

Диагностическая значимость маркеров воспаления в отделяемом цервикального канала у беременных с бактериальным вагинозом

Т.Э.Карапетян[✉], Н.А.Ломова, М.И.Кесова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И.Кулакова» Минздрава России. 117997, Россия, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4

Цель исследования – определение в отделяемом цервикального канала провоспалительных и противовоспалительных цитокинов как показателей состояния местного иммунитета у беременных с бактериальным вагинозом (БВ).

Материал и методы. В исследование были включены 45 беременных, обратившихся в ранние сроки гестации. Основную группу составили 32 беременные, у которых был верифицирован диагноз БВ, группу сравнения – 13 беременных с нормальным микробиоценозом влагалища. В слизи из цервикального канала определяли содержание провоспалительных цитокинов (фактор некроза опухоли α , интерферон- γ , интерлейкины – ИЛ-1 α , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10).

Результаты. Местный иммунитет до лечения беременных с БВ характеризовался достоверным повышением уровня про- и противовоспалительных цитокинов по отношению к их продукции у беременных с нормальным вагинальным микробиоценозом. После лечения БВ уровни цитокинов приближались к показателям здоровых беременных, однако уровни фактора некроза опухоли α и ИЛ-8 мало изменялись, что, возможно, объясняется низкой продукцией этих цитокинов, поскольку при вагинозе лейкоцитарная реакция в эпителиальном докесе влагалища не выражена.

Заключение. Качественные и количественные изменения в уровнях цитокинов отражают степень активации иммунокомпетентных клеток при любом патологическом процессе. Полученные в данном исследовании результаты отражают определенную автономию иммунных реакций в нижних отделах половых путей женщины.

Ключевые слова: бактериальный вагиноз, беременность, цитокины.

[✉]tomamed02@mail.ru

Для цитирования: Карапетян Т.Э., Ломова Н.А., Кесова М.И. Диагностическая значимость маркеров воспаления в отделяемом цервикального канала у беременных с бактериальным вагинозом. Гинекология. 2018; 20 (1): 71–74. DOI: 10.26442/2079-5696_20.1.71-74

Diagnostic significance of markers of inflammation in the cervical canal in pregnant women with bacterial vaginosis

T.E.Karapetian[✉], N.A.Lomova, M.I.Kesova

V.I.Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology of the Ministry of Health of the Russian Federation. 117997, Russian Federation, Moscow, ul. Akademika Oparina, d. 4

The aim of the study was to determine the proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in the cervical canal as indicators of the state of local immunity in pregnant women with bacterial vaginosis (BV).

Material and methods. The study included 45 pregnant women, who applied early in gestation. The main group consisted of 32 pregnant women, who had verified the diagnosis of BV, the comparison group – 13 pregnant women with normal vaginal microbiocenosis. In the mucus from the cervical canal, the content of pro-inflammatory cytokines (tumor necrosis factor α , interferon- γ , interleukins – IL-1 α , IL-2, IL-6, IL-8) and anti-inflammatory cytokines (IL-4, IL-10) was determined.

Results. Local immunity before treatment of pregnant women with BV was characterized by a significant increase in the level of pro- and anti-inflammatory cytokines in relation to their production in pregnant women with normal vaginal microcenosis. After treatment with BV, cytokine levels were approaching those of healthy pregnant women, but the levels of tumor necrosis factor α and IL-8 changed little, which is probably due to the low production of these cytokines, since the leukocyte reaction in the epithelial vaginal locus is not expressed in vaginosis.

The conclusion. Qualitative and quantitative changes in cytokine levels reflect the degree of activation of immunocompetent cells in any pathological process. The results obtained in this study reflect a certain autonomy of immune responses in the lower sections of the female genital tract.

Key words: bacterial vaginosis, pregnancy, cytokines.

[✉]tomamed02@mail.ru

For citation: Karapetian T.E., Lomova N.A., Kesova M.I. Diagnostic significance of markers of inflammation in the cervical canal in pregnant women with bacterial vaginosis. Gynecology. 2018; 20 (1): 71–74. DOI: 10.26442/2079-5696_20.1.71-74

В развитии бактериального вагиноза (БВ) иммунная система играет определяющую роль. Иммунная система женских половых органов осуществляет основную линию локальной защиты от патогенов. Нейтрофилы, макрофаги, лимфоциты слизистой оболочки синтезируют цитокины, секреторные иммуноглобулины и другие биологически активные молекулы. Исследование цервикальной слизи перспективно в плане поиска методов неинвазивной диагностики. Для определения биологически активных молекул в цервикальной слизи используется метод экстракции, при этом стандартизация полученных данных проводится разными методами [1–3].

Для БВ характерно отсутствие признаков воспаления, в том числе лейкоцитарной реакции. Однако наблюдаемое при БВ патологическое изменение равновесия влагалищных микроорганизмов приводит к их адгезии к слизистой

оболочке вследствие измененной рецепторной активности влагалищного эпителия. Вытеснение лактобактерий при БВ способствует формированию среды с высокой вирулентностью, что может отрицательно сказываться на развитии беременности и течении родов. Поэтому важно изучение местного иммунитета у беременных для совершенствования профилактики и лечения БВ во время беременности.

Так, сравнение эндоцервикального уровня провоспалительных цитокинов интерлейкина (ИЛ)-1, ИЛ-6, ИЛ-8 у беременных и небеременных пациенток с БВ и одинаковым соматическим статусом в обеих группах показало, что у беременных уровень цитокинов был значительно выше, чем у небеременных, что, возможно, связано с иммунным компромиссом во время беременности [4–8]. Преобладание дисбиотических изменений в микрофлоре влагалища и

персистенция микроорганизмов в цервикальном канале у беременных с привычным невынашиванием приводят к достоверному превышению провоспалительных цитокинов фактора некроза опухоли α (ФНО- α), интерферона- γ (ИФН- γ), ИЛ-6 над регуляторными ИЛ-4, ИЛ-10 в противоположность здоровым беременным [9].

В популяции беременных с преждевременным разрывом плодных оболочек в сроке менее 34 нед при амниоцентезе исследованы внутриматочная микрофлора и цитокины ИЛ-6, ИЛ-8. Бактериальная флора в амниотической жидкости обнаружена у 25% беременных. Концентрация в водах ИЛ-6 > 0,80 нг/мл ассоциировалась с внутриматочной инфекцией и высоким риском наступления преждевременных родов в ближайшие 7 дней, а повышение концентрации ИЛ-8 указывало на роды ранее 34 нед [10]. Полученные данные сочетаются с другими аналогичными исследованиями, свидетельствующими о том, что низкие концентрации провоспалительных цитокинов ИЛ-1 α , ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8 в цервикальном отделяемом в сроки гестации 22–34 нед, особенно уровень ИЛ-8, представляют высокий риск раннего инфекционного заболевания новорожденных. Среди других маркеров преждевременных родов исследование содержания ИЛ-6 в вагинальном отделяемом позволит идентифицировать беременных с высоким риском неонатальной инфекции и прогнозировать наступление родов ранее 34 нед гестации [11]. По некоторым данным, уровни ИЛ-1, ИЛ-6 в вагинальном отделяемом были достоверно выше у беременных с БВ [12].

Другое исследование, касающееся частоты выявления 7 провоспалительных цитокинов и полиморфизма гена Toll-подобного рецептора у беременных с наличием и отсутствием БВ при сроке гестации менее 30 нед, показало, что полиморфизм на выделенных локусах ИЛ-1 α , ИЛ-6, ИЛ-8 связан с изменением степени выраженности БВ при беременности [4]. Для клинических вариантов заболеваний, вызванных вагинальной оппортунистической инфекцией, необходимо использовать иммунологические факторы, которые могли бы быть объективными маркерами в оценке эффективности лечения. Поскольку цитокины являются ключевыми факторами в фазах индукции и развития иммунного ответа, то количественное определение их содержания в секреторных компонентах репродуктивного тракта имеет большое значение [13].

Целью настоящего исследования было определение в отделяемом цервикального канала провоспалительных и противовоспалительных цитокинов как показателей состояния местного иммунитета у беременных с БВ.

Материал и методы

В исследование были включены 45 беременных, обратившихся в ранние сроки гестации. Основную группу составили 32 беременные, у которых был верифицирован диагноз БВ, группу сравнения – 13 беременных с нормальным микробиоценозом влагалища. Уровень цитокинов в отделяемом цервикального канала определяли в I триместре беременности до лечения БВ, затем повторяли после лечения в 22–23 и в 33–34 нед гестации. В эти же сроки определяли содержание цитокинов в отделяемом цервикального канала и у пациенток контрольной группы.

Оценку состояния микробиоценоза влагалища проводили на основании микроскопии вагинальных мазков, окрашенных по Граму, и культурального исследования вагинального содержимого на факультативно-анаэробные бактерии, дрожжеподобные грибы, генитальные микоплазмы. Степень микробной обсемененности влагалища определяли методом секторного посева отделяемого влагалища на 5% кровяной агар, среду Сабуро и МРС. Видовую идентификацию микроорганизмов проводили общепринятыми методами.

Микробиологическая диагностика БВ при микроскопии вагинальных мазков базировалась на следующих критериях: наличие ключевых клеток; отсутствие выраженной лейкоцитарной реакции; массивное микробное обсеменение с преобладанием морфотипов облигатно-анаэробных бактерий (бактероидов, мобилункуса, фузобактерий, лептотрихий) и гарднереллы; отсутствие или выявление еди-

ничных в поле зрения грамположительных палочек морфотипа лактобактерий.

Слизь из цервикального канала брали универсальным зондом, спонж со слизью отделяли ножницами и помещали в пробирку типа Эппендорф с 1 мл буфера, содержащего 5 мм³ этилендиаминтетрауксусной кислоты, 10 мм³ трисгидроксиметиламинметана, 1% бычьего сывороточного альбумина и немедленно 0,5 мм³ ингибитора протеиназ (PM5P) в 100 мл дистиллированной воды, pH 7,4. Затем проводили экстракцию встряхиванием на вортексе в течение 1 мин. Смесь центрифугировали в течение 5 мин при 900 g и отбирали надосадочную жидкость, которую немедленно замораживали и хранили до анализа при -80°C.

В слизи цервикального канала определяли содержание провоспалительных (ФНО- α , ИФН- γ , ИЛ-1 α , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10) методом иммуноферментного анализа. Для проведения анализа использовали наборы фирмы «Цитокин» (Санкт-Петербург).

Количественное содержание цитокинов в цервикальной слизи нормировали путем пересчета на общий белок в пробах. Определение белка в пробах проводили колориметрическим методом с помощью бидинхониновой кислоты (Sigma, США).

Статистическую обработку данных проводили по общепринятым методам вариационной статистики. Значимость наблюдаемых отклонений оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Данные о содержании цитокинов в цервикальной слизи беременных в разные сроки гестации представлены в таблице.

Как видно из таблицы, имелись достоверные различия в содержании цитокинов в отделяемом цервикального канала в I триместре у беременных с БВ и у беременных с нормальным микробиоценозом влагалища: уровни как про-, так и противовоспалительных цитокинов в основной группе в 2 раза и более превышали аналогичные показатели в группе сравнения.

Анализ изменений содержания цитокинов в цервикальной слизи в группе пациенток с нормомикробиоценозом влагалища показал, что в I триместре беременности практически все исследованные цитокины количественно характеризуются минимальными значениями. Далее при отсутствии достоверных различий обнаруживаются разные тенденции в изменении содержания исследованных цитокинов в последующие триместры (за исключением ИЛ-10, уровень которого достоверно повышается в III триместре по сравнению с содержанием в I триместре). Однако, несмотря на это, очевидно, что при нормомикробиоценозе влагалища локальные иммунные реакции проявляют тенденцию к поддержанию некоторой постоянной концентрации секретируемых цитокинов в течение всего срока беременности. Это несколько отличается от картины, описываемой рядом исследователей относительно содержания этих цитокинов в крови женщин при физиологической беременности, в том числе и не осложненной БВ [1, 14]. По наблюдениям этих авторов, в крови женщин при физиологической беременности наблюдаются признаки воспалительной реакции с повышением содержания ряда цитокинов. Вероятно, это различие объясняется адекватным функционированием гистогематического барьера и, как следствие, созданием наиболее благоприятных условий для развивающейся беременности.

При обследовании женщин во II и III триместрах беременности достоверное различие в содержании цитокинов между группами отсутствовало. Исключение составили ИЛ-6 и ИЛ-2. Следует отметить, что после лечения БВ микрофлора влагалища у беременных основной группы по данным микробиологического обследования соответствовала показателям у здоровых беременных. Достоверное снижение уровня ряда цитокинов у беременных основной группы в динамике беременности, за исключением уровня ФНО- α и ИЛ-8, возможно, также связано с отсутствием выраженного воспаления слизистой влагалища при БВ,

Содержание цитокинов (нг/г белка) в отделяемом цервикального канала у беременных с нормомикроценозом влагалища и БВ (M±m)			
Цитокин	Триместр беременности	Беременные с нормомикроценозом влагалища	Беременные с БВ
ФНО-α	I	32,0±10,12 (n=12)	72,0±10,8 (n=32)*
	II	46,6±9,8 (n=11)	56,5±11,2 (n=32)
	III	30,2±7,5 (n=10)	54,7±11,4 (n=29)
ИФН-α	I	31,1±2,9 (n=13)	132,8±26,7 (n=32)*
	II	17,3±7,1 (n=11)	19,9±4,1 (n=32)**
	III	27,8±6,2 (n=10)	43,0±7,5 (n=29)**
ИЛ-6	I	367,2±15,6 (n=13)	2418,5±377,4 (n=32)*
	II	197,2±59,8 (n=11)	1023,4±154,0 (n=32)*, **
	III	121,5±39,5 (n=10)	438,2±74,8 (n=29), **
ИЛ-10	I	9,2±2,6 (n=13)	59,1±5,6 (n=32)*
	II	19,3±9,0 (n=11)	27,9±3,1 (n=32)**
	III	28,1±5,1 (n=10)	30,9±5,9 (n=29)
ИЛ-1	I	1273,2±131,5 (n=12)	1994,0±164,3 (n=29)*
	II	790,5±164,5 (n=11)	1068,1±132,1 (n=27)**
	III	1482,1±195,9 (n=9)	1346,2±175,4 (n=20)**
ИЛ-8	I	655,5±118,6 (n=12)	1351,6±137,8 (n=29)*
	II	858,5±117,8 (n=11)	1225,5±110,9 (n=27)
	III	1273,4±381,7 (n=9)	1682,6±222,9 (n=20)
ИЛ-2	I	6,0±4,5 (n=6)	310,4±17,0 (n=22)*
	II	6,0±0,4 (n=6)	89,4±12,3 (n=22)*, **
	III	77,3±39,4 (n=4)	28,4±7,8 (n=20)**
ИЛ-4	I	21,8±16,5 (n=6)	38,3±2,1 (n=22)*
	II	116,5±100,0 (n=6)	3,71±0,7 (n=22)**
	III	1,7±0,3 (n=4)	3,6±0,4 (n=20)**

*Средние значения показателя достоверно отличаются между группами на одинаковом сроке беременности (p<0,05); **средние значения во II и III триместрах достоверно отличаются от значений в I триместре внутри выделенных групп (p<0,05).

следствием которого могло бы быть изменение опосредуемого данными цитокинами активного синтеза адгезивных молекул и киллерной активности фагоцитирующих клеток. Известно также, что существует антагонистическое взаимодействие между ФНО-α и ИЛ-6. Повышение продукции ФНО-α в I триместре приводит к усилению выработки ИЛ-6. Однако стабильно повышенные концентрации ИЛ-6 во II и III триместрах беременности вызывают уменьшение секреции ФНО-α и, как следствие, подавление миграции лейкоцитов в ткань.

Детальный анализ динамики цитокинов по триместрам в основной группе беременных показал, что изменение содержания ИФН-γ, ИЛ-1α, ИЛ-8 и ИЛ-10 имеет следующую тенденцию: повышенное содержание в I триместре, снижение во II триместре (после лечения) и вновь повышение содержания в цервикальной слизи в III триместре беременности. Причем отмечается, что при достоверном снижении их концентрации после лечения средние значения содержания ИФН-γ, ИЛ-8, ИЛ-10, а также ИЛ-1α во II триместре беременности остаются повышенными по сравнению с аналогичными показателями в группе беременных с нормомикробиocenозом влагалища. Отсутствие достоверных различий между группами в содержании данных цитокинов дает право предположить, что изменения, вызванные патогенными микроорганизмами, а также произошедшие вследствие сдвига микроэкологических нитей в половых путях беременных, не являясь критическими для беременности, создают более высокий фоновый провоспалительный уровень. Следует отметить, что средние показатели содержания данных цитокинов в III триместре беременности в основной группе максимально приближены к значениям в группе сравнения.

Также заслуживает внимания высокий уровень в цервикальной слизи ИЛ-1α. Известно, что ИЛ-1α представляет собой трансмембранный белок, в свободной форме

он находится внутри клетки и секретируется при разных патологических состояниях. Обнаружение его в биологических жидкостях организма говорит об активации макрофагального звена иммунитета. Выявленный в данном исследовании уровень секреторной формы ИЛ-1α у беременных основной и контрольной групп свидетельствует об антигенной стимуляции бактериальными продуктами.

Особенно активно по мере увеличения срока беременности у пациенток с БВ снижались уровни ИЛ-6, ИФН-γ, ИЛ-2. В то же время обращает на себя внимание достоверное повышение концентрации противовоспалительного цитокина ИЛ-10 у здоровых беременных в поздние сроки гестации, что, возможно, обусловлено изменением состояния иммунной системы организма перед родами. Важным свойством ИЛ-10 является подавление активности иммунных клеток, что приводит к завершению воспалительной реакции, элиминации патогена и восстановлению структуры поврежденной ткани [15]. Высокое содержание ИЛ-10 при БВ в I триместре беременности, вероятно, связано с реализацией регуляторной функции на фоне активной продукции провоспалительных цитокинов.

Следует отметить, что из всех исследованных цитокинов особого внимания заслуживает ИЛ-6, точнее, характер изменения его содержания. Динамика его при нормомикроценозе совпадает с динамикой при БВ, однако становится очевидным его повышенное содержание у беременных с БВ во всех триместрах беременности. Известно, что ИЛ-6 вырабатывается различными клетками, в том числе децидуальными клетками и амниоцитами, и является маркером внутриутробного инфицирования [10]. Однако перинатальные исходы у женщин с БВ не отличались от таковых в контрольной группе. Повышенный уровень провоспалительных цитокинов в цервикальном секрете наблюдается у

женщин с привычным невынашиванием беременности. Обнаружение выраженных отличий в содержании этого цитокина в цервикальном секрете, по нашим данным, не означает наличия внутриутробной инфекции.

Результаты, полученные при определении ИЛ-2 и ИЛ-4 в цервикальной слизи при БВ, свидетельствуют о достоверном снижении содержания обоих цитокинов после лечения с сохранением минимальных концентраций к родам. О достоверных отличиях между группами и динамике ИЛ-2 и ИЛ-4 при нормомикроценозе влагалища говорить сложно в связи с малым числом исследований этих цитокинов в данной группе беременных.

Таким образом, анализ полученных результатов показал, что содержание про- и противовоспалительных цитокинов в отделяемом цервикального канала у беременных с БВ достоверно выше, чем в группе сравнения, на этапе, предшествующем медикаментозному лечению. Наблюдаемая при данной патологии потеря функции влагалища проявляется в активации местного иммунитета с секрецией молекул, оказывающих аутокринное, паракринное и эндокринное влияние. Выявление данных молекул в цервикальной слизи не означает, что они активны в ней. Вероятно их опосредованное действие на клетки иммунной системы и рецепторный аппарат клеток, формирующих слизистую оболочку влагалища и эндоцервикса. При устранении защитного барьера, которым являются лактобактерии, создаются условия для несбалансированной продукции цитокинов и, как следствие, для формирования микросреды, в которой происходит изменение конечных продуктов обмена клеток, что сказывается на качестве и составе выделяемой слизи. Дисбиотические нарушения во влагалище приводят к снижению функционального резерва клеток и вследствие этого к изменению их метаболической активности. В свою очередь, изменение синтеза белка клетками эндоцервикса приводит к варьированию соотношения фракций растворимого и нерастворимого коллагена в тканях и в итоге к изменению (ухудшению) биомеханических свойств шейки матки [14].

Считается, что нарушенный баланс микрофлоры влагалища может спонтанно нормализоваться без назначения корректирующей терапии. Однако возникающее при беременности состояние иммуносупрессии, которое обуславливает иммунную толерантность матери к аллоантигенам плода, способствует активации латентной инфекции и условно-патогенной микрофлоры, присутствующей во влагалище. В большинстве случаев системные эффекты, возникающие вследствие развития восходящей инфекции, в отношении внутренних половых органов и органов малого таза не находят развития. Но развиваются локальные иммунные реакции, центральным звеном которых является цитокиновый каскад [16]. Качественные и количественные изменения в уровнях цитокинов отражают степень активации иммунокомпетентных клеток при любом патологическом процессе. Полученные в данном исследовании результаты отражают определенную автономность иммунных реакций в нижних отделах половых путей женщины.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Карапетян Тамара Эдуардовна – д-р мед. наук, ст. науч. сотр. акушерского отд-ния ФГБУ «НМИЦ АПГ им. акад. В.И.Кулакова». E-mail: tomamed02@mail.ru

Ломова Наталья Анатольевна – канд. мед. наук, науч. сотр. акушерского отд-ния ФГБУ «НМИЦ АПГ им. акад. В.И.Кулакова». E-mail: n-lomova@yandex.ru

Кесова Марина Исааковна – д-р мед. наук, ст. науч. сотр. акушерского отд-ния ФГБУ «НМИЦ АПГ им. акад. В.И.Кулакова». E-mail: mkesova@yandex.ru

Литература/References

1. Deese J, Masson L, Miller W et al. *Injectable Progestin-Only Contraception is Associated With Increased Levels of Pro-Inflammatory Cytokines in the Female Genital Tract. Am J Reprod Immunol* 2015; 74 (4): 357–67.
2. Kesrouani A, Chalboub E, El Rassy E et al. *Prediction of preterm delivery by second trimester inflammatory biomarkers in the amniotic fluid. Cytokine* 2016; 85: 67–70.
3. Kyongo JK, Crucitti T, Menten J et al. *Cross-Sectional Analysis of Selected Genital Tract Immunological Markers and Molecular Vaginal Microbiota in Sub-Saharan African Women, with Relevance to HIV Risk and Prevention. Clin Vaccine Immunol* 2015; 22 (5): 526–38.
4. Balkus J, Agnew K, Lawler R et al. *Effects of pregnancy and bacterial vaginosis on proinflammatory cytokine and secretory leukocyte protease inhibitor concentrations in vaginal secretions. J Pregnancy* 2010; 2010: 385981.
5. Discacciati MG, Simoes JA, Silva MG et al. *Microbiological characteristics and inflammatory cytokines associated with preterm labor. Arch Gynecol Obstet* 2011; 283 (3): 501–8.
6. Ryckman KK, Williams SM, Krohn MA, Simban HN. *Interaction between interleukin-1 receptor 2 and Toll-like receptor 4, and cervical cytokines. J Reprod Immunol* 2011; 90 (2): 220–6.
7. Santos-Greatti MMV, da Silva MG, Ferreira CST, Marconi C. *Cervicovaginal cytokines, sialidase activity and bacterial load in reproductive-aged women with intermediate vaginal flora. J Reprod Immunol* 2016; 118: 36–41.
8. Taylor BD, Holzman CB, Fichorova RN et al. *Inflammation biomarkers in vaginal fluid and preterm delivery. Hum Reprod* 2013; 28 (4): 942–52.
9. Tyagi V, Mustafa MD, Sharma T et al. *Association of organochlorine pesticides with the mRNA expression of tumour necrosis factor- α (TNF- α) & cyclooxygenase-2 (COX-2) genes in idiopathic preterm birth. Indian J Med Res* 2016; 143 (6): 731–8.
10. Pereira TB, Thomaz EB, Nascimento FR et al. *Regulatory Cytokine Expression and Preterm Birth: Case-Control Study Nested in a Cohort. PLoS One* 2016; 11 (8).
11. Ferreira CS, Marconi C, Parada CM et al. *Bacterial vaginosis in pregnant adolescents: proinflammatory cytokine and bacterial sialidase profile. Cross-sectional study. Sao Paulo Med J* 2015; 133 (6): 465–70.
12. Mitchell C, Fredricks D, Agnew K, Hill J. *Hydrogen Peroxide-Producing Lactobacilli Are Associated With Lower Levels of Vaginal Interleukin-1 β , Independent of Bacterial Vaginosis. Sex Transm Dis* 2015; 42 (7): 358–63.
13. Mendling W. *Vaginal Microbiota. Adv Exp Med Biol* 2016; 902: 83–93.
14. Sanders AP, Gennings C, Svensson K et al. *Bacterial and cytokine mixtures predict the length of gestation and are associated with miRNA expression in the cervix. Epigenomics* 2017; 9 (1): 33–45.
15. Макаров О.В., Озолина Л.А., Сумеди Т.Н. *Изменение показателей иммунитета у пациенток с невынашиванием беременности инфекционного генеза в I триместре. Рос. вестн. акушера-гинеколога. 2008; 6: 28–32. / Makarov O.V., Ozolina L.A., Sumedi T.N. Izmenenie pokazatelei immuniteta u patsientok s nevnashivaniem beremennosti infektsionnogo geneza v I trimestre. Ros. vestn. akusbera-ginekologa. 2008; 6: 28–32. [in Russian]*
16. Сидельникова В.М., Сухих Г.Т. *Невынашивание беременности. Руководство для практикующих врачей. М.: МИА, 2010. / Sidelnikova V.M., Sukhikh G.T. Nevnashivanie beremennosti. Rukovodstvo dlia praktikuiuschibkh vrachei. M.: MIA, 2010. [in Russian]*