

Інформативність оцінки цитокінового статусу при неспецифічних інфекційно- запальних захворюваннях шийки матки та піхви

І. Ю. Костюк

Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика,
м. Київ

Мета дослідження: аналіз інформативності оцінювання цитокінового статусу при неспецифічних інфекційно-запальних захворюваннях шийки матки та піхви.

Матеріали та методи. Виділено 9 профільних груп: I – умовно здорові (42 жінок), II – кандидоносійство (45 жінок), III – бактеріальний вагіноз (112 жінок), IV – неспецифічний вульвовагініт (107 жінок), V – гострий вульвовагінальний кандидоз (61 жінка), VI – хронічний вульвовагінальний кандидоз (76 жінок), VII – бактеріальний вагіноз + кандидозна інфекція (71 жінок), VIII – неспецифічний вульвовагініт + кандидозна інфекція (84 жінок), IX – бактеріальний вагіноз + неспецифічний вульвовагініт (63 жінок).

До комплексу проведених досліджень були включені цитологічні, бактеріоскопічні, бактеріологічні та імунологічні.

Результати. Встановлений зв'язок між клініко-лабораторними особливостями вивчених станів і біологічними властивостями штамів *C. albicans*, виділених від різних пацієнтів. Разом з порівняльним аналізом морфологічних і культуральних характеристик грибкових культур особливий інтерес представляло визначення їх фосфоліпазної активності, яка розглядається як основний, корелюючий з іншими, чинник патогенності *C. albicans*.

Відзначено, що в тих випадках, коли можна було передбачити участь *C. albicans* в інфекційному процесі як монозбудник або співчлен паразитоценозу, реєстрували достовірно значуще збільшення ступеня їх вірулентності. Розміри клітин варіювали, але частіше були нижче за середні величини. Коефіцієнт вірулентності, що корелює з рівнем фосфоліпазної активності, коливався у межах 0,3–0,9 і зазвичай перевищував 0,5.

Відзначено також залежність від температурного чинника: швидкість росту «вірулентних» варіантів за кімнатної температури значно сповільнювалася, або зростання взагалі було відсутнє, що типово для збудників інфекційно-запальних захворювань. У тих випадках, коли кандиди виявляли у практично

здорових жінок або як «випадкові», транзиторні компоненти на тлі неспецифічного вагініту або бактеріального вагінозу, коефіцієнт вірулентності виділених штамів був завжди нижчий 0,3, простежувалась тенденція до збільшення розмірів клітин, при цьому культури однаково добре зростали і за кімнатної температури, і за 37 °С.

При уточненні діагнозу для диференціації станів, пов'язаних з інфікуванням *C. albicans*, і оцінювання їх вкладу в інфекційний процес, разом з традиційними клініко-лабораторними тестами доцільне вивчення перерахованих властивостей мікробних культур, що виділяються.

Заключення. Результати проведених досліджень свідчать про істотну роль цитокінового статусу під час оцінювання стану місцевих чинників захисту у пацієнток з інфекційно-запальними захворюваннями шийки матки та піхви. Отримані результати необхідно враховувати при розробленні алгоритму діагностичних і лікувально-профілактичних заходів.

Ключові слова: інфекційно-запальні захворювання шийки матки та піхви, цитокіновий статус, діагностика, інформативність.

Багаточисельними дослідженнями останніх років продемонстровано, що інфекційно-запальні процеси, зокрема в піхві, беруть участь в розвитку акушерсько-гінекологічної патології, що визначає не лише здоров'я матері, але і плода [1, 2]. У клініці захворювань простежуються дві тенденції: по-перше, невідповідність тяжкості зовнішніх проявів і рівня патологічних змін в репродуктивній сфері, по-друге, невисока ефективність лікування, що проводиться, що призводить до фульмінантного перебігу з летальним наслідком або до хронізації процесів [3, 4].

Етіологічна структура збудників інфекційних процесів в останнє десятиліття істотно змінилася, що пов'язане з постійною еволюцією бактерій і залученням до патологічних процесів умовно патогенних мікроорганізмів [5, 6]. У зв'язку з подвійною природою останніх – умовно-патогенні мікроорганізми (УПМ) як коменсали наявні у складі нормальної мікрофлори здорових людей, а також реєструються як етіопатогени при різних місцевих і генералізованих процесах – у клініцистів нерідко виникають складнощі під час оцінювання результатів обстеження, визначенні доцільності лікування, що призначається, і вибору лікувальних препаратів [1, 7].

У діагностиці неспецифічних інфекцій до останнього часу вирішальне значення при визначенні етіологічної значущості надавалося чисельності виявлених мікроорганізмів в ураженому органі, а в разі мікст-інфекції – встановленню кількісних співвідношень між асоціантами. Проте для багатьох дослідників [2, 3] в подібних ситуаціях часто вирішальним є визначення у виділених культур чинників патогенності. Цінність цього критерію підвищується при виявленні не одного, а декількох чинників вірулентності, і особливо в патогенетично значущій дозі і рівні активності. Рішення питання про етіологічну роль УПМ в осередку ураження полегшується при з'ясуванні у відповідь реакції макроорганізму в зоні первинної колонізації, оскільки ступінь реактивності і динамічні зміни показників локальних чинників неспецифічного захисту істотною мірою відображають «поведінку» умовного патогену як коменсала або збудника інфекційного процесу.

Комплексний підхід, що враховує як біологічні особливості УПМ, так і специфіку локальної у відповідь реакції макроорганізму, розроблення нових інформативних і доступних для практики критеріїв, що дозволяють визначити роль ізольованих шта-

мів в патологічному процесі при неспецифічних інфекційних захворюваннях шийки матки та піхви (НІЗШМП), представляється актуальною і насущною проблемою.

Не дивлячись на значне число наукових досліджень з проблеми НІЗШМП, не можна вважати всі питання повністю вирішеними, особливо в аспекті змін цитокінового статусу при даній патології.

Мета дослідження: аналіз інформативності оцінювання цитокінового статусу при НІЗШМП.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для детального аналізу інфекційних захворювань репродуктивної сфери було розроблено власну карту обліку, в якій виділені змішані форми інфекції різної етіології (вірусно-бактеріальні, бактеріально-грибкові тощо).

Після оформлення згоди на медичне втручання і відповідно до критеріїв включення і виключення були сформовані групи.

Критерії включення:

- вік обстежуваних від 20 до 45 років;
- скарги на патологічні виділення із статевих шляхів;
- встановлення діагнозу вульвовагінального кандидозу (ВВК), бактеріального вагінозу (БВ), неспецифічного вульвовагініту (НВВ) або змішаних бактеріально-грибкових або аеробно-анаеробних бактеріальних інфекцій шийки матки та піхви;
- пацієнтки, що обстежені особисто автором.

Критерії виключення:

- вживання гормональної або внутрішньоматкової контрацепції;
- наявність ектопії шийки матки, гострого або загострення хронічного екстрагенітального або гінекологічного захворювання;
- позитивний тест на ВІЛ, сифіліс;
- позитивні тести на *M. genitalium*, *C. trachomatis*, вірус папіломи людини (ВПЛ), вірус простого герпесу (ВПГ), цитомегаловірус (ЦМВ), *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*.

У результаті було виділено 9 профільних груп:

I група – умовно здорові (42 жінок),

II група – кандидоносійство (45 жінок),

III група – БВ (112 жінок),

IV група – неспецифічний вульвовагініт (107 жінок),

V група – гострий ВВК (61 жінок),

VI група – хронічний ВВК (76 жінок),

VII група – БВ + кандидозна інфекція (71 жінок),

VIII група – НВВ + кандидозна інфекція (84 жінки),

IX група – БВ + НВВ (63 жінки).

Проведено поглиблені імунологічні дослідження пацієнток усіх груп дослідження.

Цитологічне, бактеріоскопію і бактеріологічне дослідження вагінального секрету виконували традиційними методами

Визначення рівня цитокінів периферичної крові і вагінальної рідини проводили методом твердофазного імуноферментного аналізу відповідно до загальноприйнятих рекомендацій [4, 5]. Для дослідження використовували набори стандартних реагентів ProCon ILβ-1, IL-2, IL-6, IL-4, TNF-α, IFN-γ.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати проведених досліджень свідчать, що характерні клінічні ознаки («сирнисті» виділення, запах «гнилої» риби, виражена дифузна гіперемія слизової оболонки) реєструють лише при моноформах захворювання (кандидоз, БВ, НВВ), а утворення різних бактеріальних і бактеріально-грибкових асоціацій мікроорганізмів у вагінальному біотопі призводить до зміни клінічної картини і формування мало-симптомних форм захворювання.

Приєднання грибів роду *Candida* до мікробіоценозу, характерного для БВ, найчастіше реалізують у вигляді кандидоносійства (76,1%). У протилежність цьому, при НВВ гриби залучаються до інфекційного процесу значно частіше (58,3%), при цьому їх участь у складі бактеріально-грибкових асоціацій формує складний комплекс змін, що спотворюють клінічні симптоми як НВВ, так і власне кандидозу.

Оцінювання якісного і кількісного складу мікрофлори вагінального біотопу заснована на екологічних принципах і використання оригінальних індексів відносної різноманітності і домінування облигатних і транзиторних видів мікроорганізмів забезпечує велику стандартність і об'єктивність обліку результатів бактеріологічного дослідження.

Аналіз функціональної активності УПМ, які ізолюються при неспецифічних інфекційних захворюваннях піхви, що дозволяє розрізняти штами по ступеню патогенності, може бути додатковим критерієм у визначенні їх етіологічної значущості і диференціюванні стану «здорового носійства» від інфекційного процесу.

Як відомо, умовно-патогенні бактерії є сапрофітами-комесалами і розвиток інфекційного процесу з їх участю можливо при порушенні в системі протиінфекційного захисту. З урахуванням особливостей етіології і переважно локальної природи НІЗШМП можна було чекати різний ступінь участі компонентів цитокінового статусу.

Згідно з отриманими результатами, підвищення активності IL-4 спостерігали при кандидозній інфекції, переважання Th2 ефектів стає більш вираженим при хронічній формі, що призводить до порушень антитілоутворення ($IgA - 0,21 \pm 0,035$ г/л, $IgG - 0,31 \pm 0,127$ г/л; $p1-6 < 0,05$) і фунгіцидній активності макрофагів (здорові: кількість макрофагів – $391,8 \pm 98,16$ абс. число клітин в мкл, фагоцитарний показник (ФП) – 34,7%, фагоцитарне число (ФЧ) – $0,6 \pm 0,06$, фагоцитарний індекс (ФІ) – $1,7 \pm 0,17$; хронічний ВВК: кількість макрофагів – $2197,1 \pm 205,63$ абс. число клітин в мкл, ФП – $19,9 \pm 1,24$, ФЧ – $0,3 \pm 0,05$, ФІ – $1,4 \pm 0,24$).

При аеробно-грибкових асоціаціях відзначено виражений дисбаланс цитокінів: достовірне підвищення рівня IL-4, IL-6 при зменшенні кількості IL-1, IL-2, TNF- α , INF- γ . Такі зміни цитокінового каскаду поєднуються із зміною вираженості запальної реакції (кількість нейтрофілів: БВ + кандидоінфекція – $7623,1 \pm 215,13$, НВВ + кандидоінфекція – $16148,4 \pm 164,96$ клітин у мкл; кількість макрофагів: БВ + кандидоінфекція – $1676,2 \pm 277,36$, НВВ + кандидоінфекція – $2302,6 \pm 337,44$ клітин у мкл) і зниження активності лізоциму ($0,27 \pm 0,074$ у.о. і $0,25 \pm 0,056$ у.о. відповідно).

Змішана аеробно-анаеробна інфекція супроводжувалася значними порушеннями системи локального імунітету. Активний синтез прозапальних цитокінів, що поєднується з депресією протизапальної ланки, супроводжується зниженням кількості і поглинальної активності фагоцитів (кількість нейтрофілів – $11801,2 \pm 1309,90$ клітин в мкл, ФП – $22,0 \pm 4,84\%$, ФЧ – $0,3 \pm 0,06$, ФІ – $1,2 \pm 0,44$), зменшенням кількості IgA, IgM порівняно з НВВ. Наголошується виражене зниження активності чинників неспецифічного захисту (кількість лізоциму – $0,22 \pm 0,041$ у.о.).

Дослідження з вивчення інфекційної патології часто неоднозначні, тобто розглядають або якісні і кількісні характеристики мікрофлори, або оцінюють стан макроорганізму, що не приводить до формування цілісної картини етіопатогенезу захворювання. Крім того, при вивченні взаємодії макро- і мікроорганізму, разом із визначенням видової приналежності, необхідно особливу увагу приділяти ступеню патогенності збудника.

Сьогодні вже неприпустимо засновувати діагностику генітальних інфекцій на використанні лише одного методу і лише за результатами виявлення будь-якого одного мікроорганізму, який потенційно може бути причиною запального процесу.

Було встановлено зв'язок між клініко-лабораторними особливостями вивчених станів і біологічними властивостями штамів *C. albicans*, виділених від різних пацієнтів. Разом з порівняльним аналізом морфологічних і культуральних характеристик грибкових культур особливий інтерес представляло визначення їх фосфоліпазної активності, яка розглядається як основний, корелюючий з іншими, чинник патогенності *C. albicans*.

Відзначено, що в тих випадках, коли можна було передбачати участь *C. albicans* в інфекційному процесі як монозбудник або співчлен паразитоценозу, реєстрували достовірно значуще збільшення міри їх вірулентності. Розміри клітин варіювали, але частіше були нижче за середні величини. Коефіцієнт вірулентності, що корелює з рівнем фосфоліпазної активності, коливався у межах 0,3–0,9 і зазвичай перевищував 0,5.

Зазначається також залежність від температурного чинника: швидкість росту «вірулентних» варіантів за кімнатної температури значно сповільнювалася, або зростання взагалі було відсутнє, що типово для збудників інфекційно-запальних захворювань. У тих випадках, коли кандиди виявляли у практично здорових жінок або як «випадкові», транзиторні компоненти на тлі НВВ або БВ, коефіцієнт вірулентності виділених штамів був завжди нижчий 0,3, простежувалась тенденція до збільшення розмірів клітин. При цьому культури однаково добре зростали і за кімнатної температури, і за 37 °С.

Отже, під час уточнення діагнозу для диференціації станів, пов'язаних з інфікуванням *C. albicans*, і оцінювання їх вкладу в інфекційний процес, спільно з традиційними клініко-лабораторними тестами, доцільне вивчення перерахованих властивостей мікробних культур, що виділяються.

Вважаємо, що вживання такого підходу доцільне і при інших НІЗШМП, оскільки це сприяє розшифровці етіологічної значущості ізолюваних УПМ.

При виникненні і розвитку патологічних процесів у піхві істотне значення має рН вагінального секрету, рівень якого може впливати і на стан мікрофлори, і на фармакологічні властивості вживаних препаратів. У нормі рН вагінального середовища становить 3,8–4,2, що стримує ріст і розмноження «небажаних» транзиторних видів мікроорганізмів, що реєструються у вагінальному біотопі. Порушення у складі мікрофлори, пов'язані з надмірним ростом аеробних і факультативно анаеробних бактерій, таких, що виявляються зазвичай клінікою неспецифічного вагініту, супроводжуються зміною рН в лужну сторону. Ще більш виражене залужування фіксують у піхві при інтенсивному розмноженні анаеробних бактерій, які асоціюються з БВ, що призводить не лише до зміни властивостей *C. albicans*, а й впливає на антимікотичну дію препаратів як безпосередньо (за рахунок зміни їх фунгіцидної активності), так і опосередковано (через зміну морфофункціонального стану клітин збудника).

ВИСНОВКИ

Результати проведених досліджень свідчать про істотну роль цитокинового статусу під час оцінювання стану місцевих чинників захисту у пацієток з інфекційно-запальними захворюваннями шийки матки та піхви.

Отримані результати необхідно враховувати при розробленні алгоритму діагностичних і лікувально-профілактичних заходів.

Informing of estimation of cytokine status at nonspecific infectious-inflammatory diseases of cervix and vagina

I. Yu. Kostyuk

The objective: to estimate informing of estimation of cytokine status at nonspecific infectious-inflammatory diseases of cervix and vagina.

Materials and methods. 9 type groups are selected: I – conditionally healthy (42 women), II – candidacy (45 women), III – bacterial vaginosis (112 women), IV - a nonspecific vulvovaginitis (107 women), V – acute vulvovaginal candidiasis (61 woman), VI - chronic vulvovaginal candidiasis (76 women), VII – bacterial vaginosis + candida infection (71 women), VIII - a nonspecific vulvovaginitis + candida infection (84 women), IX – bacterial vaginosis + nonspecific vulvovaginitis (63 women). To the complex of the conducted researches were included cytological, bacterioscopic, bacteriological and immunological.

Results. Set connection between clinical-and-laboratory by the features of the studied states and biological properties of stamms of *C. albicans*, selected from different patients. Together with the comparative analysis of morphological and cultural descriptions of mycotic cultures the special interest was presented by determination of them to pospholipase activity, which is examined as basic, correlating with other, factor of pathogenicity of *C. albicans*.

It is marked, that in those cases, when it is possible it was to foresee participation of *C. albicans* in an infectious process as a monoexciter or fellow member of parasitocenosis, registered the meaningful increase of degree of their virulence for certain. The sizes of cages varied, but more frequent were below than averages. The coefficient of virulence which correlates with the level of pospholipase activity hesitated within the limits of 0,3–0,9 and, as a rule, exceeded 0,5.

Dependence is marked also on a temperature factor: speed of growth of «virulent» variants at a room temperature was considerably slowed, or growth absented in general, that typically for exciters infectiously inflammatory diseases. In those cases, when candida discovered for practically healthy women or as «casual», transient components on a background a nonspecific vaginitis or bacterial vaginosis, the coefficient of virulence of the selected stamms was always below 0,3, a tendency was traced to the jumboizing of cages, here cultures identically well grew and at a room temperature, and at 37 °C.

Obviously, that at clarification of diagnosis, for differentiation of the states, C related to infecting. *albicans*, and estimations of their contribution to the infectious process, together with traditional clinical-and-laboratory by tests, expedient study of the transferred properties of microbial cultures which are selected.

Conclusions. The results of the conducted researches testify to the substantial role of cytokine status at the estimation of the state of local factors of defence for patients from infectiously inflammatory by the diseases of cervix and vagina. The got results must be taken into account at development of algorithm of diagnostic and treatment-and-prophylactic measures.

Keywords: *infectiously inflammatory disease of cervix and vagina, cytokine status, diagnostics, informative.*

Відомості про автора

Костюк Ірина Юрївна – д-р філософії, кафедра акушерства, гінекології та перинатології, Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика, м. Київ
ORCID: 0000-0002-3689-3379

Information about author

Kostyuk Iryna Yu. – PhD, Department of obstetric, gynecology and perinatology, Shupyk National Healthcare University of Ukraine of MH Ukraine, Kyiv

Перинатологія та репродуктологія: від наукових досліджень до практики | **Perinatology and reproductology:** from research to practice

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Merviel P., 2019. Management of cervical intraepithelial neoplasm during pregnancy / P. Merviel // *Gynecol. Obstet. Fertil.*:32:1:99–100.
2. Miller E. M., 2020. A comparison of the vaginal aspiratin and cervical scraping technics in the screening process for uterine cancer / E. M. Miller, E. Von Haam // *Acta cytol.*:5:214–6.
3. Moscicki A. B., 2019. Cervical cytology testing in teens / A. B. Moscicki // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.*:17:5:471–5.
4. Nayar R., 2019. Atypical squamous cells: update on current concepts / R. Nayar, S. O. Tabbara // *Clin. Lab. Med.*:23:3:605–632.
5. Naylor B., 2020. The century for cytopatology / B. Naylor // *Acta Cytol.*:44:709–25.
6. Pundel J. P., 2019. Diagnosis of pregnancy by means of cytology / J. P. Pundel // *Acta cytol.*:3:295:7.
7. Quint W. G., 2019. Vaccination against human papillomavirus for the prevention of cervical cancer / W. G. Quint, W. A. ter Harmsel, L. J. van Doorn // *Ned. Tijdschr. Geneesk.*:150:25: 1380–4.