

А.И. КАРПИЩЕНКО, Е.Ф. КИРА,  
О.Л. МОЛЧАНОВ

Кафедра клинической биохимии,  
кафедра акушерства и гинекологии  
Военно-медицинской академии,  
Санкт-Петербург

## БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО ВАГИНОЗА

**В обзоре представлены новые данные и оригинальный взгляд авторов на биохимические механизмы в патогенезе бактериального вагиноза.**

Проблема инфекционных заболеваний женских половых органов является высоко актуальной для акушерства и гинекологии. По данным литературы, до 70% заболеваний женской половой сферы приходится на воспалительные заболевания влагалища [17].

В последнее тридцатилетие на фоне повсеместного, зачастую нерационального, применения антибактериальных препаратов, увеличения частоты сексуально-трансмиссивных заболеваний, имеет место увеличение частоты заболеваний влагалища, в этиологии которых большую роль принимают микроорганизмы из состава нормальной микрофлоры. Эта группа заболеваний получила название бактериальный вагиноз (БВ).

Бактериальный вагиноз с клинической точки зрения характеризуется появлением неприятно пахнущих выделений из влагалища при отсутствии в них патогенных возбудителей (*Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida albicans*) и признаков воспаления со стороны слизистой оболочки [11, 2, 4].

В настоящее время диагностическим стандартом являются клинико-лабораторные признаки, предложенные Amsel R. et al. в 1983 году [12]. Этими признаками являются:

- наличие гомогенных выделений, равномерно распределяющихся по стенкам влагалища;
  - повышение уровня pH;
  - положительный аминовый тест (появление запаха «гнилой рыбы» при добавлении 10% гидроксида калия);
  - обнаружение во влажных Грам-мазках «ключевых клеток».
- В настоящее время отсут-

ствует единое общепринятое мнение об этиологии БВ. Большинство исследований направлено на исследование микробного фактора как основной причины БВ. Определяется удельная значимость того или иного микроорганизма в микробном спектре биоценоза влагалища, чувствительность к антибактериальным препаратам. Однако рассмотрение БВ только с микробиологических позиций не может объяснить закономерности механизмов развития данной патологии, определить причину формирования дисбиотического состояния влагалища и соответственно наметить основные патогенетические подходы в коррекции и лечении.

Биоценоз влагалища в основном представлен анаэробной флорой [13, 14, 24]. Во многом это определяется конституциональным расположением органа, слабым кровоснабжением, низким окислительно-восстановительным потенциалом ткани.

Метаболизм флоры направлен на синтез необходимых им веществ и тесно с этим связанные энергообеспечивающие процессы.

Энергообразование у анаэробов происходит за счет брожения - анаэробного процесса, при котором синтез АТФ осуществляется только на субстратном уровне, т.е. без транспорта электронов в дыхательной цепи. Если АТФ образуется в результате функционирования электронпереносящей цепи в отсутствие кислорода процесс называют анаэробным дыханием [5].

Факультативные анаэробы в присутствии кислорода растут как аэробные микроорганизмы с соответствующим энергообеспечением за счет транспорта электронов по дыхательной цепи; в

Журнал  
акушерства  
и женских  
болезней



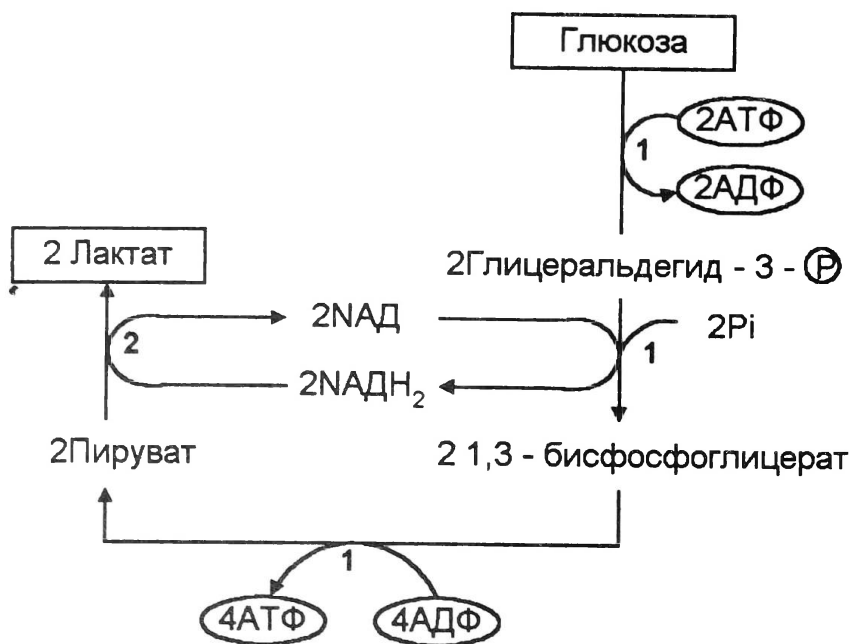


Рис. 1. Образование лактата из глюкозы при гомоферментативном молочнокислом брожении:  
1 - ферменты пути Эмбдена-Мейергофа-Парнаса;  
2 - лактатдегидрогеназа.

анаэробных условиях их обмен переключается на брожение.

Аэробные микроорганизмы в процессе энергосинтеза за счет окислительного фосфорилирования образуют высокотоксичные производные кислорода: супероксиданионрадикал и перекись водорода. При взаимодействии этих метаболитов создаются условия для протекания реакции Хабера - Вайса [19, 8] в результате которой образуется гидроксильный анионрадикал, обладающей высокой реакционной способностью за счет неспаренного электрона [20]. Этот радикал инициирует процессы перекисидации макромолекул, в том числе и липопротеидов, входящих в состав клеточных мембран микроорганизмов [18].

В целях защиты от аутоповреждения аэробные микроорганизмы синтезируют ферменты: супероксиддисмутазу (СОД) и каталазу, соответственно разрушающих супероксиданионрадикал и перекись водорода [7].

Факультативные анаэробы не образуют каталазу, но в их мембране имеется СОД, что делает их устойчивыми к свободнорадикальному повреждению.

Строгие анаэробы не имеют этих ферментов и абсолютно не переносят присутствие кислорода в среде обитания.

Образование активных форм кислорода и защита от них – одно из проявлений антагонизма микроорганизмов биоценоза влагалища в патогенезе развития бактериального вагиноза.

В результате действия ряда причинных факторов происходит изменение, а именно, подщелачивание влагалищного содержимого, что неблагоприятно сказывается на метаболизме нормальной микрофлоры влагалища – *Lactobacillus acidophilus*, и, напротив, приводит к манифестации анаэробной флоры.

В результате метаболизма анаэробы под действием микробных декарбоксилаз образуют из аминокислот биогенные амины (ди- и триметиламин, метиламин, кадаверин, путресцин). Комплексом этих аминов обусловлено наличие запаха «гнилой рыбы» и положительный аминовый тест при бактериальном вагинозе. Процессы декарбоксилирования приводят к еще большему подщелачиванию ВЖ, но самое главное – повышают парциальное давление  $CO_2$ , чем усиливают анаэроб-

ность среды.

Для роста анаэробной флоры необходимо наличие в среде достаточного количества ионов железа и соединений, содержащих серу.

Основным субстратом, используемым в процессах брожения, является глюкоза.

Известно, что клетки поверхностного слоя эпителия влагалища богаты гликогеном. Под действием амилазы ВЖ гликоген гидролизует до декстринов и дисахарида - мальтозы. Мальтоза поглощается микроорганизмами и расщепляется специфическими фосфорилазами до гексозо-1-фосфата и гексозы, которые используются в процессах брожения.

**Молочнокислое брожение.** В физиологических условиях во ВЖ молочная кислота является конечным продуктом гомоферментного брожения *Lactobacillus acidophilus*.

**Гомоферментное брожение**

Глюкоза —————> 2 лактат

Кроме гомоферментного брожения существует брожение, вызываемое бифидобактериями.

**Бифидоброжение**

Глюкоза —> 3 ацетат + 2 лактат Согласно имеющимся в литературе данным [16, 23], в физиологических условиях спектр короткоцепочечных кислот во ВЖ представлен молочной кислотой и, в меньшей степени, другими короткоцепочечными кислотами.

Метаболические аспекты молочнокислого брожения представлены на рис. 1. При молочнокислом брожении из одного моля используемой глюкозы образуется 2 моля АТФ. Энергии 1 моля АТФ достаточно для синтеза 11г биомассы микроорганизмов. Таким образом в результате молочнокислого брожения из 1 моля глюкозы выделяется энергия, необходимая для синтеза 22 г ацидофильной флоры.

Кроме глюкозы, некоторые ацидофильные микроорганизмы в качестве субстрата брожения могут использовать лимонную кислоту (рис. 2), в результате

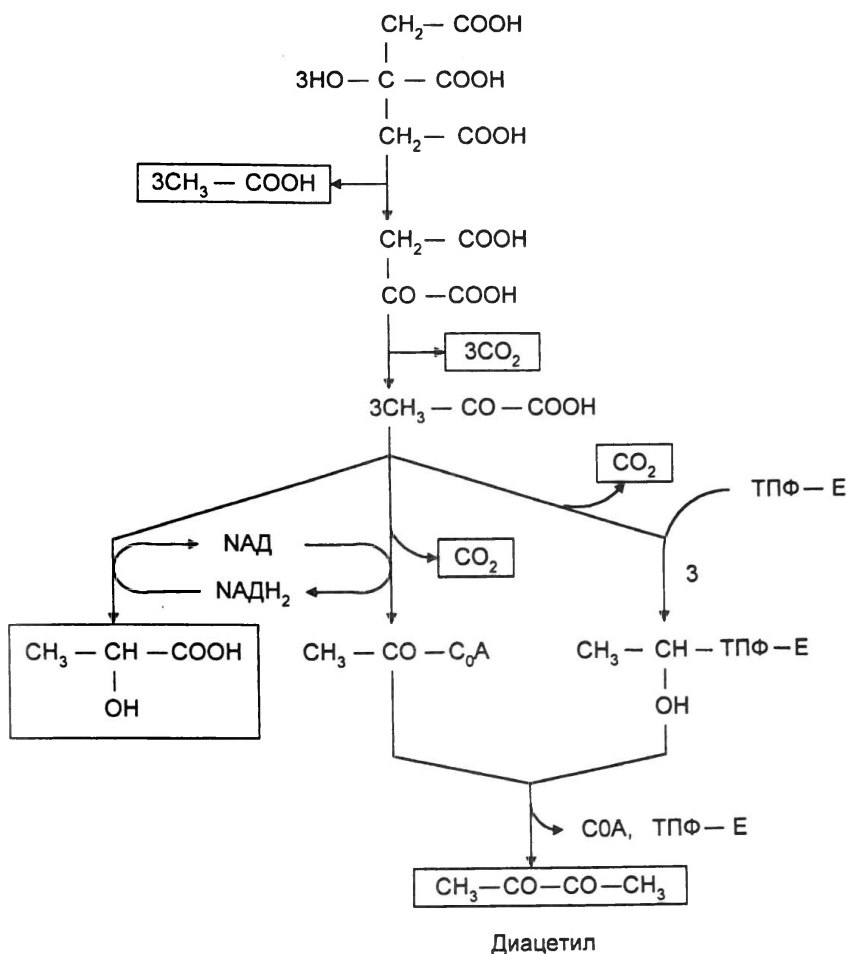


Рис. 2. Суммарное уравнение: 3 цитат  $\rightarrow$  лактат + 3 ацетат + 5CO<sub>2</sub> + диацетил

чего образуется лактат, ацетат, CO<sub>2</sub> и диацетил.

### Маслянокислое брожение.

В результате метаболизма облигатных анаэробов рода *Clostridium*, *Fusobacterium* и др. могут образовываться короткоцепочечные жирные кислоты: масляная, изомаляная пропионовая. Образование этих метаболитов происходит из гексозофосфатов при участии ферментной системы - пируват: ферредоксиноксидазы (рис. 3).

Ферредоксин относится к железосеропротеидам (м. м. 6000 Кд). Ферредоксин содержит 8 атомов железа, связанных с белковой молекулой цистеиновыми остатками полипептидной цепи. Между собой атомы железа соединены сульфидными мостиками. Таким образом, ферредоксин содержит 8 молекул сульфидных групп. Молекула этого белка наиболее стабильна в среде, близкой к нейтральной; при подкислении раствора ферредоксин распадается

с образованием сероводорода. Этим фактом можно частично объяснить губительность кислой среды для облигатных анаэробов, использующих для энергообеспечения маслянокислое брожение. Кроме этого, известно, что при манифестных формах БВ цвет выделений становится сероватокоричневым в 30% случаев БВ [3], что сопоставимо с окраской ферредоксина.

Все ферредоксины относятся к переносчикам электронов с низким окислительно-восстановительным потенциалом. Не этим ли можно объяснить низкий окислительно-восстановительный потенциал ВЖ при БВ?

Известно, что метаболическая активность микроорганизмов сопровождается изменением окислительно-восстановительного потенциала среды обитания [6]. При этом сам окислительно-восстановительный потенциал среды в значительной степени опре-

деляет возможности культуры микроорганизмов для размножения.

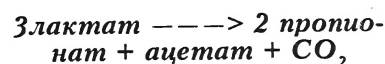
Начальная фаза деления бактерий связана со сдвигом редокс-потенциала в сторону отрицательных значений [9, 21].

Анаэробные штаммы способны создавать большие сдвиги окислительно-восстановительного потенциала по сравнению с аэробными микроорганизмами, однако анаэробы не способны влиять на среду с потенциалом, характерным для аэробных условий [21]. Именно поэтому генерация лактобациллами активных форм кислорода препятствует росту анаэробов. Внесение в среду акцепторов электронов полностью снижает задержку роста анаэробов [9].

Биохимизм функционирования пируват: ферредоксин-оксидоредуктазы сводится к образованию 2 молекул ацетил-СоА и 2 молекул CO<sub>2</sub> из молекулы глюкозы. Ацетил-СоА в дальнейшем используется для синтеза жирных кислот с короткой углеродной цепочкой (C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>). При парофазном анализе ВЖ от больных БВ и культуральной жидкости соответствующих анаэробных микроорганизмов, возбудителей БВ, установлена сопоставимость спектра летучих жирных кислот. Они в основном представлены масляной, изомаляной, валериановой, пропионовой кислотами.

Маслянокислое брожение энергетически несколько более выгодно, чем молочнокислое. Из 1 моля глюкозы образуется 3 моля АТФ. Этой энергии достаточно для образования 33 г биомассы микроорганизмов.

Кроме маслянокислого брожения, анаэробные микроорганизмы могут осуществлять пропионово-кислое брожение. Предпочтительным субстратом для пропионово-кислых бактерий является лактат:



Существуют два метаболических пути образования пропионата-акрилатный и суццинат-пропионатный. В первом лактат постепенно восстанавливается до

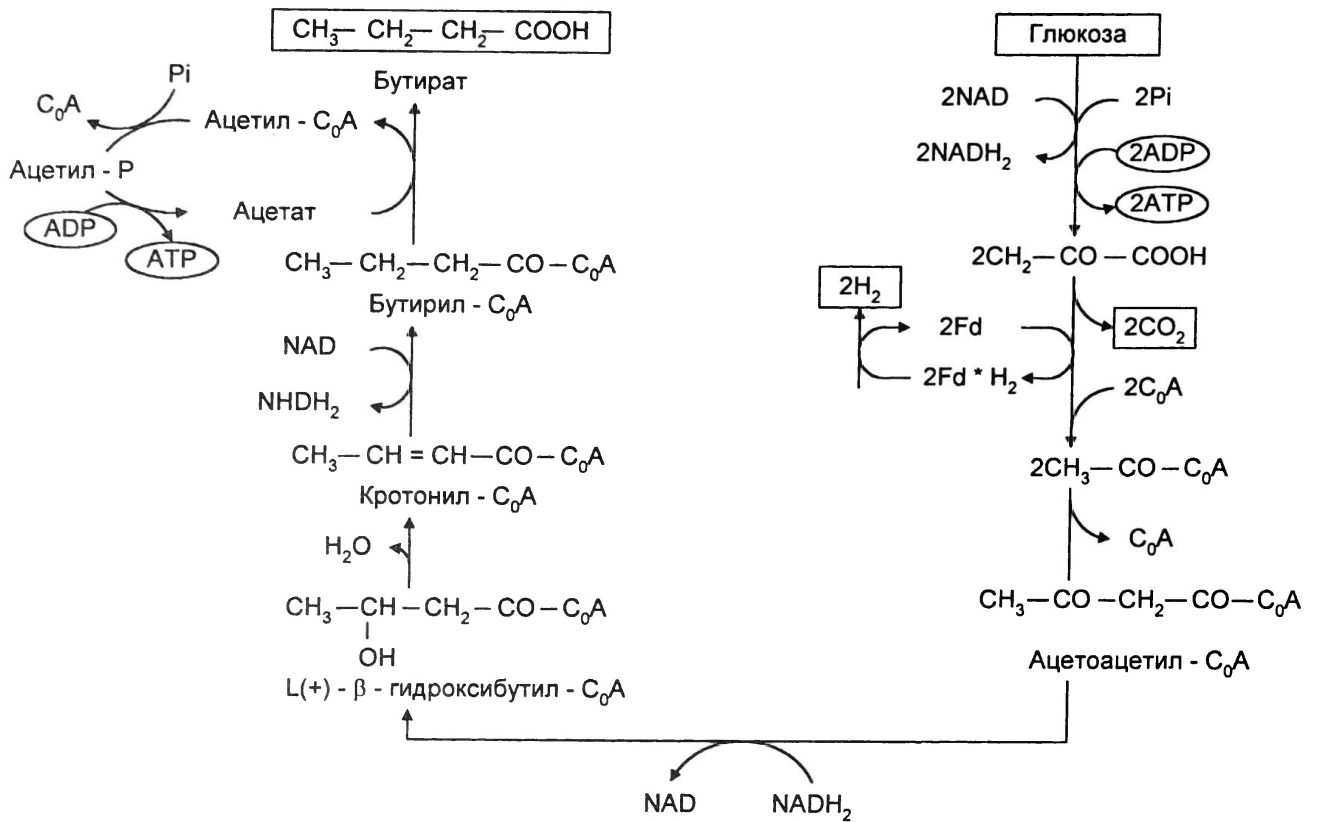


Рис. 3. Суммарное уравнение: глюкоза+3ADP+3Pi → бутират+2CO<sub>2</sub>+2H<sub>2</sub>+3ATP.

пропионата, а во втором лактат превращается в пропионат через стадии образования пирувата и сукцината (рис.4). Сукцинат-пропионатный путь имеет место при БВ, поскольку соотношение сукцинат/лактат значительно увеличивается (выше 0.4), и является диагностически значимым [22,15].

Кроме брожения глюкозы, для получения энергии анаэробами могут использоваться некоторые аминокислоты.

Глицин может сбрасываться до ацетата, аммиака и углекислого газа.

Треонин при участии фермента, сходного с пируват: ферредоксин-оксидоредуктазой, — до пропионовой кислоты.

Глутаминовая кислота используется анаэробными микроорганизмами с образованием уксусной и масляной кислот.

Аргинин сбрасывается до орнитина, углекислого газа и аммиака.

При физиологических условиях титр микробной флоры

составляет 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup>, а при БВ соответственно 10<sup>10</sup>-10<sup>11</sup> микроорганизмов в 1 мл ВЖ. Значительное преобладание при БВ микробиомассы, истощение запасов гликогена в клетках поверхностного слоя эпителия влагалища указывает на необходимость существования альтернативного источника энергообеспечения микробиоценоза при этом заболевании.

Нам представляется возможным наличие следующего варианта решения этого.

В результате смещения при БВ рН ВЖ в щелочную сторону создаются оптимальные условия для увеличения активности гидролитических и протеолитических ферментов. Нейтральная среда является оптимальной для таких ферментов как: амилаза, расщепляющая гликоген, сиалаза, муциназа и пролинаминопептидаза, осуществляющих деградацию белковых макромолекул, что особенно важно, коллагена. Кроме этого, смещение рН в щелочную сторону приводит к снижению уровня ионизированного кальция во ВЖ [10]. Эти процессы приводят к нарушению меж-

клеточных взаимодействий в глубоких слоях эпителия влагалища. В результате этого происходит избыточная десквамация, в том числе — и жизнеспособных клеток. Согласно нашим еще неопубликованным данным, содержание жизнеспособных клеток во ВЖ при БВ достигает 25 - 80%; в физиологических условиях — 2-12%.

В литературе описан и применяется в целях диагностики тест с определением «ключевых клеток» [1]. «Ключевая клетка» — это клетка эпителия, на поверхности которой адгезировалось значительное количество микроорганизмов. По нашему мнению, это жизнеспособные клетки влагалищного эпителия, энергетические возможности которых используют анаэробные микроорганизмы. Таким образом, «ключевая клетка» является проявлением энергетического паразитизма.

При БВ практически отсутствуют проявления классической воспалительной реакции (отек тканей, наличие большого количества нейтрофилов во ВЖ, гиперемия). Однако основной жалобой больных является повышен-

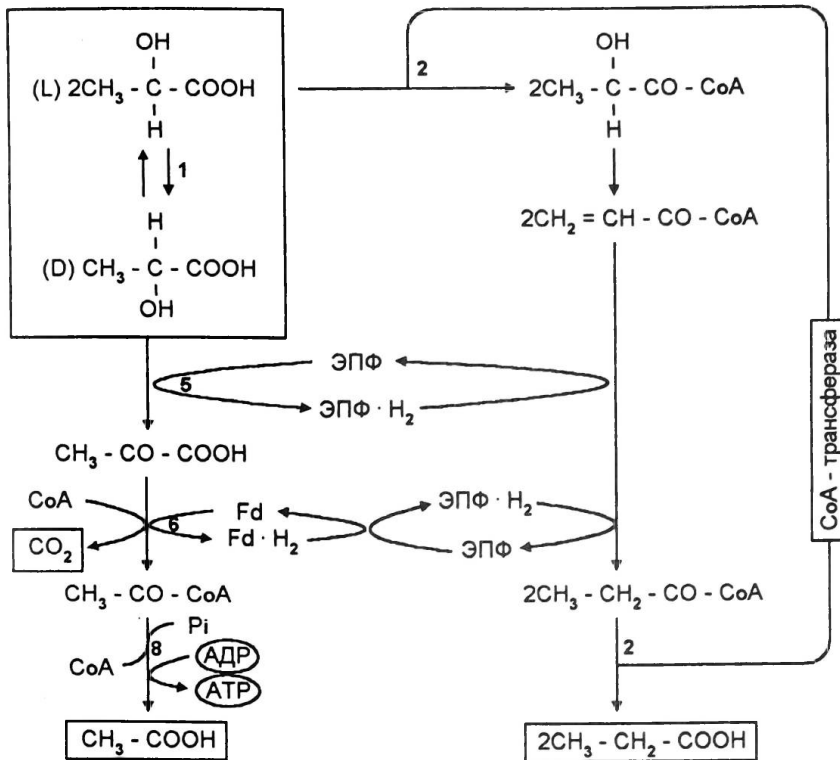


Рис. 4. Образование пропионата, ацетата, и  $\text{CO}_2$  из DL-лактата при брожении.

Суммарное уравнение: Злактат  $\rightarrow$  2пропионат+ацетат+ $\text{CO}_2$

- 1 - лактатрацемеза;
- 2 - CoA - трансфераза;
- 5 - Д - лактатдегидрогеназа;
- 6 - пируват: ферредоксин - оксидоредуктаза;
- 7 - трансгидрогеназа;
- 8 - фосфотрансацетилаза + ацетаткиназа.

ное образование белей. Бели при БВ представляют собой жидкость, в которой имеется большое количество микроорганизмов и эпителиальных клеток влагалища. Возникает вопрос: почему в отсутствии проявлений воспаления повышается содержание жидкого компонента ВЖ?

Согласно имеющимся в литературе данным, эпителий влагалища осуществляет активную реабсорбцию электролитов из влагалищной жидкости. Среди них ионы  $\text{Na}^+$  и связанная с ними вода. Поскольку клетки эпителия дезинтегрированы благодаря вышеописанным процессам и их энергетические возможности используются анаэробами, процессы реабсорбции ионов и воды из ВЖ могут быть нарушены.

Таким образом, на основании вышеизложенного можно утверж-

дать, что БВ в действительности является дисбиотическим состоянием влагалища, в основе которого лежат конкурентные метаболические взаимоотношения между ацидофильной и анаэробной флорой.

На основе понимания закономерностей этих взаимоотношений возможна разработка принципиально новых метаболических подходов в стратегии терапии бактериального вагиноза.

#### Литература.

1. Анкирская А.С. Бактериальный вагиноз. //Акуш. и гин.-1995.-N6.- С. 13 - 16.
2. Катранушкова Н., Златков В. //Акуш. и гинеко.- 1987.-Т.26.-N 2.-С. 17-23.
3. Кира Е.Ф. Бактериальный вагиноз (клиника, диагностика, лечение): Автореф. дисс ... Д-ра. мед. наук.-

СПб., 1995.

4. Лапченко М.Л., Карпов П.Ф. Бели у девочек.-Киев., 1985.
5. Ленинджер А. Биохимия. М., 1974.
6. Лукьянова Л.Д., Балмуханов В.С., Уголев А. Т. Кислородзависимые процессы в клетке и ее функциональные состояния.-М., 1982.
7. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге.- Новосибирск., 1989.
8. Метелица Д.И. Активация кислорода ферментными системами.-М., 1982.
9. Роботнова И. Л. Роль физико-химических условий в жизнедеятельности микроорганизмов. - М., 1957.
10. Тодоров И. Клинические лабораторные исследования в педиатрии. - София, 1968.
11. Цвелев Ю.В., Кира Е.Ф., Кочеровец В.И. Вопросы антибактериальной терапии инфекционных осложнений в неинфекционной клинике. - М., 1987.- С. 189 -190.
12. Amsel R., Totten P. A., Spiegel C.A.// Amer. J Mecl.-1983.- Vol. 74, Nl.- P. 14 - 22.
13. Bartlett J.G., Moon N.E., Goldstein P.R. //Amer. J. Obstet. Gynecol.- 1978.- Vol. 130, N6.- P. 658 - 661.
14. Bartlett J.G., Polk B. F. //Rev. Infect. Dis.- 1984.-Vol.6, suppl. 1.-P. 567- 572.
15. Bump R. C., Buesching W.J.//Amer. J. Obstet. Gynecol.-1988.- Vol. 158, N4.- P. 935 - 939.
16. Chen K. C., Amsel R., Eshenbach D.A., Holmes K.K.//J. Infect. Dis.- 1982.- Vol. 145, Nl.- P. 337 - 345.
17. Eshenbach D.A. //Curr. Opin. Obstet. Gynecol.-1994.- Vol. 6, N4.- p. 389.
18. Fridovich I.// Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.- 1983.-Vol.23, N5.-P. 239 -257.
19. Haber F., Weiss J. //Proc. Roy. Soc. London.- 1934.-Vol. 147, Nl.- P. 332 - 351.
20. Hallwell B. //Bull. Europ. Physiopathol. Respir.-1981.- Vol. 17, N3.- P. 21-26.
21. Hewitt L.F. Oxidation-reduction potentials potentials in bacteriology and biochemistry. Edinburg: Livingstone., 1950.
22. Stanek R., Gain R.E., et al.// Biomedical Chromatography.- 1982.-Vol. 5, N6.-P.-231- 235.
23. Van der Meijen W.I., Schmitz P.I.M. Drogendi Jk A.C., Stolz E.//Europ. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.-1988.- Vol. 27, Nl.- P. 53 - 64.
24. Wilks M., Thin R.N., Tabaqchali S.//J Microbiol.-1984.- Vol. 18, N2.- P. 217 - 231.