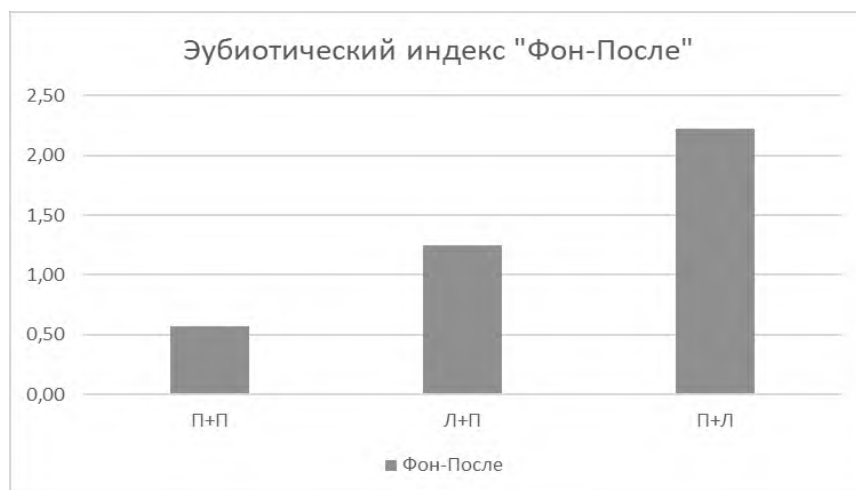


Рис. 6. Эубиотический индекс для разных групп испытательниц эксперимента "сухая" иммерсия для точки «Фон-После».

Как видно из рисунка 6, наименьшее значение эубиотического индекса отмечается в группе «Плацебо+Плацебо», наибольшее в группе «Плацебо+Лактобациллы», то есть в последней группе количество положительных изменений в микрофлоре было больше, чем негативных. Отдельно необходимо отметить, что в группе «Лактоферрин+Плацебо» эубиотический индекс был выше единицы, то есть, несмотря на то, что индекс в этой группе не самый высокий, всё же положительные тенденции в микробиоте преобладают над отрицательными, и пероральное употребление лактоферрина оказывает небольшое стабилизирующее действие на микрофлору влагалища.

При анализе с помощью критерия Фридмана были выявлены достовер-

ные различия по анаэробным УПМ в микрофлоре цервикального канала в группе «Плацебо+Плацебо». Было установлено, что количество анаэробов снизилось после окончания иммерсии и оставалось стабильно низким даже на +30 сутки после окончания эксперимента. Эти данные согласуются с полученными в 3-суточной «сухой» иммерсии, где также наблюдалось уменьшение анаэробного условно-патогенного компонента микробиоты влагалища и цервикального канала.

В остальных группах достоверных различий по группам аэробным и анаэробным УПМ, а также по лактобациллам по критерию Фридмана не было выявлено.

По результатам сравнения всех групп сразу после окончания иммерсии достоверных различий не выявлено, однако на +30 сутки после окончания эксперимента по критерию Краскеля-Уоллиса отмечены достоверные различия как по условно-патогенным микроорганизмам, так и по лактобациллам.

По количеству лактобацилл все четыре группы довольно близки друг к другу, при этом достоверные различия отмечены по группам «Плацебо+Плацебо» и «Лактоферрин+Плацебо» – в первой группе количество лактобацилл несколько выше, чем во второй. По количеству же УПМ наибольшее значение было отмечено в группе «Лактоферрин+Лактобациллы», а наименьшее – в группе «Плацебо+Лактобациллы», таким образом, местный пробиотический препарат создал наиболее оптимальные показатели микрофлоры: низкое количество условно-патогенных микроорганизмов при стабильно высоком количестве лактобацилл.

Заключение

Согласно полученным данным, состояние микрофлоры влагалища и цервикального канала ухудшилось после окончания изоляционного эксперимента и отличалось от нормофлоры, причем вне зависимости от продолжительности изоляции. Иммерсионное воздействие также оказывает негативное влияние на микрофлору влагалища за счёт увеличения доли аэробных УПМ, при этом количество анаэробных УПМ снижается.

Пероральное употребление лактоферрина оказывает небольшое стабилизирующее действие на микрофлору влагалища: количество аэробных УПМ не увеличивается, хотя и отмечается небольшое увеличение анаэробных УПМ сразу после окончания иммерсии. При последующем длительном употреблении лактоферрина на +30 сутки после окончания иммерсии происхо-

дит снижение количества анаэробов при стабильно низком титре аэробных УПМ, что говорит о пролонгированном действии данного препарата. На +30 сутки после окончания «сухой» иммерсии количество большинства видов лактобацилл увеличивается, при этом снижается рост только одного вида – *Lactobacillus iners*, обладающего наименьшим пробиотическим потенциалом, поскольку большое количество этих бактерий увеличивает риск развития ИВПВ. При оценке общего состояния микрофлоры влагалища с помощью эубиотического индекса выявлены достоверные различия при сравнении изменений микробиоты влагалища между точками «Фон» и «После» в трёх группах: наибольшее значение индекса отмечено в группе «Плацебо+Лактобациллы», что говорит об эффективности местного средства профилактики дисбиоза влагалища, развивающегося в условиях «сухой» иммерсии.

Суммируя выше изложенное, можно сделать вывод о том, что лактоферрин обладает пролонгированным положительным действием на микрофлору влагалища, при этом наиболее быстрым и эффективным средством является местное пробиотическое средство – вагинальные свечи. Комбинация лактоферрина и местных пробиотических свечей не обеспечивала заметно выраженного эффекта, в связи с чем, очевидно, наиболее эффективным представляется использование аутопробиотических свечей. На данный момент это является предметом дальнейших исследований.

(Работа выполнена при поддержке базовой тематики РАН № 64.2 «Исследование функции желудочно-кишечного тракта при адаптации организма человека к искусственной среде обитания и способы коррекции дисбактериозов с помощью аутопробиотиков», а также с использованием Уникальной научной установки "Трансгенбанк" при финансовой поддержке Российской Федерацией в лице Минобрнауки России в рамках проекта по Соглашению № 075-15-2021-668 от 29.07.2021 г.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Меджидова М. К., Зайдиева З. С., Вересова А. А. Микробиоценоз влагалища и факторы, влияющие на его состояние. Медицинский совет. 2013. 3-2: 118-125.
2. Chee W.J.Y., Chew S.Y. & Than L.T.L. Vaginal microbiota and the potential of Lactobacillus derivatives in maintaining vaginal health. Microbial Cell Factories. 2020. 19.
3. Pacha-Herrera D., Vasco G., Cruz-Betancourt C. et al. Vaginal Microbiota Evaluation and Lactobacilli Quantification by qPCR in Pregnant and Non-pregnant Women: A Pilot Study. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2020. Jun 19; 10: 303 doi 10.3389/fcimb.2020.00303
4. Розанов И.А., Рюмин О.О., Кузнецова П.Г. и др. Опыт применения технологий виртуальной реальности для психологической поддержки в эксперименте, моделирующем факторы космического полета. 42-ая неделя Российской Психологии в ГСГУ / Под общ. ред. И. Гороховой, М. Филиппова Коломна: ГСГУ, 2021. 443 с.

5. Tomilovskaya E., Shigueva T., Sayenko D. et al. Dry Immersion as a Ground-Based Model of Microgravity Physiological Effects. *Frontiers in Physiology*. 2019. 10: 284.
6. Hill C., Guarner F., Reid G. et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. 2014. 11(8): 506-514.
7. Ильин В.К., Усанова Н.А., Комиссарова Д.В. и др. Сочетанное использование напитков брожения на основе сахаромидет и пробиотических и аутопробиотических препаратов для обеспечения нормализации микрофлоры человека в изоляционном эксперименте (SIRIUS-18/19). *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2020. 3(54): 49-54
8. Воспалительные заболевания органов малого таза. *Гинекология*. 2001. 3: 93–97.
9. Ильин В.К., Комиссарова Д.В., Афонин Б.В. и др. Влияние приема пробиотиков в составе напитка брожения на микрофлору кишечника, слизистых оболочек и состояние желудочно-кишечного тракта человека. *Авиакосмическая и экологическая медицина*. 2022. 3(56): 47-54
10. Wang B., Yakindra P.T., Blanch E & Adhikari B.. Lactoferrin: Structure, function, denaturation and digestion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2019. 59(4): 580-596 doi 10.1080/10408398.2017.1381583
11. Тихомиров А.Л. Профилактика вагинальных дисбиотических состояний с применением штаммов ацидофильных лактобактерий. *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2015. 3(14): 5–8
12. Савичева А.М., Тапильская Н.И., Шипицына Е.В. и др. Бактериальный вагиноз и аэробный вагинит как основные нарушения баланса вагинальной микрофлоры. Особенности диагностики и терапии. *Акушерство и гинекология*. 2017. 5: 24-31.
13. Кулаичев А. П. Методы и средства комплексного статистического анализа данных: учеб. пособие. Москва: ИНФРА-М, 2017. 484 с.
14. Ворошилина Е.С., Плотко Е.Э., Хаютин Л.В. и др. Преобладание *Lactobacillus iners* в микробиоценозе влагалища женщин с умеренным дисбиозом ассоциировано с наличием клинических признаков инфекционно-воспалительной патологии влагалища. *Вестник РГМУ*. 2017. 2: 47-51.
15. Zheng N., Guo R., Wang J. et al. Contribution of *Lactobacillus iners* to Vaginal Health and Diseases: A Systematic Review. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2021. Nov 22; 11: 792787. doi: 10.3389/fcimb.2021.792787

Поступила 29 июня 2023 г.

(Контактная информация: **Комиссарова Дарья Валерьевна** – кандидат биологических наук, зам. заведующего лабораторией – с.н.с. ГНЦ РФ – ИМБП РАН. Адрес: 123007, г. Москва, Хорошёвское шоссе, 76А.; тел. 8 (499) 195-68-36. e-mail: d.komisarova@yandex.ru)

REFERENCES

1. Medzhidova M. K., Zaidieva Z. S., Veresova A. A. Vaginal microbiocenosis and factors influencing its condition. *Medical advice*. 2013. 3-2: 118-125.
2. Chee W.J.Y., Chew S.Y. & Than L.T.L. Vaginal microbiota and the potential of Lactobacillus derivatives in maintaining vaginal health. *Microbial Cell Factories*. 2020. 19.
3. Pacha-Herrera D., Vasco G., Cruz-Betancourt C. et al. Vaginal Microbiota Evaluation and Lactobacilli Quantification by qPCR in Pregnant and Non-pregnant Women: A Pilot Study. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2020 Jun 19; 10: 303 doi 10.3389/fcimb.2020.00303
4. Rozanov I.A., Ryumin O.O., Kuznetsova P.G. et al. Experience in the use of virtual reality technologies for psychological support in an experiment simulating space flight factors. 42nd

- week of Russian Psychology at GSGU, March 16-19, 2021 / edited by I. Gorokhova, M. Filippov. Kolomna: GSGU, 2021. 443 p.
5. Tomilovskaya E., Shigueva T., Sayenko D. et al. Dry Immersion as a Ground-Based Model of Microgravity Physiological Effects. *Frontiers in Physiology*. 2019. 10: 284.
 6. Hill C., Guarner F., Reid G. et al. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. 2014. 11(8):506-514.
 7. Ilyin V.K., Usanova N.A., Komissarova D.V. et al. Combined use of fermented drinks based on *Saccharomyces* and probiotic and autoprobiotic preparations to ensure the normalization of human microflora in an isolation experiment (SIRIUS-18/19). *Aerospace and environmental medicine*. 2020. 3(54): 49-54
 8. Inflammatory diseases of the pelvic organs. *Gynecology*. 2001. 3: 93–97.
 9. Ilyin V.K., Komissarova D.V., Afonin B.V. et al. Influence of taking probiotics as part of a fermented drink on the microflora of the intestines, mucous membranes and the state of the human gastrointestinal tract. *Aerospace and environmental medicine*. 2022. 3(56): 47-54
 10. Wang B., Yakindra P.T., Blanch E & Adhikari B.. Lactoferrin: Structure, function, denaturation and digestion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2019. 59(4): 580-596 doi 10.1080/10408398.2017.1381583
 11. Tikhomirov A.L. Prevention of vaginal dysbiotic conditions with the use of strains of acidophilic lactobacilli. *Issues of gynecology, obstetrics and perinatology*. 2015. 3(14): 5–8
 12. Savicheva A.M., Tapilskaya N.I., Shipitsyna E.V. et al. Bacterial vaginosis and aerobic vaginitis as the main disturbances in the balance of the vaginal microflora. Features of diagnostics and therapy. *Obstetrics and gynecology*. 2017. 5: 24-31.
 13. Kulaichev A.P. Methods and means of complex statistical data analysis: study guide / A.P. Kulaichev. 5th ed., revised. and additional Moscow: INFRA-M, 2017. 484.
 14. Voroshilina E.S., Plotko E.E., Khayutin L.V. et al. The predominance of *Lactobacillus iners* in the vaginal microbiocenosis of women with moderate dysbiosis is associated with the presence of clinical signs of an infectious and inflammatory pathology of the vagina. *Bulletin of the RSMU*. 2017. 2: 47-51.
 15. Zheng N., Guo R., Wang J. et al. Contribution of *Lactobacillus iners* to Vaginal Health and Diseases: A Systematic Review. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2021. Nov 22; 11: doi: 10.3389/fcimb.2021.792787

Образец ссылки на статью

Комиссарова Д.В., Ильин В.К. Пребиотические и пробиотические способы коррекции микробиоты влагалища у участниц наземных модельных экспериментов, моделирующих отдельные факторы космического полета. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2023. 2. 17 с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2023-2/Articles/DVK-2023-2.pdf>). DOI: 10.24411/2304-9081-2023-12007