

СТАН НЕСПЕЦИФІЧНОГО ІМУНІТЕТУ ПРИ БАКТЕРІАЛЬНОМУ ДИСБІОЗІ ТА БАКТЕРІАЛЬНОМУ ВАГІНОЗІ

¹ Грузевський О.А. (<https://orcid.org/0000-0003-1953-8380>)

² Мінухін В.В. (<https://orcid.org/0000-0002-9682-9686>)

¹ Дзигал О.Ф. (<https://orcid.org/0000-0001-5108-1945>)

¹Одеський національний медичний університет, Одеса, Україна

²Інститут мікробіології та імунології імені І.І. Мечникова, Харків, Україна
gruzevskiy@ua.fm

Актуальність. Стан бактеріального дисбіозу та вагінозу (БВ) характеризується формуванням як системного, так і локального імунodefіциту, що відповідає збільшенню кількості патогенної мікробіоти. Потребує вивчення стан неспецифічних факторів клітинної та гуморальної резистентності при розвитку бактеріального дисбіозу та БВ.

Мета – визначити стан неспецифічного імунітету при бактеріальному дисбіозі та БВ за вмістом CD16+ клітин, а також показниками у крові та вагінальному секреті фагоцитарної активності лейкоцитів (ФАЛ) та вмісту компонентів комплементу С3 і С4.

Матеріали та методи. Залучені дані 298 жінок, які за індексом умовно-патогенної мікрофлори (ІУПМ) та показником мікробіоти (ПМБ) були розподілені на групи: нормоценоз (n=53), дисбіоз I (n=128) і II ступеню (n=117); серед останніх виокремлено 83 пацієнтки з ПНБ>1 Іg GE/зразок, в яких був встановлений БВ. Молекулярно-генетичні дослідження зіскрібка епітелію з задньобочкової стінки піхви проводили методом полімеразної ланцюгової реакції. Кількісно визначали факультативні і облигатні анаероби, міко- і уреплазми та дріжджоподібні гриби. Кількісне визначення клітин CD16+ проведено із застосуванням еритроцитарних діагностиків НПЛ «Гранум» (Україна). Традиційними імунологічними методами визначали ФАЛ та компоненти комплементу С3 і С4 в крові і вагінальній рідині. Для статистичного і регресійного аналізу використовували програму Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA).

Результати. При прогресуванні дисбіозу мало місце збільшення рівню у крові CD16-клітин, що сягало максимуму при дисбіозі II ступеню (у 1,1-1,2 рази; $p \leq 0,005$). При наростанні дисбіозу показано формування недостатності фагоцитозу, що було більшою мірою притаманне БВ та мало місце як на системному, так і на локальному рівнях (зниження ФАЛ крові у 2,5 рази та у 5,4 рази у вагінальному секреті). Вміст компонентів комплементу змінювався однаковим чином у крові та у вагінальному секреті – збільшувався при дисбіозі I ступеню та знижувався при дисбіозі II ступеню, максимальною мірою – при БВ (С3 – у 1,6 рази в крові і у 5,0 рази у вагінальному секреті; $p < 0,001$). Зміни досліджених показників були більш вираженими на локальному рівні.

Висновок. При прогресуванні бактеріального дисбіозу та БВ формувалася недостатність неспецифічного імунітету як на системному рівні, так і локально. Зміни досліджених показників у вагінальному секреті були більш вираженими, що сприяло розвитку БВ.

Ключові слова: бактеріальний вагіноз, CD16+, фагоцитарна активність лейкоцитів, комплемент

Актуальність. Бактеріальний вагіноз (БВ) являє собою інфекційний незапальний синдром, який проявляється вагінальним дисбіозом та супроводжується надмірним вмістом облигатно- і факультативно-анаеробних умовно патогенних мікроорганізмів при зниженні вмісту або відсутності *Lactobacillus spp.* [1, 2]. Проблема БВ має велике медичне значення, оскільки збільшення вмісту стрепто- та стафілококів, ентеробактерій у мікробіоті, кандидоз спричиняють запальні захворювання органів малого таза, передчасні пологи та інфекції матері і новонародженого [3, 4], обумовлюють підвищену чутливість до ВІЧ- [5] і папілома-вірусної інфекції та асоційовані з раком шийки матки [6, 7].

Причинами БВ є порушення екосистеми піхви внаслідок пригнічення природних захисних механізмів – мікробіоценозу піхви, утворення факторів

колоніальної резистентності, а також локального неспецифічного імунного захисту (реакцій фагоцитозу та активації комплементу, тощо) [8, 9]. Активовані молекулярними мікробними патогенами макрофаги слизової оболонки піхви через утворення прозапальних цитокінів [10] запускають клітинні і гуморальні імунні реакції [11]. При БВ на тлі збільшення абсолютної кількості умовно-патогенних чинників (*Gardnerella Vaginalis*, *Mycoplasma hominis* та інш.) спостерігається зниження системної і місцевої запальної реакції [12].

CD16, також відомий як FcγRIII, знаходиться на поверхні природних клітин-кілерів (NK), нейтрофілів, моноцитів та макрофагів [13] та активується Fc-ланцюгами антитіл IgG [14]. FcγRIII активує дегрануляцію, фагоцитоз та окислювальний вибух у нейтрофілах, що дозволяє їм руйнувати опсонізовані

патогени [15]. Активація NK через FcγRIII запускає лізис клітини-мішені та здійснює таким чином антитілозалежну клітинну цитотоксичність. Найголовнішим є здатність NK-клітин, на відміну від інших цитотоксичних клітин (у тому числі CD8), запускати цитоліз клітин-мішеней без пресенсибілізації та залучення антигенів МНС класів I або II [13]. До інших властивостей клітин CD16+ належить здатність до продукції цитокінів.

При БВ експресія CD16+ нейтрофілів була підвищена порівняно з нормоцинозом, що, на думку авторів, сприяє запаленню [16]. Поширеність *Gardnerella vaginalis* та грамнегативних анаеробів при БВ відповідала підвищенню CD16+ клітин у пацієнток з повторними викиднями, що вказувало на зв'язок між мікробіотою піхви, місцевим запаленням та недостатністю місцевого імунітету [17].

Система комплементу – це комплекс протеолітичних ферментів, призначений для гуморального захисту організму від дії патогенів, який є важливим компонентом неспецифічної імунної системи [13]. Центральний компонент цього каскаду – C3, активація якого за альтернативним шляхом здатна привести до знищення патогену без участі антитіл та макрофагів. Стан системи комплементу при бактеріальному дисбіозі та його роль у розвитку БВ потребують подальшого вивчення [8, 9].

Таким чином, актуальним завданням є уточнення стану неспецифічних факторів клітинної та гуморальної резистентності при розвитку бактеріального дисбіозу та БВ.

Мета дослідження – визначити стан неспецифічного імунітету при бактеріальному дисбіозі та БВ за вмістом CD16+ клітин, а також показниками у крові та вагінальному секреті фагоцитарної активності лейкоцитів (ФАЛ) та вмісту компонентів комплементу C3 і C4.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У дослідженні обстежено 298 жінок у віці від 16 до 64 років, які звернулися до гінеколога для профілактичного огляду або з приводу скарг на дискомфорт в області геніталій. Критерієм виключення була наявність у зіскрібках епітелію піхви безумовно патогенних мікроорганізмів (*Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* та *Herpes Simplex Virus 1,2*). Присутність у вагінальних мазках більш ніж 15-20 лейкоцитів в полі зору, що вказувало на наявність запальної реакції, також було критерієм виключення.

Під час огляду проводили взяття зіскрібка епітелію з задньобочкової стінки піхви за допомогою урогенітального зонда. Молекулярно-генетичні дослідження проводили методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). ДНК виділяли за допомогою набору реактивів «Проба-ГС» (ТОВ «ДНК-технологія», РФ). Ампліфікацію пробірок з реакційною

сумішшю проводили в ампліфікаторі «DTLite» (ТОВ «ДНК-технологія», РФ). Для дослідження стану біоценозу піхви використовували тест-систему «Фемофлор 16», яка призначена для проведення ПЛР в режимі реального часу. Мікробіоту кількісно оцінювати за такими показниками [18]: загальна бактеріальна маса (ЗБМ), нормобіота (*Lactobacillus spp.*), облигатні анаероби (*Atopobium vaginalis*, *Eubacterium spp.*, *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia*, *Porphyromonas spp.*, *Lachnobacterium spp.*, *Clostridium spp.*, *Megasphaera spp.*, *Veilonella spp.*, *Dialister spp.*, *Mobiluncus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Peptostreptococ spp.*, *Sneathia spp.*, *Leptotrichia spp.*, *Fusobacterium spp.*), факультативні анаероби (*Enterobacteriaceae spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*), мікоплазма (*Ureaplasma urealiticum* + *parvum*, *Mycoplasma hominis* + *genitalium*) і дріжджоподібні гриби (*Candida spp.*).

Критерієм для розподілу пацієнток на групи був обраний індекс умовно-патогенної мікрофлори (ІУПМ), який розраховували, як різницю між сумою всіх умовно-патогенних мікроорганізмів і кількістю лактобактерій (в Іг ГЕ/зразок). При нормоценозі ІУПМ був нижчим від -3 Іг ГЕ/зразок (1 група; n=53), при дисбіозі I ступеня ІУПМ був у діапазоні від -3 до -1 Іг ГЕ/зразок (2 група; n=128) і при дисбіозі II ступеню ІУПМ був більше -1 Іг ГЕ/зразок (3 група; n=117) [19]. Групи з дисбіозом розподіляли на підгрупи за показником нормобіоти (ПНБ), який розраховували як різницю між ЗБМ і кількістю лактобактерій (в Іг ГЕ/зразок). У 2 групі виділено три підгрупи: перша – з ПНБ ≤ 0,3 Іг ГЕ/зразок (n=23), друга – з ПНБ від 0,3 до 1,0 Іг ГЕ/зразок (n=83) і третя – з ПНБ > 1 Іг ГЕ/зразок (n=22). У 3 групі виділено дві підгрупи: перша – з ПНБ ≤ 1 Іг ГЕ/зразок (n=34) і друга – з ПНБ > 1 Іг ГЕ/зразок (n=83). В останній підгрупі ступінь дисбіозу був максимальним та відповідав стану БВ [20].

Кількісне визначення клітин CD16+ проведено із застосуванням еритроцитарних діагностикумів НПЛ «Гранум» (Україна). Визначення фагоцитарної активності лейкоцитів (ФАЛ) проводили з використанням суспензії клітин дріжджів (НПЛ «Гранум», Україна). Після фарбування за Романовським-Гімза мазки вивчали під мікроскопом у імерсійній системі (не менше 200 клітин) і розраховували показники фагоцитозу: фагоцитарна активність лейкоцитів (ФАЛ) – середнє число часток, поглинутих одним активним нейтрофілом і індекс ФАЛ (І_{ФАЛ}) – відсоток фагоцитів з числа полічених нейтрофілів. Кількісне визначення компонентів комплементу C3 і C4 в крові і вагінальної рідини проводили імунотурбодиметричним методом з використанням реагентів «PLIVA-Lachema Diagnostica s.r.o» (Чехія). Каламутність розчинів при турбодиметрії вимірювали на лабораторному турбодиметрі 2100 N IS (Hach, USA).

Для описової статистики даних використовували середнє арифметичне (M) і помилку середньої (m).

Парні незалежні вибірки даних порівнювали за критерієм Манна-Уїтні (U). Значимість всіх відмінностей приймали при $p < 0,05$. Для статистичної обробки отриманих даних використовували пакет програм Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У наших дослідженнях (табл. 1) з'ясовано, що вміст у крові клітин CD16+ перевищує такий при нормоценозі у третій підгрупі 2 групи та у 3 групі, причому приблизно однаковою мірою – у 1,1-1,2 рази ($p < 0,005$). Така динаміка відображена на рисунку 1 та вказує на активацію системи клітинної неспецифічної резистентності при прогресуванні дисбіозу за умов його значного вираження

Наявність достеменних трендів, які показували зміни показників вмісту у крові клітин CD16+ при розвитку дисбіозу та БВ підтверджена дисперсійним аналізом оцінки розбіжностей відповідних показників між підгрупами (табл. 1): величина F склала 12,7 ($p < 0,001$).

Отже, такі результати вказували на залежність ступеню прогресування дисбіозу та активації клітин CD16+, яка сягала максимального ступеню при вираженому дисбіозі. Відомо, що після зв'язування з

Fc-фрагментом IgG, CD16 індукуює генетичну транскрипцію прозапальних цитокінів, що може пригнічуватися бактеріальними ліпополісахаридами [17] та може реалізуватися на тлі БВ.

Активність основної ланки неспецифічної клітинної резистентності – фагоцитозу – оцінювали за рівнем фагоцитарної активності лейкоцитів (ФАЛ) периферичної крові та за $I_{\text{ФАЛ}}$ (табл. 1). ФАЛ показує: скільки, у середньому, кожний лейкоцит крові має поглинути латексних часток, і в нормі складає $11,3 \pm 1,0$ ум.од. [13]. У нашому дослідженні при нормоценозі величина ФАЛ склала $10,19 \pm 0,23$ ум.од. Загальною динамікою показника виявилось його зниження відповідно до тяжкості дисбіозу (рис. 2): ФАЛ була знижена майже однаковою мірою у 3-й підгрупі 2-ої групи та у 1-й підгрупі 3-ої групи (у 1,4-1,6 рази; $p < 0,001$), тобто – за умов розвитку вираженого дисбіозу. Максимальною мірою ФАЛ була зниженою у 2-й підгрупі 3-ої групи, тобто при БВ (у 2,5 рази; $p < 0,001$). Відповідно, ФАЛ при БВ був значуще нижче показників за розвинений дисбіоз (у 1,5-1,8 рази; $p < 0,001$).

$I_{\text{ФАЛ}}$ у крові, який у відсотках відображає частку клітин, що вступили у фагоцитоз, від їх загальної кількості, при нормоценозі склав $51,6 \pm 0,92\%$ (див. табл. 1). Тобто, в нормі близько половини лейкоцитів

Таблиця 1

Деякі показники неспецифічної імунної резистентності у крові (M \pm m)

Група	Підгрупа	CD16, Г/л	ФАЛ, ум.од.	$I_{\text{ФАЛ}}$, %	С3, мг/мл	С4, мг/мл
1 (нормоценоз), n=53		0,17 \pm 0,05	10,19 \pm 0,23	51,60 \pm 0,92	1,295 \pm 0,037	0,346 \pm 0,008
2 (дисбіоз I ступеня), n=128	1 (n=23)	0,16 \pm 0,01	10,10 \pm 0,44	54,42 \pm 1,91	1,377 \pm 0,073	0,350 \pm 0,014
	2 (n=83)	0,18 \pm 0,06	9,75 \pm 0,24	52,71 \pm 0,82	1,932 \pm 0,037	0,762 \pm 0,014
	3 (n=22)	0,20 \pm 0,06	6,27 \pm 0,26	36,81 \pm 1,18	2,150 \pm 0,061	0,775 \pm 0,033
3 (дисбіоз II ступеня), n=117	1 (n=34)	0,20 \pm 0,05	7,25 \pm 0,23	37,04 \pm 1,22	1,428 \pm 0,042	0,509 \pm 0,012
	2 (n=83)	0,22 \pm 0,04	4,07 \pm 0,07	22,57 \pm 0,39	0,780 \pm 0,014	0,301 \pm 0,005
Статистична процедура порівняння результатів						
$p(\text{MW})^1$		0,309	0,635	0,205	0,336	0,534
$p(\text{MW})^2$		0,911	0,265	0,215	<0,001	<0,001
$p(\text{MW})^3$		0,005	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
$p(\text{MW})^4$		<0,001	<0,001	<0,001	0,025	<0,001
$p(\text{MW})^5$		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
F		12,676	150,717	244,001	189,827	278,792
p		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Примітки: вірогідність розбіжностей з використанням U-критерію Манна-Уїтні між відповідними показниками в 1 групі та: $p(\text{MW})^1$ – в 1-й підгрупі 2-ї групи, $p(\text{MW})^2$ – в 2-й підгрупі 2-ї групи, $p(\text{MW})^3$ – в 3-й підгрупі 2-ї групи, $p(\text{MW})^4$ – в 1-й підгрупі 3-ї групи, $p(\text{MW})^5$ – в 2-й підгрупі 3-ї групи; F – результат і p – вірогідність дисперсійного аналізу оцінки розбіжностей відповідних показників між підгрупами

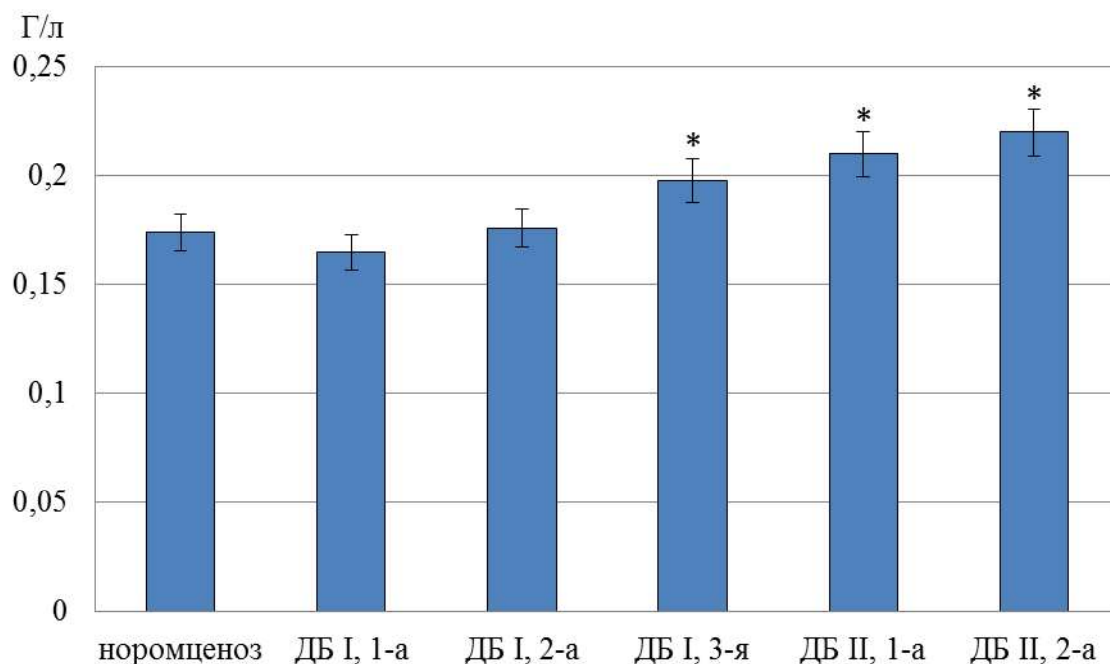


Рис. 1. Вміст у крові клітин CD16+ (Г/л) залежно від ступеня дисбіозу; ДБ I – дисбіоз I ступеню, ДБ II – дисбіоз II ступеню; 1-а, 2-а, 3-я – підгрупи; * – $p < 0,005$ у порівнянні з нормоценозом

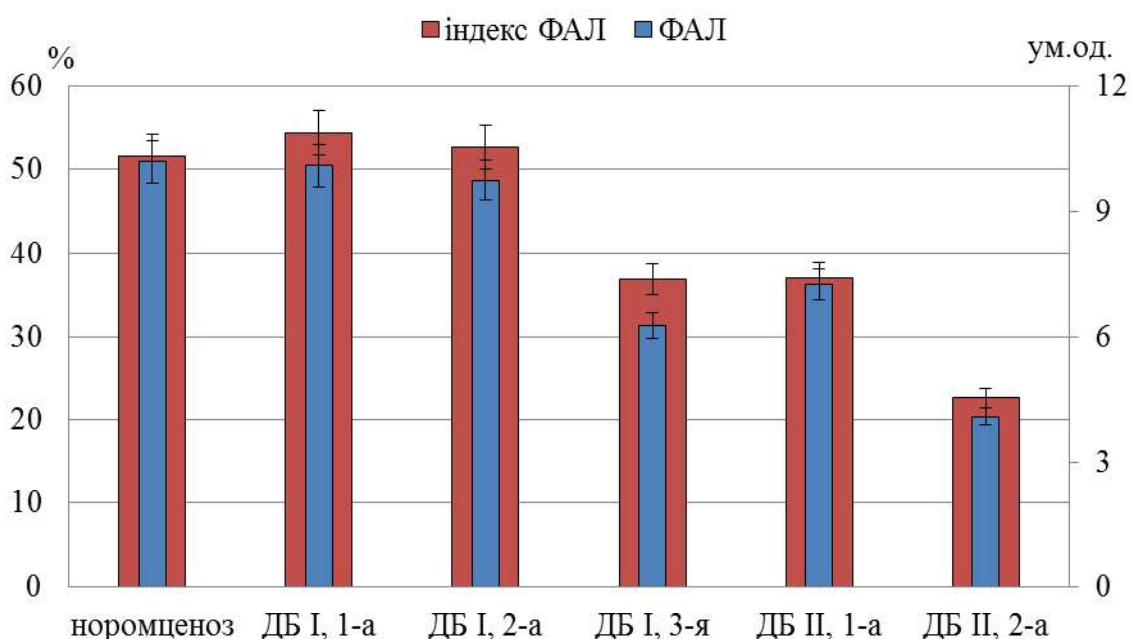


Рис. 2. ФАЛ (ум.од., ліва вісь) та $I_{\text{ФАЛ}}$ (% , права вісь) у крові залежно від ступеня дисбіозу; ДБ I – дисбіоз I ступеню, ДБ II – дисбіоз II ступеню; 1-а, 2-а, 3-я – підгрупи; статистичну значущість різниць наведено в таблиці 1

периферичної крові знаходилися у стані фагоцитозу. У наших дослідженнях (див. рис. 2) $I_{\text{ФАЛ}}$ знижувався при дисбіозі I ступеня в 3-й підгрупі та при дисбіозі II ступеню (у 1,4 рази в обох випадках; $p < 0,001$). Максимальною мірою зниження показника було відмічено при БВ – у 2,3 рази ($p < 0,001$).

Отже, обидва показники активності фагоцитозу лейкоцитів крові мали схожу динаміку – були зниже-

ними при дисбіозі I ступеню у 3-й підгрупі та при дисбіозі II ступеню (максимальною мірою при БВ). Таким чином, за умов наростання тяжкості дисбіозу показано формування недостатності фагоцитозу, що було більшою мірою притаманне БВ.

Наявність достеменних трендів, які показували зміни показників ФАЛ та $I_{\text{ФАЛ}}$ при розвитку дисбіозу та БВ, підтверджена дисперсійним аналізом оцінки

розбіжностей відповідних показників між підгрупами (табл. 1): величини F склали, відповідно, 150,7 і 244,0 ($p < 0,001$).

Показники неспецифічної резистентності – ФАЛ та $I_{\text{ФАЛ}}$ у вагінальному секреті наведено у таблиці 2.

$I_{\text{ФАЛ}}$ при нормоценозі варіював від 14 % до 45 %, причому більшість показників (68 %) були в інтервалі від 27 % до 36 %. ФАЛ вагінального секрету при нормоценозі варіювала у досить широких межах – від 2,9 у.о. до 6,4 у.о., причому більшість показників (74 %) були в діапазоні 2,9-4,3 у.о. Тобто, в нормі близько третини лейкоцитів, знайдених у вагінальному секреті, були у стані фагоцитозу, а кожен фагоцитуючий лейкоцит мав від 3 до 5 поглинених лактосних часток.

Згідно з отриманих даних (рис. 3), обидва показники було підвищено при дисбіозі I ступеня в 1-й підгрупі, натомість статистичне підтвердження цього підвищення отримано лише для ФАЛ – на 26,5 % ($p < 0,001$). У подальшому показники планомірно та паралельно знижувалися та при дисбіозі II ступеня в 2-й підгрупі склали по 18 % від відповідних показників нормоценозу. Розкид $I_{\text{ФАЛ}}$ склав від 3 % до 0 %, тобто клітин, що фагоцитують, спостерігалось дуже мало, причому вони містили щонайбільше одну лактосну часточку. На підставі цих даних можна дійти висновку про суттєве пригнічення ФАЛ вагінального

секрету в міру збільшення ступеня дисбіозу та, відповідно, про розвиток локального неспецифічного клітинного імунодефіциту.

Таким чином, показники активності фагоцитозу лейкоцитів вагінального секрету також, як і крові, знижувалися відповідно до тяжкості дисбіозу, що дозволило встановити розвиток неспецифічного фагоцитарного імунодефіциту, який мав не тільки локальний, а й системний характер.

Компонент комплементу С3 є основним білком у системі комплементу, який складає 70% від загального білка цієї системи та здатний активуватися як за класичним способом (завдяки IgG, IgM), так і за альтернативним (завдяки IgA, IgE, Fab-фрагментам імуноглобулінів, ліпополісахаридам) [13].

У наших дослідженнях (табл. 1) вміст у крові С3 планомірно збільшувався у порівнянні з нормоценозом при дисбіозі I ступеня (у 1,5-1,7 рази; $p < 0,001$), тоді як при БВ був значно зниженим (у 1,7; $p < 0,001$). Отже, можна заключити, що система комплементу активувалася при дисбіозі I ступеня залежно від його вираженості. Паралельне збільшення при дисбіозі I ступеню рівня у крові С4 (у 2,2 рази; $p < 0,001$) показувало, що комплемент активувався за класичним шляхом, що могло бути пов'язаним з наростанням рівню у крові IgM, що було показано у аналогічних дослідженнях [9].

Таблиця 2

Деякі показники неспецифічної імунної резистентності у вагінальному секреті ($M \pm m$)

Група, підгрупа		ФАЛ, у.о.	$I_{\text{ФАЛ}}$ %	С3, мкг/мл	С4, мкг/мл
1-а (нормоценоз), n=53		3,24±0,13	32,0±1,0	15,6±0,43	3,53±0,07
2-а (дисбіоз I ступеня), n=128	1-а, n=23	4,10±0,12	35,4±1,5	17,4±0,8	3,64±0,11
	2-а, n=83	2,03±0,04	22,3±0,4	20,5±0,3 ^{1,2}	4,62±0,08
	3-я, n=22	1,20±0,05	11,9±0,4	12,5±0,4	2,28±0,07
3-я (дисбіоз II ступеня), n=117	1-а, n=34	1,02±0,03	8,1±0,2	7,8±0,2	1,19±0,03
	2-а, n=83	0,60±0,01	5,9±0,1	3,1±0,1	0,60±0,01
Статистична процедура порівняння результатів					
$p(MW)^1$		<0,001	0,094	0,065	0,541
$p(MW)^2$		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
$p(MW)^3$		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
$p(MW)^4$		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
$p(MW)^5$		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
F		349,545	380,932	555,406	654,759
P		<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Примітки аналогічні таким у таблиці 1

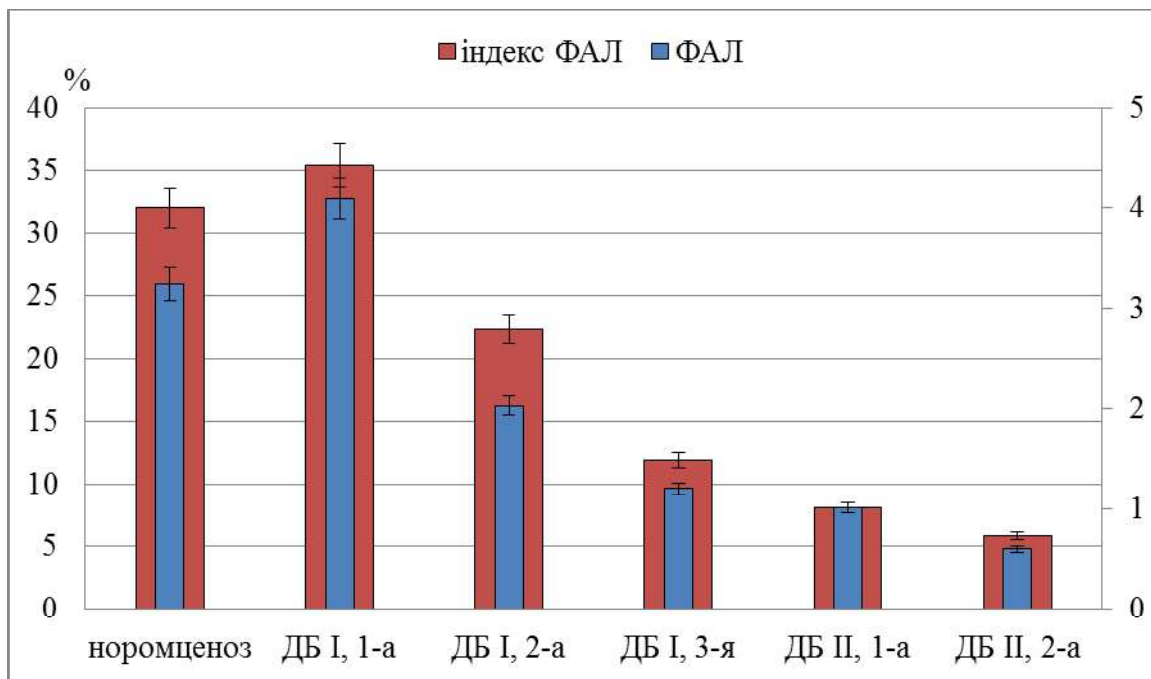


Рис. 3. ФАЛ (у.о., ліва вісь) та $I_{\text{ФАЛ}}$ (% , права вісь) у вагінальному секреті обстежених залежно від ступеня дисбіозу; ДБ I – дисбіоз I ступеню, ДБ II – дисбіоз II ступеню; 1-а, 2-а, 3-я – підгрупи; статистичну значущість різниць наведено в таблиці 2

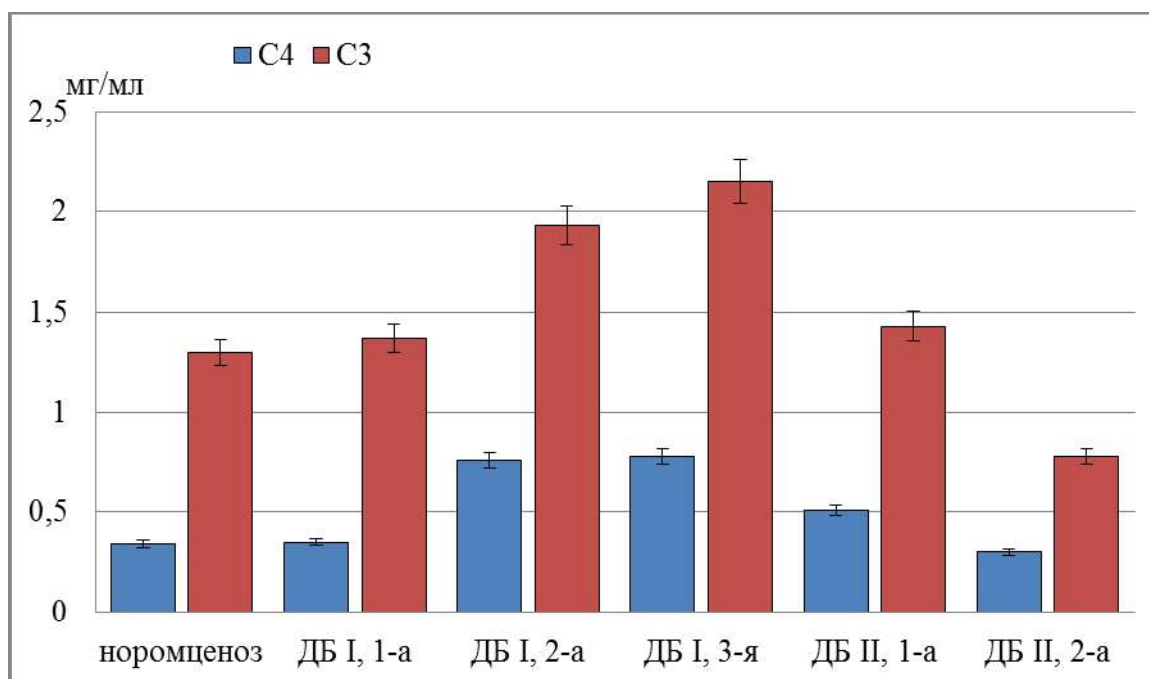


Рис. 4. Вміст компонентів комплементу C4 та C3 (мг/мл) у крові залежно від ступеня дисбіозу; ДБ I – дисбіоз I ступеню, ДБ II – дисбіоз II ступеню; 1-а, 2-а, 3-я – підгрупи; статистичну значущість різниць наведено в таблиці 1

При дисбіозі II ступеню і, особливо, за умов розвитку БВ рівні і C3, і C4 були зниженими (відповідно, у 1,7 та 1,1 рази; $p < 0,001$ для обох випадків), що вказувало на зниження активації системи комплементу за класичним шляхом та можливе переключення на альтернативний шлях (накопичення у крові бактеріальних ліпополісахаридів).

У вагінальному секреті вміст компонентів комплементу C3 і C4 (табл. 2) був підвищеним порівняно з показником нормоценозу при дисбіозі I ступеня (2-а підгрупа – в 1,3 рази; $p < 0,05$), знижувався з переходом до дисбіозу II ступеня (до 50-66 % від рівня нормоценозу) та різко знижувався на тлі БВ (до 20 % для C3 і до 17 % для C4; $p < 0,05$).

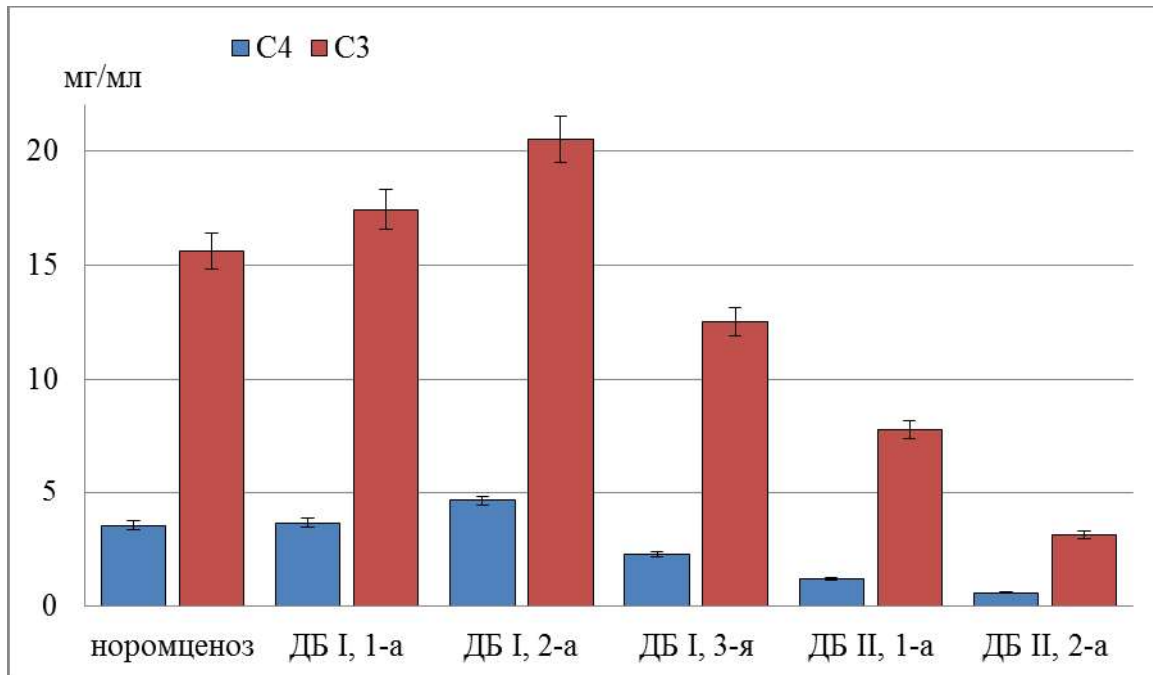


Рис. 5. Вміст компонентів комплементу C3 і C4 у вагінальному секреті залежно від ступеня дисбіозу; ДБ I – дисбіоз I ступеню, ДБ II – дисбіоз II ступеню; 1-а, 2-а, 3-я – підгрупи; статистичну значущість різниць наведено в таблиці 2

Наявність достеменних трендів, які показували зміни вмісту C3 та C4 у крові та вагінальному секреті при розвитку дисбіозу та БВ, підтверджена дисперсійним аналізом оцінки розбіжностей відповідних показників між підгрупами (табл. 1 і 2; $p < 0,001$ для всіх порівнянь). Це свідчило про значущість стану системи комплементу для розподілу пацієток на групи, тобто – про зв'язок розвитку бактеріального дисбіозу з вмістом C3 та C4.

Порівняльне дослідження рівнів C3 і C4 у крові та вагінальному секреті показало, що локальні зміни були більш вираженими, ніж системні, та, можливо, були обумовлені само ними (переключення механізму активації системи комплементу з класичного (причина – зниження рівню IgM) на альтернативний (причина – накопичення у крові ліпополісахаридів) шлях.

ВИСНОВКИ

1. При прогресуванні дисбіозу мало місце збільшення рівню у крові клітин CD16+, що сягало максимуму при дисбіозі II ступеню (у 1,1-1,2 рази; $p < 0,005$).
2. При наростанні вираженості дисбіозу показано формування недостатності фагоцитозу, що було більшою мірою притаманне БВ та мало місце як на системному, так і на локальному рівнях (зниження ФАЛ крові у 2,5 рази, в у 5,4 рази у вагінальному секреті).
3. Вміст компонентів комплементу C3 та C4 змінювався однаково чиним у крові та у вагінальному секреті – збільшувався при дисбіозі I ступеню та знижувався при дисбіозі II ступеню, максимальною мірою – при БВ (C3 – у 1,6 рази в крові і у 5,0 рази у вагінальному секреті; $p < 0,001$).

4. Локальні зміни досліджених показників ФАЛ та системи комплементу були більш вираженими на локальному рівні, що сприяло розвитку БВ.

Конфлікт інтересів: відсутній.
Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.
Надійшла до редакції / Received: 18.12.2019
Після доопрацювання / Revised: 20.01.2020
Прийнято до друку / Accepted: 28.02.2020

REFERENCES

1. Kira E.F. [Bacterial vaginosis]. Moscow: Medical Information Agency, 2012. 472 p. [in Russian]
2. Bautista CT, Wurapa E, Sateren WB, Morris S, Hollingsworth B, Sanchez JL. Bacterial vaginosis: a synthesis of the literature on etiology, prevalence, risk factors, and relationship with chlamydia and gonorrhea infections // *Mil Med Res*. 2016; 3:4. Doi: 10.1186/s40779-016-0074-5.
3. Nasioudis D., Linhares I.M., Ledger W.J., Witkin S.S. Bacterial vaginosis: a critical analysis of current knowledge // *BJOG*. 2017;1 24(1): 61-9. doi: 10.1111/1471-0528.14209.
4. van de Wijgert JHM, Jaspers V2. The global health impact of vaginal dysbiosis // *Res Microbiol*. 2017; 168 (9-10): 859-64. doi: 10.1016/j.resmic.2017.02.003.
5. McKinnon L.R., Achilles S.L., Bradshaw C.S., Burgener A., Crucitti T., Fredricks D.N., Jaspán H.B., Kaul R. et al. The evolving facets of bacterial vaginosis: implications for HIV transmission // *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2019; 35(3): 219-28. doi: 10.1089/AID.2018.0304.
6. Brusselsaers N., Shrestha S., van de Wijgert J., Verstraelen H. Vaginal dysbiosis and the risk of human papillomavirus and cervical cancer: systematic review

- and meta-analysis // *Am J Obstet Gynecol.* 2019; 221(1): 9-18.e8. doi: 10.1016/j.ajog.2018.12.011.
7. Reid G. Is bacterial vaginosis a disease? // *Appl Microbiol Biotechnol.* 2018; 102(2): 553-8. doi: 10.1007/s00253-017-8659-9.
 8. Coudray M.S., Madhivanan P. Bacterial vaginosis – A brief synopsis of the literature // *Eur. J. Obstet. Gynecol Reprod Biol.* 2020; 245: 143-8. doi: 10.1016/j.ejogrb.2019.12.035.
 9. Muzny C.A., Taylor C.M., Swords W.E., Tamhane A., Chattopadhyay D., Cerca N., Schwebke J.R. An updated conceptual model on the pathogenesis of bacterial vaginosis. // *J. Infect. Dis.* 2019; 220(9): 1399-405. doi: 10.1093/infdis/jiz342.
 10. Masson L., Barnabas S., Deese J., Lennard K., Dabee S., Gamielien H., Jaumdally S.Z., Williamson A.L. et al. Inflammatory cytokine biomarkers of asymptomatic sexually transmitted infections and vaginal dysbiosis: a multicentre validation study // *Sex Transm Infect.* 2019; 95(1): 5-12. doi: 10.1136/sextrans-2017-053506.
 11. Hickey R.J., Zhou X., Pierson J.D., Ravel J., Forney L.J. Understanding vaginal microbiome complexity from an ecological perspective // *Transl Res.* 2012; 160(4): 267-82. doi: 10.1016/j.trsl.2012.02.008.
 12. Cox C., Watt A.P., McKenna J.P., Coyle P.V. Mycoplasma hominis and Gardnerella vaginalis display a significant synergistic relationship in bacterial vaginosis // *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2016; 35 (3): 481-7. doi: 10.1007/s10096-015-2564-x.
 13. Delves P.J., Martin S.J., Burton D.R., Roitt I.M. Roitt's Essential Immunology, 13th Edition. 2016. Wiley-Blackwell, 576 p.
 14. Yeap W.H., Wong K.L., Shimasaki N., Teo E.C.Y., Quek J.K.S., Yong H.X., Diong C.P., Bertolotti A., Linn Y.C., Wong S.C. CD16 is indispensable for antibody-dependent cellular cytotoxicity by human monocytes // *Sci Rep.* 2016; 6: 34310. doi: 10.1038/srep34310.
 15. Zhang Y., Boesen C.C., Radaev S., Brooks A.G., Fridman W.H., Sautes-Fridman C., Sun P.D.. Crystal structure of the extracellular domain of a human FcγRIII // *Immunity.* 2000; 13 (3): 387-95. doi:10.1016/S1074-7613(00)00038-8.
 16. Beghini J., Giraldo P.C., Riboldi R., Amaral R.L., Eleutério J. Jr., Witkin S.S., Guimarães F. Altered CD16 expression on vaginal neutrophils from women with vaginitis // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2013; 167(1): 96-9. doi: 10.1016/j.ejogrb.2012.11.008.
 17. Kuon R.J., Togawa R., Vomstein K., Weber M., Goeggl T., Strowitzki T., Markert U.R., Zimmermann S., Daniel V., Dalpke A.H., Toth B. Higher prevalence of colonization with Gardnerella vaginalis and gram-negative anaerobes in patients with recurrent miscarriage and elevated peripheral natural killer cells // *J Reprod Immunol.* 2017; 120: 15-9. doi: 10.1016/j.jri.2017.03.001.
 18. Lipova E.V., Boldyreva M.N., Trofimov D.Yu., Vitvitskaya Yu.G. [Femoflor. Urogenital infections caused by opportunistic biota in women of reproductive age (clinical and laboratory diagnostics). Manual for doctors]. Moscow: DNA technology. 2015. 30 p. [in Russian]
 19. Gruzevskyy O.A., Vladymirova M.P. [Results of a complex bacteriological study of vaginal contents under the conditions of bacterial vaginosis] // *Ach biol and med.* 2014; 2: 54-7. [in Ukrainian]
 20. Gruzevskyy O.A. [Colonization resistance in vaginal dysbiosis: the state of humoral and cellular links] // *Bull marine med.* 2017; 4(77): 103-7. [in Russian]

СОСТОЯНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ИММУНИТЕТА ПРИ БАКТЕРИАЛЬНОМ ДИСБИОЗЕ И БАКТЕРИАЛЬНОМ ВАГИНОЗЕ

¹Грузевський А.А., ²Минухин В.В., ¹Дзигал О.Ф.

¹Одеський національний медичинський університет, Одеса, Україна

²Інститут мікробіології та імунології імені І.І. Мечникова, Харків, Україна
gruzevskiy@ua.fm

Актуальність. Состояние бактериального дисбиоза и вагиноза (БВ) характеризуется формированием как системного, так и локального иммунодефицита, что соответствует увеличению количества патогенной микробиоты. Необходимо изучить состояние неспецифических факторов клеточного и гуморального резистентности при развитии бактериального дисбиоза и БВ.

Цель – определить состояние неспецифического иммунитета при бактериальном дисбиозе и БВ по содержанию клеток CD16+, а также показателями в крови и вагинальном секрете фагоцитарной активности лейкоцитов (ФАЛ) и содержания компонентов комплемента С3 и С4.

Материал и методы. Использованы данные 298 женщин, которых по индексу условно-патогенной микрофлоры (ИУПМ) и показателю микробиоты (ПМБ) распределили на группы: нормоценоз (n=53), дисбиоз I (n=128) и II степени (n=117), среди последних выделили 83 пациентки с ПНБ>1 Ig ГЭ/образце, у которых был установлен БВ. Молекулярно-генетические исследования соскоба эпителия с заднебоковой стенки влагалища проводили методом полимеразной цепной реакции. Количественное определение факультативные и облигатные анаэробы, мико- и уреоплазмы, дрожжеподобные грибы. Количественное определение клеток CD16+ проведено с применением эритроцитарных диагностикумов НПЛ «Гранум» (Украина). Традиционными иммунологическими методами определяли ФАЛ и компоненты комплемента С3 и С4 в крови и влагалищной жидкости. Для статистического и регрессионного анализа использовали программу Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA).

Результаты. При прогрессировании дисбиоза имело место увеличение уровня в крови клеток CD16+, которое достигало максимума при дисбиозе II степени (в 1,1-1,2 раза; p<0,005). При нарастании дисбиоза показано формирование недостаточно-

сти фагоцитоза, що було в більшій мірі присуще БВ і мало місце як на системному, так і на локальному рівнях (зниження ФАЛ крові в 2,5 рази, в 5,4 рази в вагінальному секреті). Вміст компонентів комплементу змінювався однаково в крові і в вагінальному секреті – збільшувався при дисбіозі I ступені і знижувався при дисбіозі II ступені, в максимальній ступені – при БВ (C3 – в 1,6 рази в крові і в 5,0 рази в вагінальному секреті; $p < 0,001$). Локальні зміни досліджуваних показателів були більш вираженими, що сприяло розвитку БВ.

Висновки. При прогресуванні бактеріального дисбіозу формувалася недостаточність неспецифічного імунітету як на системному рівні, так і локально. Зміни досліджуваних показателів в вагінальному секреті були більш вираженими, що сприяло розвитку БВ.

Ключові слова: бактеріальний вагіноз, CD16+, фагоцитарна активність лейкоцитів, комплемент

NONSPECIFIC IMMUNITY IN BACTERIAL DYSBIOSIS AND BACTERIAL VAGINOSIS

¹*Gruzevskyy O.O., ²Minukhin V.V., ¹Dzygal A.F.*

¹*Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine*

²*Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology, Kharkov, Ukraine*
gruzevskiy@ua.fm

Relevance. The state of dysbiosis and bacterial vaginosis (BV) is characterized by the formation of both systemic and local immune deficiency, which corresponds to the increase in the number of pathogenic microbiota. It is necessary to study the state of non-specific factors of cellular and humoral resistance in the development of bacterial dysbiosis and BV.

Objectives – to determine the state of nonspecific immunity in bacterial dysbiosis and BV on CD16-cells, as well as indicators in the blood and vaginal fluid phagocyte leukocytes activity (PhLA) and the content of the components of complement C3 and C4.

Material and methods. Data from 298 women were divided into groups according to index of pathogenic microbiota condition (IPMC) and the pathogenic microbiota indicator (PMI): normocenosis ($n=53$), dysbiosis I ($n=128$) and II degree ($n=117$), among the last allocated 83 patients with $PMI > 1$ Ig gE/sample, which was installed BV. Molecular genetic studies of posterolateral wall of the vagina epithelium scrapings was performed by polymerase chain reaction. Quantitatively determined by facultative and obligate anaerobic bacteria, myco- and ureaplasma, yeast-like fungi. Quantification of the cells CD16+ was performed using erythrocyte diagnosticum (LTD Granum, Ukraine). Traditional immunological methods determined by the PhLA, and components of complement C3 and C4 in blood and vaginal fluid. For statistical and regression analysis used the software Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA).

Results. With the progression of dysbiosis has been an increase in the level of blood CD16-cells, which reached maximum at dysbiosis II degree (by 1.1-1.2 times; $p \leq 0,005$). With an increase in dysbiosis shows the formation of the phagocytosis failure, which was more common to BV and took place both at systemic and local levels (reducing the umbilical cord blood is 2.5 times 5.4 times in vaginal fluid). The complement components content were varied in the same way in the blood and vaginal fluid – increases in dysbiosis I degree and decreased with dysbiosis II degree, maximum degree, – in BV (C3 – 1.6 times in the blood and 5.0 times in vaginal secretions; $p < 0.001$). Changes of the examined parameters was more pronounced at the local level, which contributed to the BV development.

Conclusions. With the progression of bacterial dysbiosis formed the insufficiency of non-specific immunity both at the system level and locally. Changes of the studied indicators in vaginal secretions was more pronounced, which contributed to the development of BV.

Key words: bacterial vaginosis, CD16+, phagocyte leukocytes activity, complement