

На правах рукописи

Байракова Александра Львовна

**РОЛЬ КЛЕТОЧНЫХ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ
В ФОРМИРОВАНИИ КОЛОНИЗАЦИОННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ
УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА ПРИ ХЛАМИДИОЗЕ**

03.00.07 – микробиология
14.00.36 – аллергология и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2009

Работа выполнена в Федеральном Государственном учреждении науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Научные руководители:

Заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук,
профессор

Станислав Степанович Афанасьев

Заслуженный деятель науки РФ,
доктор биологических наук,
профессор

Владимир Андрианович Алёшкин

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,
профессор

Олег Витальевич Калюжин

доктор биологических наук,
профессор

Игорь Георгиевич Шемякин

Ведущая организация:

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Защита состоится «___» _____ 2009 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д 208.046.01 в Федеральном Государственном учреждении науки «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по адресу: 125212, г. Москва, ул. Адмирала Макарова, д.10.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУН «Московский научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Автореферат разослан «___» _____ 2009 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук

О.Ю. Борисова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Масштабность распространения сексуально-трансмиссивных инфекций продолжает оставаться актуальной во всем мире (Хрянин А.А. с соавт., 2006; Серов В.Н. 1997; Рищук С.В. с соавт., 2005). Инфекционно-воспалительные заболевания репродуктивной сферы, несмотря на достижения современной медицины, лидируют в структуре гинекологической заболеваемости и остаются традиционно значимыми на протяжении последних лет (Гомберг М.А. с соавт., 2006; Бакулев А.Л. с соавт., 2008). Урогенитальный хламидиоз (УГХ) занимает ведущее место в структуре инфекций передаваемых половым путём (ИППП). Возбудители хламидиоза – облигатные внутриклеточные паразиты – не относятся к патогенам, представляющим особую опасность, но на фоне растущей урбанизации, ухудшения социально-демографической и экологической ситуации инфицирование *Chlamydia trachomatis* способно приводить к формированию различных осложнений, оказывающих неблагоприятное влияние как на общее состояние здоровья, так и на репродуктивную функцию населения (Егорова И.Е с соавт., 2003; Халдин А.А., 2004; Порсохонова Д.Ф. с соавт., 2005). Клинические варианты течения хламидийной инфекции в наибольшей степени определяются выраженностью изменений, вызываемых возбудителем в месте своей локализации, и эффективностью колонизационной резистентности слизистых (способность микрофлоры данного биотопа и макроорганизма, кооперативно взаимодействуя, защищать экосистему от патогенной микрофлоры) (D. Van der Waaij, 1996; Клиническая лабораторная аналитика, 2003).

Ключевым звеном в распознавании макроорганизмом патогенов являются образраспознающие рецепторы врожденной иммунной системы – Toll-like рецепторы (TLR), составляющие основу мембранных комплексов и экспрессирующиеся на всех клеточных элементах, участвующие в формировании резистентности (включая колонизационную резистентность слизистых) (Werling D. et al., 2003; Pioli P.A. et al., 2004; Богунович М.Д., 2005; Schnare M. et al., 2006; Ганковская О.Г. с соавт., 2008). TLR способны распознавать консервативные молекулярные структуры, распространенные среди микроорганизмов и отсутствующие у человека (Sandor F. et al., 2005; Janeway C.A. et al., 2002). Защита на местном уровне развивается путем формирования типичной воспалительной реакции после взаимодействия патогенов с мембранными TLR, сопровождающейся активацией генов цитокинового каскада, ответственных за активацию фагоцитов и других иммунокомпетентных клеток, иммуноглобулинов, что определяет блокирование жизнедеятельности, дезинтеграцию и удаление инфекционного агента из организма (Hertz C.J. et al., 2003; Claeys S. et al., 2003; Абагуров А.Э., 2006; Люк О'Нил, 2005).

Представляется актуальным изучение корреляции уровней экспрессии TLR на поверхности слизистых и иммунологических показателей в секретах урогенитального тракта (УГТ) женщин с различными вариантами клинического течения УГХ.

Цель исследования

Установление роли TLR-2 и TLR-4, микрофлоры, основных цитокинов и классов иммуноглобулинов в формировании колонизационной резистентности слизистых и в патогенезе урогенитального хламидиоза.

Задачи исследования

1. Изучение взаимосвязи между экспрессией генов TLR-2 и TLR-4 в соскобном материале слизистых урогенитального тракта и проявлениями урогенитального хламидиоза у женщин.

2. Установление роли TLR-2 и TLR-4 в регуляции колонизационной резистентности влагалища, цервикального канала и уретры, стабилизирующей нормофлору и препятствующей инфицированию хламидиями и условно-патогенными микроорганизмами.

3. Оценка взаимозависимости уровней экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 в соскобном материале слизистых урогенитального тракта и выраженностью цитокинового профиля секрета цервикального канала женщин с урогенитальной хламидийной инфекцией.

4. Исследование взаимосвязи уровней экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 в соскобном материале слизистых урогенитального тракта и особенностей иммуноглобулинового профиля секрета цервикального канала женщин с урогенитальной хламидийной инфекцией.

Научная новизна

Впервые установлена определяющая роль TLR-2 и TLR-4 слизистых нижних отделов урогенитального тракта в ответе макроорганизма на инфицирование хламидиями при урогенитальном хламидиозе. Уровни экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 служат критериями оценки выраженности хламидийной инфекции и наличия воспалительного процесса у больных, а при выздоровлении их снижение может свидетельствовать об эрадикации возбудителя. Нарушения в экспрессии генов приводят к хроническому течению урогенитального хламидиоза. Низкие уровни TLR-2 и TLR-4 могут указывать на возможность начала хронизации инфекционного процесса. TLR слизистых урогенитального тракта через цитокиновую систему запускают местную воспалительную реакцию, определяют уровни IgG, sIgA и секреторного компонента (sc). Реакция эпителиальных поверхностей урогенитального тракта на условно-патогенную микрофлору и нормофлору зависит от экспрессии генов TLR-2 и TLR-4, что определяет колонизационную резистентность слизистых.

Практическая значимость

Разработаны и предложены лабораторные критерии диагностики урогенитального хламидиоза с установлением острой и хронической рецидивирующей формы заболевания, защищённые Патентом РФ «Способ диагностики хронического урогенитального хламидиоза» №2327995. Зарегистрирован 27.06.2008 г.

Апробированный при проведении исследований метод определения уровня экспрессии генов TLR ПЦР в реальном времени, совмещенной с обратной транскрипцией с использованием специфических праймеров, может быть востребован при лабораторной верификации возбудителя при урогенитальном хламидиозе и явиться дополнительным критерием диагностической и прогно-

стической оценки течения урогенитального хламидиоза наряду с ИФА, уточняющим клинические формы и прогнозирующим исход заболевания. Метод воспроизводится в условиях стандартной клинической лаборатории.

Внедрение результатов работы в практику

Результаты исследования используются в научно-практической работе лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии ФГУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Впервые установлена диагностическая и прогностическая значимость оценки уровней экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 при урогенитальном хламидиозе у женщин. Воспалительная реакция и реакция слизистых урогенитального тракта на условно-патогенную микрофлору и нормофлору, колонизационная резистентность координируются TLR-2 и TLR-4.

2. Передача активационных сигналов от TLR-2 и TLR-4 на клетки урогенитального тракта может опосредоваться местной цитокиновой системой.

3. Toll-подобные рецепторы слизистых урогенитального тракта могут определять местный иммуноглобулиновый статус.

Апробация работы

Диссертация апробирована на заседании секции «Биотехнология» Ученого совета ФГУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора, протокол № 2 от 14 мая 2009 г.

Результаты исследований доложены на XV Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва 14-18 апреля 2008 г.), IV международной конференции, посвященной 85-летию Санкт-Петербургского НИИЭМ имени Пастера и 120-летию Парижского института Пастера «Идеи Пастера в борьбе с инфекциями» (Санкт-Петербург, 2–4 июня 2008 г.), Всероссийской научно-практической конференции «Современные представления об иммунокоррекции» (Пенза, 2–3 октября 2008 г.), XVI Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 6–10 апреля 2009 г.), научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Биологическая безопасность в современном мире» (Оболensk, 21–22 апреля 2009 г.).

Связь темы исследования с планом научной работы учреждения

Диссертационная работа А.Л. Байраковой выполнялась в соответствии с планом научно-исследовательской работы ФГУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора. Данное исследование представляет собой раздел темы НИР института «Микроэкология и гуморальный иммунитет слизистых открытых полостей человека в норме и при различных патологических состояниях».

Публикации

По теме диссертации опубликовано 15 печатных работ, в том числе 8 – в журналах, рекомендованных ВАК Российской Федерации; 7 – в сборниках материалов конференций; один патент на изобретение РФ № 2327995 от 27.06.2008 г.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 128 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы материалы и методы исследования, гла-

вы результаты собственных исследований (состоит из четырёх подразделов), обсуждения полученных результатов и выводов. Список литературы включает 184 источника, из которых 102 опубликовано в отечественной и 82 в зарубежной литературе. Диссертация иллюстрирована 6 рисунками и 6 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследований

Клинико-анамнестические и лабораторные данные 228 больных с УГХ позволили отобрать 100 пациенток согласно совпадению положительных результатов лабораторных данных по выявлению маркеров хламидийной инфекции в УГТ и наличия сходных антител в сыворотке крови. Учитывая, что наборы для определения IgM методом ИФА не обладают видовой специфичностью, стадию заболевания (острая или хроническая) и характер инфицирования (первичный или повторный) определяли согласно лабораторным данным по содержанию антител класса А и G в динамике (метод парных образцов). Сбор клинико-анамнестических данных и лабораторную трактовку результатов анализов проводили совместно с врачами-гинекологами Е.В. Фандеевой, А.В. Леоновой, З.А. Плиевой, к.м.н. Т.А. Скирдой на основании методических пособий для врачей по диагностике и лечению УГХ (Савичева А.М., 2002; Кудрявцева Л.В., 2001; Серов В.Н., 1999; Малышев Н.А., 1999).

Содержание антител (Ат) в сыворотке крови позволило разделить выбранных пациенток на 4 группы. **Группу I** составила 41 пациентка. Положительные результаты ПИФ, ПЦР и культурального посева подтверждали наличие *Ch. trachomatis* в УГТ. В сыворотке крови данных больных определялись антитела класса G в титре 1:50-100. Повторный лабораторный анализ на наличие антител (через 2–3 недели) показал появление иммуноглобулинов класса А (1:50 и выше), что свидетельствовало о первичном инфицировании больных (Савичева А.М., 2002; Кудрявцева Л.В., 2001). Определяемые антитела позволили выявить острую стадию инфекционного заболевания. Пациентки также отрицали наличие ранее перенесенного хламидиоза. **Группу II** составляли 29 пациенток, в клиническом материале которых также обнаруживались маркеры хламидий. В сыворотке крови данных больных определялись стойкие титры иммуноглобулинов А (1:100-1:200) и G (1:100-1:200), концентрация которых не изменялась на протяжении длительного периода. Анамнестические данные показали, что длительность заболевания составляла от 3 до 5 лет. Положительные результаты РИФ, культурального посева и ПЦР свидетельствовали о лабораторно подтвержденном рецидиве УГХ. Схожесть клинических проявлений и наличие, по крайней мере, двух эпизодов обострения заболевания в течение предшествующих 12 месяцев также свидетельствовало о хроническом течении хламидийной инфекции. Рецидивы отмечались с частотой 1 раз в полгода. Все больные неоднократно получали антибактериальную терапию, однако не наблюдалось стойкого клинического и бактериологического положительного эффекта. В **группу III** вошли 30 пациенток, в анамнезе которых ранее диагностировался уrogenитальный хламидиоз. Отсутствие антител класса А и низкие, не меняющиеся во времени титры IgG (1:50), указывали на давно перенесенную

хламидийную инфекцию. Ат IgG в титре 1:100-200 также свидетельствовало об остаточной серологии, на что указывало снижение титра антител в течение 12 месяцев. Маркёры хламидий в УГТ не выявлялись ни одним из использованных методов диагностики в течение одного года. В **группу сравнения (IV, контрольная)** включили 32 клинически здоровые женщины. Клинико-лабораторное обследование подтвердило отсутствие признаков хламидийной инфекции и ИППП, а также наличия гинекологической патологии.

Пациенткам I и II групп после постановки диагноза УГХ назначалась общепринятая антибактериальная терапия (азитромицин).

Возраст обследованных пациенток варьировал от 20 до 39 лет (средний возраст $28,1 \pm 5,6$ года). По возрасту, общему соматическому статусу, репродуктивному состоянию, выраженности клинических проявлений, социальному положению и уровню образования пациентки всех групп были сопоставимы.

Клинико-лабораторные методы исследования

Сбор материала осуществлялся в первую фазу менструального цикла, в среднем на 11–13 день цикла.

Диагноз УГХ устанавливался на основании результатов стандартных клинико-инструментальных методов обследования (Савичева А.М., 2004; Воробьев А.А., 2004): исследования клинического мазка из Цк, соскобного материала световой микроскопией проб с последующей обработкой флуоресцентными моноклональными Ат к *Ch. trachomatis* и методом ПЦР, выделения хламидий на культуре клеток McCoу. Дополнительным критерием служил анализ уровней титров IgG-Ат, IgA-Ат в сыворотке крови методом ИФА (medac Diagnostika GmbH, Германия). Обследование проводили на первой и третьей неделе после первичного обращения; повторные исследования проводились спустя один-два месяца после антибактериальной терапии. Критерием излеченности считали отсутствие маркеров *Ch. trachomatis* в УГТ.

Инфицированность возбудителями инфекции, передаваемых половым путём (ИППП): вирусом папилломы человека (ВПЧ), вирусом простого герпеса (ВПГ), цитомегаловирусом (ЦМВ), микоплазмами, уреаплазмами, токсоплазмами, кандидами – устанавливалась общепринятыми методами ПЦР, а микоплазмами, уреаплазмами – дополнительно иммуноферментным (ИФА) методом. Инфицирование ВПГ, ВПЧ и ЦМВ подтверждали дважды.

Микроскопическое исследование мазков со слизистых УГТ

Материалам для микроскопического исследования служили уретральные, вагинальные и цервикальные мазки (Приказ МЗ РФ № 415 от 20.08.2003; Приказ МЗ СССР № 936 от 12.07.1985; Савичева А.М., 2004) с последующей окраской по Романовскому–Гимзе для характеристики лейкоцитарной реакции и клеточного состава, а другой – по Граму – для характеристики микрофлоры.

Микробиологические исследования

Бактериологическое исследование отделяемого цервикального канала, уретры и влагалища проводили общепринятыми методами в соответствии с приказом МЗ СССР № 535 (Приложение 1 к приказу МЗ СССР № 535 от 22.04.1985г).

Молекулярно-генетические методы определения экспрессии генов TLR-2 и TLR-4

Материалом для исследования служили мазки-соскобы со слизистой соответствующих участков УГТ, содержащие элементы биотопа (эпителиальные клетки, лейкоциты), являющиеся элементами конституциональной рецепторной системы организма (F. Sandor et al., 2005). В день обследования у женщины забирали мазки-соскобы со слизистых влагалища (Вл), цервикального канала (Цк) и уретры (Ур) с помощью стерильного урогенитального зонда, позволяющие получить со слизистой слой поверхностных эпителиальных клеток. Согласно экспериментальным данным количество исследуемого материала при заборе урогенитальным зондом составляло – 0,2 г. Содержимое зондов тщательно суспендировали в забуференном физиологическом растворе в пробирках типа «Эппендорф» с последующим определением количества всех клеточных элементов с помощью слайд-планшета (Плива-Лахема, Чехия). Конечная концентрация клеток в образце составляла не более 1×10^5 клеток в мл. Полученный материал суспендировали в растворе EverFresh RNA (ЗАО «Силекс», г. Санкт-Петербург) в соотношении объемов суспензии клеток к раствору, равному 1:5. Уровень экспрессии генов TLR определялся методом ПЦР в режиме реального времени (РВ), совмещенной с обратной транскрипцией с использованием специфических праймеров к TLR-2 (TLR2-F1 – CСТТCACTCAGGAGCAGCAAGC; TLR2 – R1-TGGAAACGGTGGCACAGGAC) и TLR-4 (TLR4-F6 – GAAGGGGTGCCTCCATTTTCAGC; TLR4-R6 – TGCCTGAGCAGGGTCTTCTCCA). Уровни экспрессии мРНК TLR контролировали (стандартизировали) по гену GAPDH (GAPDH-F1 – TGCMTCCTGCACCACCAACT; GAPDH-F2 – YGCCTGCTTCACCACCTTC) за счет сходной экспрессии этого гена среди тканей человеческого репродуктивного тракта. Из исследуемого материала выделяли тотальную РНК согласно протоколу к наборам для выделения тотальной РНК на магнитных частицах SiO₂ – бесфенольное выделение для микроанализа (ЗАО «Силекс», г. Санкт-Петербург). Синтез первой цепи кДНК проводили согласно указаниям инструкции «Набора для синтеза первой цепи кДНК (базовый)» (ЗАО «Силекс», г. Санкт-Петербург). Амплификацию с последующим определением уровня экспрессии TLR проводили методом ПЦР с детекцией накопления продуктов реакции в режиме реального времени (Real-Time PCR, USA) с помощью детектирующего амплификатора АМК-32 («Синтол», Россия) и специфических праймеров к TLR-2 и TLR-4 («Синтол», Россия). Праймеры для последовательностей к TLR-2, TLR-4 и были подобраны с помощью программы Vector NTI. Последовательности мРНК TLR-2, TLR-4 и GAPDH взяты в GenBank и синтезированы фирмой Синтол (Москва). Количество исследуемых кДНК в образцах рассчитывали путем определения пороговых циклов ПЦР РВ на образцах серийных разведений очищенного ПЦР-продукта в качестве матрицы. Нормализация количества изучаемых транскриптов к общему количеству кДНК в пробе проводилась с помощью отношений TLR2/GAPDH и TLR4/GAPDH. Экспрессию генов TLR оценивали в относительных единицах (ОЕ).

Иммунологические методы исследования

Забор ЦС проводили с помощью стерильного урологического зонда. Зонд немедленно погружали в пробирку типа «Эппендорф», содержащую 0,5 мл физиологического раствора. К каждому образцу после взвешивания добавляли равное весовое количество физиологического раствора, после чего смесь тщательно перемешивали в течение 10 минут на шейкере. Образцы хранили при температуре минус 50°C не более трёх месяцев. Определение общего белка проводили согласно инструкции к «Набору по определению общего белка в моче ФС» («Диакон Диагностика», Москва).

Определение иммуноглобулинов в ЦС женщин

Иммунологическое исследование включало определение концентрации в ЦС IgG, IgM, IgA, sIgA и свободного sc методом РИД (Фримель Х., 1987).

Определение цитокинов в ЦС женщин

Содержание в слизи Цк IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, INF- γ , TNF- α , GM-КСФ цитокинов оценивали методом проточной флюориметрии на двух лучевом лазерном автоматизированном анализаторе («Bio-plex Protein Assay System», Bio-Rad, USA) с использованием коммерческих тест-систем 10-Plex (определяемый динамический диапазон 2-32000 пкг/мл) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя.

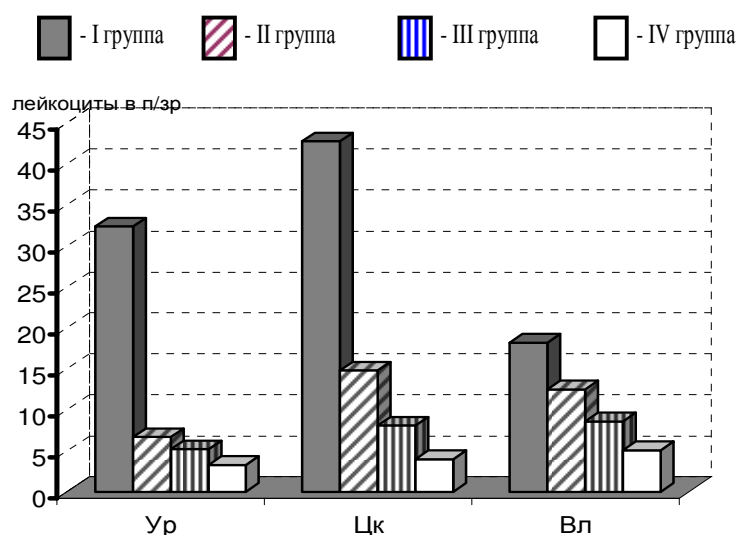
Статистическая обработка полученных данных

Математическую обработку полученных данных проводили в рамках параметрической и непараметрической базовой статистики с использованием критерия Стьюдента, метода χ^2 , коэффициента ранговой корреляции Спирмена (при $r_s \geq 0,7$ связь считали сильной; при $0,5 \leq r_s < 0,7$ связь являлась средней; при $r_s < 0,5$ связь считали слабой; при $r_s = 0$ – линейная связь отсутствует), применяя стандартный пакет статистических программ Microsoft Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

1. Диагностическое и прогностическое значение оценки уровней экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 при УГХ.

Учитывая этиопатогенетическую значимость *Ch. trachomatis* в развитии инфекционного процесса, было проведено исследование тесноты (полноты) связи между уровнями экспрессии генов TLR-2, TLR-4 и степенью выраженности воспалительной реакции, в частности – количеством лейкоцитов (рис.1,2,3). При световой микроскопии мазков из «трех точек»: Цк, Вл и Ур пациентов выявлено обилие полиморфноядерных лейкоцитов: 42,8 \pm 6,2, 18,2 \pm 2,1, 32,4 \pm 4,6 лейкоцитов в поле зрения, соответственно. Причем уровень лейкоцитоза в Цк и Ур коррелировал с высоким уровнем TLR-2 – 57,00 \pm 9,95 ОЕ и 37,30 \pm 7,02 ОЕ, соответственно ($r > 0,6$). Средний уровень экспрессии генов TLR-2 в Цк и Ур пациентов I группы в 7–8 раз превышал показатели II группы. Средняя корреляционная зависимость ($r > 0,5$) выявлена между уровнем экспрессии TLR-2 и количеством лейкоцитов во Вл: 37,72 \pm 2,40 ОЕ при 18,2 \pm 2,1 лейкоцитов в поле зрения.

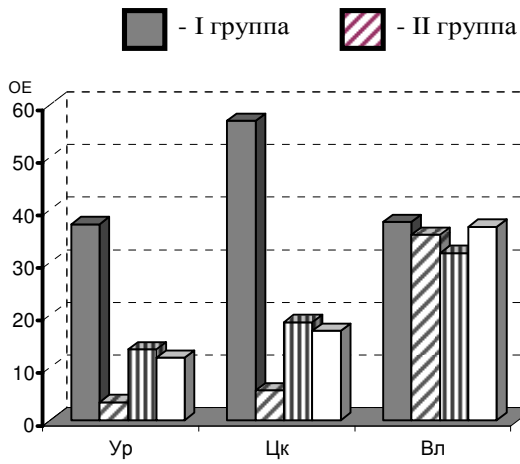


Примечание: В Цк достоверные различия выявлены между I и IV группами ($p < 0,001$), II, III группами ($p \leq 0,01$), II и IV ($p < 0,01$); в Ур – между I и IV группами ($p < 0,001$), II, III группами ($p \leq 0,01$); Вл – I и III, IV группами ($p \leq 0,05$).

Рис. 1. Содержание лейкоцитов в цервикальном канале (Цк), уретре (Ур) и влагалище (Вл) женщин с хламидийной инфекцией и женщин из групп сравнения.

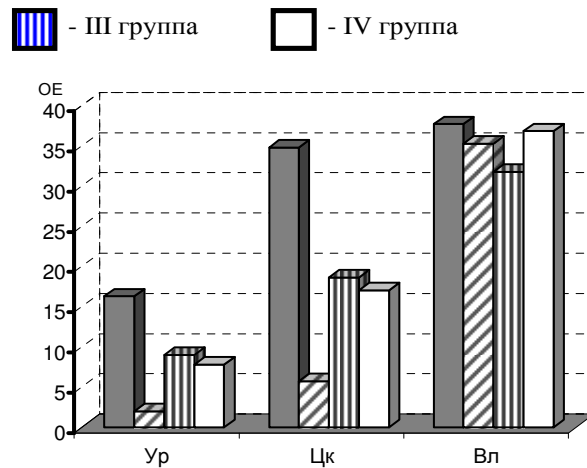
В I группе больных выявлена высокая, по сравнению с контролем, экспрессия генов TLR-4, уровни которого в Цк, Ур и Вл составляли $34,80 \pm 1,72$ ОЕ (корреляция с лейкоцитами слабая), $16,28 \pm 2,82$ ОЕ (корреляция с лейкоцитами сильная) и $16,68 \pm 2,36$ ОЕ (корреляция с лейкоцитами сильная), соответственно.

У пациенток группы II практически во всех случаях наблюдается снижение показателя воспаления – содержания лейкоцитов, по сравнению с группой I (рис.1,2,3). Количество лейкоцитов в Цк, Ур составляло $14,8 \pm 1,4$ и $6,7 \pm 1,4$, соответственно. Средний уровень TLR-2 в Цк и Ур – $5,71 \pm 1,07$ ОЕ и $3,45 \pm 1,46$ ОЕ, соответственно. Воспалительная реакция соответствовала наличию $15,4 \pm 4,3$ лейкоцитов в поле зрения. Анализ показателей экспрессии TLR-2 во Вл не выявил существенных отличий от показателей других групп: значение экспрессии TLR-2 и лейкоцитов равно $35,3 \pm 6,74$ ОЕ и $12,5 \pm 1,94$ клеток в поле зрения, соответственно. Невысокое содержание лейкоцитов (менее 15) в различных отделах УГТ пациентов II группы, наблюдавшееся в 87,2% случаев, свидетельствует о том, что при воспалении шейки матки/уретры более чем у половины женщин с хроническим течением хламидиоза наблюдается снижение лейкоцитарной реакции, связанное с низким уровнем экспрессии генов TLR-2: максимальный уровень данного рецептора не превышал 16,3 ОЕ, и для группы в целом был равен $5,71 \pm 1,1$ ОЕ. Максимальный уровень экспрессии генов TLR-4 не превышал 14,47 ОЕ; составлял для Цк, Ур и Вл $8,0 \pm 1,1$, $2,0 \pm 0,83$ и $14,37 \pm 1,96$ ОЕ, соответственно. Выявленные однотипные изменения показателей уровня экспрессии TLR-2 и TLR-4 в соскобах из Цк и Ур пациенток с хронической формой хламидиоза указывают на развитие так называемого «феномена рецепторной депрессии», свидетельствующего о высоком риске хронизации процесса и рецидива заболевания после проведенного лечения.



Примечание: В Цк достоверные различия выявлены между I и II, III и IV группами ($p \leq 0,05$), II и III, IV группами ($p \leq 0,05$); в Ур – между I и II группами ($p < 0,001$), I и III, IV группами ($p \leq 0,01$), II и III, IV группами ($p \leq 0,05$).

Рис. 2. Уровни экспрессии генов TLR-2 в цервикальном канале (Цк), уретре (Ур) и влагалище (Вл) женщин с хламидийной инфекцией и женщин из групп сравнения.



Примечание: В Цк достоверные различия выявлены между I и II, III и IV группами ($p \leq 0,05$), II и III, IV группами ($p \leq 0,05$); в Ур – между I и II группами ($p < 0,001$), I и III, IV группами ($p \leq 0,05$), II и III, IV группами ($p \leq 0,05$).

Рис. 3. Уровни экспрессии генов TLR-4 в цервикальном канале (Цк), уретре (Ур) и влагалище (Вл) женщин с хламидийной инфекцией и женщин из групп сравнения.

При оценке уровней экспрессии TLR-2 и лейкоцитарного ответа в различных отделах УГТ обследованных III и IV групп (рис.1,2,3) выявлено незначительное повышение количества лейкоцитов в группе III по сравнению с контролем. Содержание лейкоцитов в Цк, Ур и Вл обследованных III группы составляло: $8,1 \pm 1,8$, $5,2 \pm 1,9$, $8,6 \pm 1,7$ клеток в поле зрения, в IV группе – $4,0 \pm 1,52$, $3,3 \pm 1,7$ и $5,1 \pm 2,0$, соответственно. Уровни экспрессии TLR-2 в Цк, Ур и Вл обследованных III группы были сопоставимыми с группой IV и составляли для Цк $17,02 \pm 2,1$ OE и $13,8 \pm 1,9$ OE, Ур $11,9 \pm 1,8$ OE и $7,8 \pm 1,03$ OE, Вл $36,82 \pm 3,56$ OE и $12,1 \pm 1,63$ OE, соответственно. В III и IV группах отмечено достоверное двукратное уменьшение показателей уровня экспрессии TLR-4 в Цк и Ур по сравнению с показателями больных I группы.

У 32 пациенток из группы I, прошедших курс лечения, установлено достоверное снижение уровней экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 в Цк ($24,10 \pm 2,9$ OE и $14,86 \pm 3,23$ OE, соответственно) и Ур ($16,4,8 \pm 3,4$ OE и $11,25 \pm 3,64$ OE, соответственно) в 2 и более раз по отношению к исходному уровню. У 15,1% пациенток с высоким уровнем TLR-2 в Цк и Ур ($62,4 \pm 6,7$ OE и $35,1 \pm 5,2$ OE) снижение уровня наблюдалось уже на первой неделе после начала базисной терапии ($39,8 \pm 4,7$ OE и $24,6 \pm 3,6$ OE). Исследование TLR-4 в Цк и Ур также выявило понижение уровня с $36,8 \pm 3,7$ OE и $25,1 \pm 4,6$ OE до $29,8 \pm 4,6$ и $22,1 \pm 2,64$ OE, соответственно. Также в Цк, Ур и Вл больных после лечения количество лейкоцитов заметно уменьшилось и соответствовало уровню нормы у

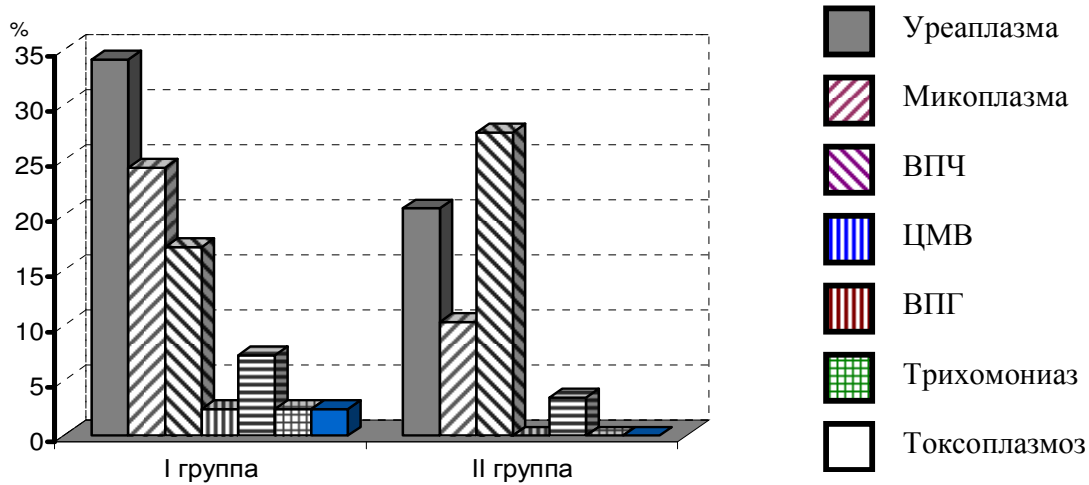
90,9% больных. Отрицательные результаты ПЦР, РИФ и культурального метода, снижение уровня IgG при отсутствии IgA также свидетельствовали об успешной терапии и полной эрадикации возбудителя. При этом у женщин без сопутствующей инфекционной патологии наблюдалось более быстрое снижение уровней экспрессии TLR-2 и TLR-4, значения которых к окончанию лечения (3–4 недели) соответствовали показателям женщин IV группы. У пациенток с низким уровнем TLR-2 в Цк после лечения отмечено снижение уровня TLR-2 с $18,21 \pm 3,63$ ОЕ до $8,5 \pm 2,1$ ОЕ, при этом уровень TLR-4 практически не менялся. Количество лейкоцитов также уменьшилось с $11,0 \pm 2,3$ до $8,6 \pm 1,4$ клеток в поле зрения.

Инфекционные агенты активизируют TLR УГТ, запуская воспалительную реакцию. Естественная или приобретённая супрессия генов TLR-2 и TLR-4 обуславливает хроническое течение УГХ. Уровни TLR-2 и TLR-4 могут служить диагностическими критериями УГХ, характеризовать выраженность инфекционного процесса. Выраженность воспалительной реакции обусловлена и активацией экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 в эпителии слизистых УГТ, и дополнительной активацией TLR-2 и TLR-4 лейкоцитов. Об эрадикации возбудителя можно судить по изменению уровня TLR-2 и TLR-4.

2. Связь уровней экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 с изменениями микробиоценоза УГТ при УГХ у женщин

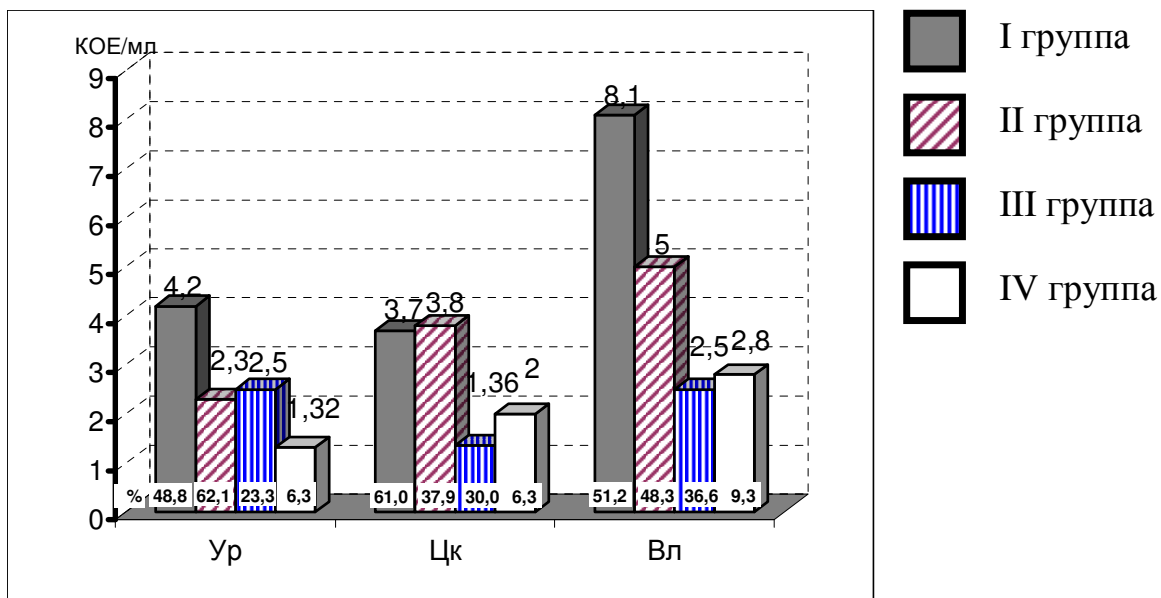
У 17,1% I группы выявлена хламидийная моноинфекция, а у 82,9% (34 пациенток) – в сочетании с другими возбудителями ИППП: уреаплазмами, микоплазмами, ВПЧ, ВПГ, ЦМВ, трихомонадами и токсоплазмами. У 34,1% верифицирована *U. urealyticum*. Выявлено одновременное доминирование двух биоваров *U. urealyticum* Parvo и T-960, что значительно усугубляло течение УГХ. Микоплазмы выявлены у 24,3% пациенток. У 4,8% (2 пациенток) был диагностирован токсоплазмоз и трихомониаз. У 31,7% установлено наличие ВПЧ низкой онкогенности (типы 6 и 11), и у 9,8% человек ВПЧ с ЦМВ или сразу несколько типов ВПЧ (16, 18 и 35) с высокой онкогенной способностью (рис. 4, 5, 6). Наличие УПМ установлено в I группе в Цк у 61,0% пациенток (12 родов микроорганизмов), Ур – у 48,8% (7 родов микроорганизмов), во Вл – у 51,2% пациенток (11 родов микроорганизмов). Причем у большинства больных наблюдался сочетанный характер инфицирования возбудителями ИППП и УПМ (2–7-компонентные ассоциации патогенов). Исследования во II группе на наличие возбудителей ИППП и УПМ в Цк выявили у 37,9% больных хламидийную моноинфекцию, у остальных – сочетанный характер инфицирования различными бактериальными агентами (рис. 4, 5, 6). У 20,7% больных выявлена уреаплазма, у 10,3% больных – микоплазма, у 27,5% – ВПЧ. Частота инфицирования ВПГ составляла 3,4%. УПМ в Цк выявлялись у 37,9% больных (6 родов микроорганизмов), в Ур- у 62,1% больных (5 родов микроорганизмов) и во Вл – у 48,3% (5 родов микроорганизмов). При микст-инфекциях регистрировались 2–5-компонентные ассоциации инфекционных агентов. В III группе у 30,0% женщин из УГТ выделялись УПМ в Цк (5 родов микроорганизмов), из Ур – у 23,3% обследованных (4 рода микроорганизмов), из Вл – у 36,6% женщин (4 рода микроорганизмов). Из бактериальных патогенов наиболее часто

встречалась уреоплазма – у 13,3% человек, при этом у 9,4% пациенток уреоплазмоз встречался как моноинфекция и сочетанное инфицирование уреомикоплазмой у одной пациентки; ВПЧ определялся у 26,7% больных. Регистрировалось формирование 2–3 компонентных ассоциаций патогенов (рис. 4, 5, 6).



Примечание: Монохламидийная инфекция встречалась у 7 (17,1%) пациентов I группы и у 11 (37,9%) пациентов II группы.

Рис. 4. Возбудители ИППП при сочетанной хламидийной инфекции у пациентов I – II групп. Процент встречаемости.



Примечание: В Цк достоверные различия выявлены между I и III группами ($p < 0,01$), I и IV группами ($p < 0,001$), II и IV группами ($p < 0,001$), III и IV группами ($p < 0,01$); в Ур – между I и IV группами ($p < 0,001$), II и III группами ($p < 0,01$), II и IV группами ($p < 0,001$); во Вл – I и III группами ($p < 0,001$), I и IV группами ($p < 0,001$), II и III группами ($p < 0,01$), II и IV группами ($p < 0,001$), III и IV группами ($p < 0,01$).

Рис. 5. Процент выявления и количественное содержание условно-патогенной микрофлоры КОЕ/мл в биотопах женщин с хламидийной инфекцией и женщин из групп сравнения.

В IV группе ни одним из использованных способов (ПЦР, ИФА) не были выявлены ИППП. УПМ выявлялись (рис. 4, 5, 6) у двух пациенток в Цк (3 рода микроорганизмов), у трех пациенток – в Ур (3 рода микроорганизмов) и Вл (4 рода микроорганизмов), соответственно.

По частоте выявляемости УПМ (рис. 5, 6) в Цк достоверные различия выявлены между I и III группами ($\chi^2 = 5,470$, $p < 0,01$), I и IV группами ($\chi^2 = 20,800$, $p < 0,001$), II и IV группами ($\chi^2 = 7,310$, $p < 0,001$), III и IV ($\chi^2 = 4,460$, $p < 0,01$), а между I и II, II и III группами различия не достоверны. При этом имела место в I группе средняя корреляционная связь между УПМ и TLR-2 и приближалась к средней между УПМ и TLR-4 и между TLR-2 и TLR-4; во II группе между УПМ и TLR-2, УПМ и TLR-4, TLR-2 и TLR-4- слабая корреляционная связь; в III группе сильная корреляционная связь между УПМ и TLR-2 и приближалась к средней между УПМ и TLR-4, между TLR-2 и TLR-4- слабая корреляционная связь; в IV группе между УПМ и TLR-2, УПМ и TLR-4, TLR-2 и TLR-4- слабая корреляционная связь. **По частоте выявляемости УПМ в Ур** достоверные различия выявлены между I и IV группами ($\chi^2 = 13,480$, $p < 0,001$), II и III группами ($\chi^2 = 6,670$, $p < 0,01$), II и IV группами ($\chi^2 = 19,050$, $p < 0,001$), а между группами I и II, I и III, III и IV различия не достоверны. При этом имела место в I группе средняя обратная корреляционная связь между УПМ и TLR-2, между УПМ и TLR-4 и слабая прямая корреляционная связь между TLR-2 и TLR-4; во II группе между УПМ и TLR-2, УПМ и TLR-4, TLR-2 и TLR-4 корреляционной связи не выявлено; в III группе между УПМ и TLR-2, УПМ и TLR-4, TLR-2 и TLR-4 корреляционной связи не выявлено; в IV группе между УПМ и TLR-2- средняя корреляционная связь, а между УПМ и TLR-4, TLR-2 и TLR-4 корреляционной связи не выявлено. **По частоте выявляемости УПМ во Вл** достоверные различия выявлены между I и III группами ($\chi^2 = 13,240$, $p < 0,001$), I и IV группами ($\chi^2 = 27,010$, $p < 0,001$), II и III группами ($\chi^2 = 4,940$, $p < 0,01$), II и IV группами ($\chi^2 = 20,530$, $p < 0,001$), III и IV группами ($\chi^2 = 5,120$, $p < 0,01$), а между группами I и II различия не достоверны. В I группе по сравнению с IV группой дополнительно выявлена достоверно высокая инфицированность *Candida spp* ($\chi^2 = 3,889$, $p < 0,05$), *Streptococcus spp* (γ -гемолитический) – I и IV группами ($\chi^2 = 3,913$, $p < 0,05$), *Enterococcus spp* ($\chi^2 = 20,557$, $p < 0,001$), *Escherichia coli* ($\chi^2 = 13,550$, $p < 0,001$), *Klebsiella spp* ($\chi^2 = 8,460$, $p < 0,001$), *Enterobacter spp* ($\chi^2 = 5,132$, $p < 0,01$). При этом имела место в I группе слабая корреляционная связь между УПМ и TLR-2 и средняя между УПМ и TLR-4, между TLR-2 и TLR-4; во II группе между УПМ и TLR-2 слабая, между УПМ и TLR-4, TLR-2 и TLR-4 приближалась к средней корреляционной связи; в III группе средняя корреляционная связь между УПМ и TLR-2 и между УПМ и TLR-4, между TLR-2 и TLR-4- слабая корреляционная связь; в IV группе между УПМ и TLR-2, между УПМ и TLR-4 – сильная, между TLR-2 и TLR-4 – средняя корреляционная связь.

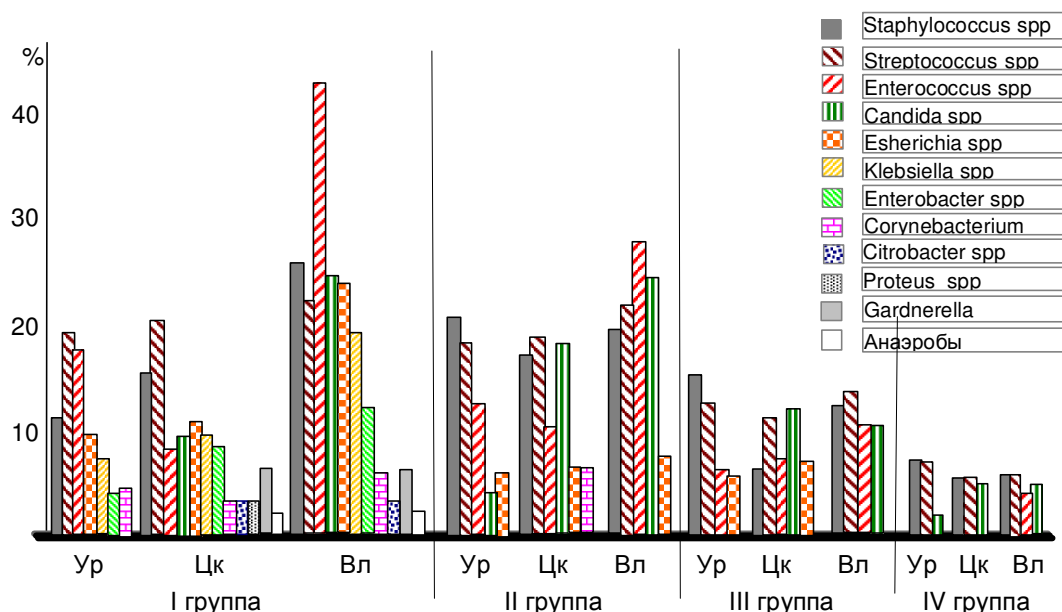


Рис. 6. Процент встречаемости микрофлоры в уретре (Ур), цервикальном канале (Цк) и влагалище у пациенток с хламидийной инфекцией и женщин групп сравнения.

По частоте выявляемости УПМ во II группе установлены различия показателей инфицированности между Вл и Ур ($\chi^2 = 4,150$ при $p < 0,01$ и $\chi^2 = 4,340$ при $p < 0,01$); в остальных случаях (I и II группа) наблюдалась корреляционная зависимость выявления УПМ между Вл и Цк, Цк и Ур ($r_s \geq 0,5$).

Оценивалась взаимосвязь уровня экспрессии генов TLR и нормофлоры Вл. Обнаружено достоверное снижение ($\chi^2 = 16,353$, $p < 0,001$) количества лактобацилл в I группе (выявлялись у 56,1% пациента) по сравнению с IV группой (100%) в пристеночной области (интенсивность колонизации $6,5 \pm 1,0$ lg КОЕ/г и $7,5 \pm 1,5$ lg КОЕ/г, соответственно), также достоверно различие по сравнению со II ($\chi^2 = 4,272$, $p < 0,01$), с III группами ($\chi^2 = 6,200$, $p < 0,01$). Бифидобактерии не выявлялись (достоверность различий по сравнению с III – $\chi^2 = 9,790$, $p < 0,001$ и IV – $\chi^2 = 17,580$, $p < 0,001$ группами, а со II различия не достоверны). У 72,1% обследованных II группы имело место достоверное снижение ($\chi^2 = 7,880$, $p < 0,01$) количества лактобацилл до $6,2 \pm 1,0$ lg КОЕ/г по сравнению с IV группой. Различия с группой III не достоверны. Бифидобактерии выявлялись у двух пациентов ($3,5 \pm 1,0$ lg КОЕ/г; различия достоверны по сравнению с III – $\chi^2 = 7,364$, $p < 0,01$ и IV группами $\chi^2 = 7,600$, $p < 0,001$). Различия с группой III не достоверны. У пациенток III и IV групп во Вл у 87% ($7,2 \pm 0,6$ lg КОЕ/г) и 100% пациентов ($7,5 \pm 1,5$ lg КОЕ/г), соответственно, выявлены лактобациллы. Различия между III и IV группами не достоверны. У 26,6% обследованных III группы и у 50% пациентов IV группы бифидобактерии выделялись в количестве $5,2 \pm 0,7$ lg КОЕ/г и $6,1 \pm 0,9$ lg КОЕ/г, соответственно; различия между группами не достоверны.

Во Вл корреляционной связи между УПМ и нормофлорой в группах не выявлено. Обратная корреляционная зависимость между УПМ к и лактобациллами Вл ($r_s = -0,7$) определялась только во II группе. Не установлено корреля-

ционной зависимости показателей уровней лактобацилл и бифидобактерий (нормофлора) с показателями уровней экспрессии генов TLR.

Пациентов I и II групп разбили на четыре этиологические подгруппы (рис. 7) согласно бактериологическому посеву и лабораторным исследованиям на наличие ИППП. К **первой этиологической подгруппе** отнесены пациентки, у которых отсутствовали любые ассоцианты (возбудители ИППП, УПМ).

Отсутствие возбудителей ИППП, присутствие как отдельных видов УПМ ($\geq 10^3$ КОЕ/мл), так и наличие их ассоциаций объединило пациентов во **вторую этиологическую подгруппу**. Третью этиологическую подгруппу представляли пациентки, у которых обнаруживались различные возбудители ИППП, но в различных отделах УГТ не определялись УПМ. В **четвертую этиологическую подгруппу** больных включены пациентки, у которых одновременно определялось как наличие возбудителей ИППП, так и УПМ ($\geq 10^3$ КОЕ/мл). У пациенток группы I с четвертой этиологической подгруппой выявлены наиболее высокие показатели уровней экспрессии генов TLR-2 в Цк и Ур ($94,80 \pm 6,11$ ОЕ и $30,7 \pm 4,5$ ОЕ, соответственно), что связано с совокупным воздействием УПМ, ИППП и патологического процесса. Достоверно выше при $p < 0,05$ чем у больных первой этиологической подгруппы ($36,3 \pm 4,1$ ОЕ и $28,0 \pm 3,9$ ОЕ, соответственно).

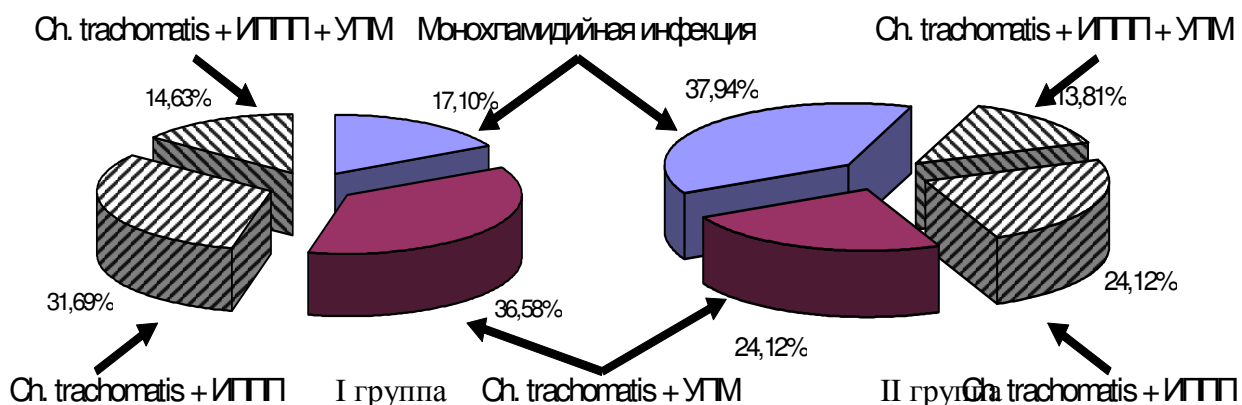


Рис. 7. Соотношение моно- и микст-инфицирования пациенток с УГХ.

Сочетание пяти возбудителей инфекций (два биовара уреоплазм, микоплазмы и вирусы) и УПМ способствовало максимальной активации экспрессии генов TLR-2 в Цк и Ур в I группе ($96,8$ ОЕ и $45,6$ ОЕ, соответственно). Уровни экспрессии генов TLR-2 в Цк и Ур во второй этиологической подгруппе ($67,9 \pm 14,2$ ОЕ и $19,6 \pm 4,5$ ОЕ, соответственно) и в третьей этиологической подгруппе ($51,8 \pm 8,3$ ОЕ и $20,81 \pm 3,6$ ОЕ, соответственно) достоверно не отличались между собой, но были ниже чем в четвертой этиологической подгруппе. Уровни экспрессии генов TLR-2 в Цк во второй и в третьей этиологических подгруппах достоверно превышали таковые первой этиологической подгруппы. Уровни экспрессии генов TLR-2 в Ур во второй и в третьей этиологических подгруппах достоверно не отличались от соответствующих уровней первой этиологической подгруппы. Уровень экспрессии гена TLR-2 в Цк и Ур у пациентов II группы с первой этиологической подгруппой составлял $7,2 \pm 1,9$ ОЕ и $3,5 \pm 0,4$ ОЕ, соответственно, со второй этиологической подгруппой - $13,0 \pm 3,0$ ОЕ

и $6,2 \pm 4,3$ ОЕ, соответственно, у пациентов третьей этиологической подгруппы - $8,6 \pm 2,71$ ОЕ и $5,9 \pm 2,6$ ОЕ, соответственно, и у пациентов четвертой этиологической подгруппы - $10,6 \pm 4,4$ ОЕ и $8,1 \pm 6,7$ ОЕ, соответственно. Различия показателей между этиологическими подгруппами были не достоверны. Однако они достоверно различались по этиологическим подгруппам с соответствующими показателями пациенток группы I. Микробиоценоз влагалища не оказывал влияния на экспрессию генов TLR-2. Не выявлено достоверного влияния микрофлоры в Цк, Ур и Вл на экспрессию генов TLR-4.

Все пациенты были также разделены на группы в зависимости от преобладания грамположительных или грамотрицательных микроорганизмов или количественного содержания одного из этих патогенов $>10^6$ КОЕ/мл во Вл. Сравнение уровней экспрессии генов TLR-2 в I, II, III и IV группах с качественной характеристикой микрофлоры не выявил достоверных отличий с учётом наличия грамположительной или грамотрицательной микрофлоры. Однако установлен более высокий уровень экспрессии TLR-4 при наличии грамотрицательных микроорганизмов. Экспрессия генов TLR-4 отражает активность воспалительного процесса. Следовательно, различные уровни активации рецепторов TLR-2 и TLR-4 зависят от качественного состава микробных сообществ, присутствующих на слизистой оболочке УГТ. Активация экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 происходит более выражено в ответ на УПМ и менее выражено при контакте с нормофлорой.

3. Связь уровней экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 с изменениями цитокинового профиля УГТ при УГХ у женщин

Отмечена сильная положительная корреляционная связь уровней экспрессии генов TLR-2, TLR-4 и IL-8 с характером течения и топики заболевания. Уровни IL-8 в ЦС у больных группы I ($3780,16 \pm 421,89$ пкг/мг белка) достоверно ($p < 0,01$) выше показателей групп III ($511,72 \pm 195,44$ пкг/мг белка), IV ($134,04 \pm 31,76$ пкг/мг белка); с группой II ($2781,62 \pm 676,33$ пкг/мг белка) различия не достоверны. Показатели уровней экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 в группе I сильно коррелировали с высоким содержанием цитокина ($r = 0,88$ и $r = 0,82$, соответственно). При микст-хламидийной инфекции содержание IL-8 в ЦС составляло $3801,4 \pm 322,3$ пкг/мг белка. У пациентов с моно хламидийной инфекцией концентрация ИЛ-8 составляла $2981,62 \pm 91,06$ пкг/мг белка и была достоверно выше показателей группы IV ($p < 0,01$), но ниже по отношению к содержанию ИЛ-8 у больных группы I с микст-хламидийной инфекцией ($p < 0,05$). Показатели уровней ИЛ-8 определялись продолжительностью заболевания. Наиболее значительное повышение уровня ИЛ-8 в ЦС наблюдалась у пациентов впервые инфицированных, т.е. с ранним сроком заболевания. В группе II выявлено достоверное повышение уровней ИЛ-8 в 3,8 раза по сравнению с таковыми пациентов группы IV. Показатели уровней экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 в группе II сильно коррелировали с содержанием цитокина ($r = 0,71$ и $r = 0,69$, соответственно). Не выявлено зависимости содержания ИЛ-8 у пациентов с микст- или моно- инфекционной формой УГХ. В группах III и IV показатели уровней ИЛ-8 достоверно не различались. В группе III установлена средняя корреляционная связь между ИЛ-8 и уровнем экспрессии генов TLR-2 и TLR-4

($r > 0,61$ и $r = 0,52$, соответственно) и слабая корреляционная связь в группе IV ($r > 0,48$ и $r = 0,35$, соответственно). Во II группе выявлена средняя корреляционная связь между IL-8 Цк и УПМ Цк ($r > 0,53$), IL-8 Цк и УПМ Вл ($r > 0,67$), а в III группе – только между IL-8 Цк и УПМ Вл ($r > 0,67$). Корреляционных связей между IL-8 ЦС и нормофлорой Вл в сравниваемых группах не установлено. Следовательно, высокие уровни экспрессии TLR-2, TLR-4 и концентрации ИЛ-8 в секрете Цк у пациентов группы I можно расценивать как выраженную воспалительную реакцию организма, направленную на предупреждение распространения инфекции за пределы шейки матки.

У пациенток группы I ($141,29 \pm 10,30$ пкг/мг белка) установлено достоверно более высокое содержание TNF- α в ЦС, чем в группах II ($25,63 \pm 7,75$ пкг/мг белка), III ($7,24 \pm 2,13$ пкг/мг белка) и IV ($2,63 \pm 1,30$ пкг/мг белка). Регистрировалась средняя корреляционная связь уровня цитокина с показателями экспрессии генов TLR-2 ($r = 0,69$) и ($r = 0,62$). Выявлено, что показатели содержания TNF- α ($163,82 \pm 17,13$ пкг/мг белка) в ЦС у 9 больных группы I со сроком заболевания до 2 месяцев статистически достоверно ($p < 0,05$) выше средних показателей по группе I в целом, а также показателей группы IV ($p < 0,01$), что также коррелировало с клиническими проявлениями заболевания и высокими уровнями экспрессии генов TLR-2 ($67,40 \pm 2,01$ ОЕ) и TLR-4 ($37,80 \pm 0,19$ ОЕ). В группе II уровень TNF- α достоверно выше чем в группе III, в 9 раз превышал значения показателей в группе IV и обратно коррелировал с низким уровнем экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 ($r = -0,63$ и $r = -0,58$, соответственно). У пациентов групп III и IV отмечались низкие значения TNF- α в ЦС, которые достоверно не различались между собой. Установлена слабая корреляционная связь между TLR-2, TLR-4 и уровнем TNF- α в ЦС пациенток групп III и IV.

У больных группы I ($952,1 \pm 149,13$ пкг/мг белка) выявлены достоверно высокие концентрации IL-6 по сравнению с группами II ($154,82 \pm 73,20$ пкг/мг белка), III ($43,28 \pm 12,40$ пкг/мг белка) и IV ($5,31 \pm 2,79$ пкг/мг белка). Установлена сильная корреляционная связь уровней IL-6 с уровнями экспрессии генов TLR-2 ($r = 0,75$) и TLR-4 ($r = 0,72$). У больных группы II показатель уровня IL-6 в ЦС достоверно выше такового в группе IV и не отличался от такового группы III. Установлена средняя корреляционная связь уровней IL-6 с уровнями экспрессии генов TLR-2 ($r = 0,62$) и TLR-4 ($r = 0,61$). В группе III уровень IL-6 был в 8 раз выше, чем в группе IV при практически равном уровне экспрессии генов TLR-2 и TLR-4. В I группе выявлена средняя корреляционная связь между IL-6 Цк и УПМ Вл ($r > 0,49$), во II группе – между IL-6 Цк и УПМ Цк ($r = 0,49$). Прослеживается определенная связь уровня продукции IL-6 с воспалительным процессом.

Показатели концентраций IL-4 ЦС в группе I ($24,83 \pm 18,44$ пкг/мг белка) достоверно выше показателей у пациенток групп III ($6,2 \pm 1,56$ пкг/мг белка) и IV ($3,98 \pm 1,38$ пкг/мг белка); с группой II различия не достоверны. Достоверной взаимосвязи между содержанием исследуемого цитокина при различных сочетаниях возбудителей с хламидийной инфекцией, с давностью заболевания, с уровнями экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 выявлено не было. Не установлено достоверной динамики показателей уровней экспрессии IL-4 в группах II и III по сравнению с группой IV.

У больных группы I наблюдался достоверно повышенный уровень IL-1 β (1515,9 \pm 364,8 пкг/мг белка) по сравнению с пациентками групп II (117,64 \pm 69,45 пкг/мг белка), III (24,67 \pm 3,81 пкг/мг белка) и IV (2,18 \pm 1,69 пкг/мг белка). Показатели концентрации IL-1 β сильно коррелировали с высоким уровнем экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 ($r = 0,78$ и $r = 0,79$, соответственно). Установлена зависимость уровня продукции IL-1 β от характера острого хламидийного процесса. В группе II в ЦС наблюдалась относительно невысокая концентрация IL-1 β (достоверно отличалась от показателей пациенток групп III и IV, $p < 0,05$), коррелирующая со сниженным уровнем экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 ($r = 0,63$ и $r = 0,58$, соответственно) и обуславливающая хронический, вялотекущий воспалительный процесс. Корреляционных связей между IL-1 β Цк и УПМ Цк, IL-1 β Цк и УПМ Вл, IL-1 β Цк и нормофлорой Вл в сравниваемых группах не установлено. Активирование экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 хламидиями сопровождается наработкой IL-1 β , который усиливает воспалительный ответ, стимулируя продукцию дополнительных цитокинов соседними неинфицированными клетками.

Уровни INF- γ в ЦС (415,66 \pm 159,90 пкг/мг белка) у больных группы I статистически значимо ($p < 0,05$) отличались от таковых у пациенток групп II (26,69 \pm 9,50 пкг/мг белка), III (4,47 \pm 1,61 пкг/мг белка) и IV (3,13 \pm 1,35 пкг/мг белка). Установлена средняя корреляционная связь уровней INF- γ с уровнями экспрессии генов TLR-2 ($r = 0,52$) и TLR-4 ($r = 0,48$). В группе II уровни INF- γ были достоверно выше таковых в группах III и IV. Определялась средняя корреляционная связь уровней INF- γ с показателями экспрессии генов TLR-2 ($r=48$) и слабая с TLR-4 ($R = 0,32$). Содержание INF- γ в группах III и IV было на низком уровне и статистически не различалось. Низкий уровень INF- γ у пациенток группы IV слабо коррелировал с уровнем экспрессии генов TLR-2 и TLR-4. В I группе выявлена корреляционная связь между INF- γ Цк и УПМ Цк ($r = 0,41$), между INF- γ Цк и УПМ Вл ($r = 0,57$). Корреляционные связи между INF- γ Цк и лактобациллами Вл установлены во II группе ($r = 0,41$).

Не выявлено зависимости и связи между уровнями экспрессии IL-9, IL-10, IL-12 и ГМ-КСФ в изучаемых группах с топикой и выраженностью течения хламидийной инфекции.

Качественно-количественные изменения в уровнях цитокинов могут в равной степени определять как характер иммунологических нарушений, так и их клинико-диагностическое значение при различных вариантах течения УГХ. Снижение уровня одних цитокинов в ЦС и повышение содержания других цитокинов у больных с УГХ может указывать на дисбаланс регуляторных процессов, ответственных за поддержание оптимального уровня клеточной активности. Наличие провоспалительных цитокинов (IL-1 β , IL-6, IL-8 и INF- γ) в ЦС клинически здоровых женщин (без гинекологической патологии и генитальной инфекции) объясняется постоянным контактом с УПМ, поступающей извне, присутствием собственных отмирающих клеток в секрете Цк. Следовательно, цитокины Цк при УГХ определяют выраженность клинических и лабораторных проявлений, а также исход заболевания (излечение, хронизация).

4. Связь уровней экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 с изменениями иммуноглобулинового профиля УГТ при УГХ у женщин.

У больных группы I средние значения экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 в эпителии Цк были достоверно выше аналогичных показателей в группах II, III и IV (табл.1). Уровень белка в I группе ЦС характеризовался достоверно высокими значениями по сравнению с группами III и IV; по сравнению с группой II различий не было. Отличий в содержании белка у женщин группы IV и группы III выявлено не было. Иммунологические нарушения проявлялись в виде повышения относительного количества IgA, IgG, sIgA и sc, появлением IgM и IgA, содержание которых в ЦС у пациентов группы I было достоверно выше показателей в группах III и IV, а содержимое sIgA и sc в группе I было достоверно выше группы II. Совместное обнаружение IgM и IgA не было зарегистрировано ни у одного пациента. Выявлена достоверная слабая корреляционная связь между уровнем общего белка и уровнями экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 $r = 0,3$ ($p < 0,05$). Показана достоверная слабая корреляционная зависимость между уровнем общего белка и sIgA, sc ($r = 0,35$ и $r = 0,39$, соответственно), более высокая между уровнем общего белка и IgG ($r = 0,42$), средняя – между уровнем IgG и уровнями экспрессии генов TLR-4 ($r = 0,49$) и не выявлено прямой корреляционной связи между IgG и TLR-2 ($r < 0,10$). Средняя корреляционная зависимость наблюдалась между TLR-2 и sIgA ($r = 0,48$). Коэффициент корреляции между содержанием в Цк УПМ и уровнями экспрессии генов составлял для TLR-2 $r = 0,49$, а для TLR-4 $r < 0,10$, УПМ и белком – $r = 0,67$, УПМ и IgG – $r = 0,30$, УПМ и sIgA- $r = 0,37$, УПМ и sc- $r = 0,47$. Нарушение микробиотоза Цк, сопровождалось снижением pH содержимого ЦС до 5,8 (норма 6,4-8,0), выраженным увеличением количества лейкоцитов. Высокие уровни экспрессии TLR-2, TLR-4, содержания лейкоцитов, белка и Ig у пациентов группы I можно расценивать как выраженную местную иммунологическую реакцию макроорганизма, отражающую остроту инфекционного процесса. В ЦС нарастание уровней IgG связано с местным синтезом и экссудацией, а выявление sIgA и sc обусловлено их синтезом *in situ*.

У пациенток группы II регистрировалось достоверное снижение уровней экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 в 2 и 2,5 раза, соответственно, относительно показателей группы I (табл.1), а также они достоверно ниже таковых в группе IV. Уровень белка в ЦС достоверно выше по сравнению с группами I, III и IV. Уровни лейкоцитов повышены относительно пациентов групп III и IV. Из 29 у 7 пациенток (длительное течение хронического УГХ с вовлечением в патологический процесс верхних отделов УГТ) регистрировался IgA. По сравнению с пациентами группы I также достоверно уменьшено содержание sIgA, sc и лейкоцитов ($p < 0,05$). Однако они были достоверно выше, чем в группе IV. Содержание IgG достоверно увеличилось более чем в 1,3 раза по сравнению с группой I. Показатели sIgA и sc сильно коррелировали с уровнями экспрессии генов TLR-2 ($r = 0,77$) и слабо с TLR-4 ($r = 0,29$). Выявлена средняя корреляционная зависимость между содержанием общего белка и IgG ($r = 0,51$), отсутствием корреляционной зависимости с sIgA и sc. Установлена сильная корреляционная зависимость между содержанием IgG и TLR-2 ($r = 0,48$), IgG и УПМ ($r = 0,73$), слабая между IgG и TLR-4 ($r = 0,32$). Высокие уровни белка в ЦС и

IgG, наличие повышенной лейкоцитарной реакции в Цк указывают на хронический воспалительный процесс. В ЦС нарастание уровней IgG связано, в основном, с местным синтезом и в меньшей степени с экссудацией через слизистую сыворотки крови, а выявление sIgA и sc обусловлено их пониженным местным синтезом. У пациенток группы III уровни экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 статистически не отличались от показателей группы IV. Уровни IgG, sIgA и sc в ЦС и лейкоцитов в Цк у пациенток группы III достоверно выше таковых группы IV ($p < 0,05$). Установлена корреляционная связь между содержанием общего белка и уровнями экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 ($r = 0,40$), sIgA ($r = 0,49$). После излечения от хламидийной инфекции регистрируются остаточные проявления нарушений местного иммунитета со стороны гуморальных факторов (синтезируются местно) и уровней лейкоцитов.

Таблица 1. Уровни иммуноглобулинов у больных с различными формами УГХ и клинически здоровых женщин.

Показатели		Параметры иммунитета, (M±m _x)					Уровень достоверности различий показателей между группами, P < 0,05
		Обследованные группы					
		I (n=41) Острый УГХ	II (n=29) Хронический УГХ	III (n=30) Переболевшие УГХ	IV (n=32) Практически здоровые, контроль		
TLR-2	ОЕ	57,00±9,95	5,71±1,07	18,67±2,39	17,02±2,10	II<I и IV; I>II и III	
TLR-4		34,80±1,72	8,01±1,08	13,50±0,93	13,8±1,9	I>II; II<IV	
Лейкоциты		42,8±6,2	14,8±1,4	8,1±1,8	4,00±1,52	IV< I, II и III	
УПМ, Lg КОЕ/мл		3,70±1,56	3,80±0,27	1,36±0,37	1,94±0,37	I >III и IV; II>III и IV	
Белок г на мл пробы		1,40±0,92	1,67±0,78	0,41±0,33	0,35±0,26	II>I, III и IV	
IgM*	мкг Ig на г белка	31,01±4,07	0	0	0	0	
IgG		32,41±4,41	41,81±3,56	11,30±2,47	6,67±1,25	I >III и IV; II>III и IV	
IgA**		12,50±3,54	17,39±0,83	0	0	0	
sIgA		36,30±2,63	22,35±2,66	12,60±1,45	5,64±0,62	IV<I, II и III	
sc		43,19±5,47	29,25±3,39	16,2±2,48	7,23±0,98	IV< I, II и III	

Примечание: УГХ – урогенитальный хламидиоз; ОЕ- относительные единицы; УПМ- условно-патогенные микроорганизмы; * – IgM встречался у 4 из 41 пациентов I группы; ** – IgA встречался у 2 из 41 пациента I группы и 7 из 29 пациентов II группы.

При отсутствии УГХ у пациенток группы IV отмечаются низкие значения содержания Ig (табл. 1). Невысокие концентрации IgG в ЦС клинически здоровых женщин объясняются антигенной стимуляцией поступающими извне микроорганизмами. Показатели уровней экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 также характеризовались низкими значениями. Установлена корреляционная связь между содержанием общего белка и уровнями экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 ($r = 0,40$), IgG ($r = 0,46$).

Таким образом, при УГХ в УГТ взаимосвязь рецепторов врождённого иммунитета TLR-2 и TLR-4 (контролируют запуск цитокинового каскада мест-

ной антиинфекционной резистентности, через который запускаются иммуноглобулиновое звено и воспалительная реакция) с нормофлорой определяет колонизационную резистентность слизистых (рис. 8) и характеризует течение инфекционного процесса, выраженность клинических и лабораторных проявлений и исход заболевания (излечение, хронизация), а оценка их уровней носит диагностический и прогностический характер. При выраженной острой или хронической воспалительной реакции в Цк уровень IgG определяется не только местным синтезом, но проникновением IgG из крови за счёт повышения проницаемости слизистой Цк. Предлагаемый комплексный подход лабораторной диагностики УГХ позволит в каждом конкретном случае оценить состояние местной врождённой антиинфекционной резистентности эпителия слизистых УГТ, конкретизировать причины хронизации инфекционного процесса и обосновывает применение дополнительных диагностических и прогностических критериев при УГХ.

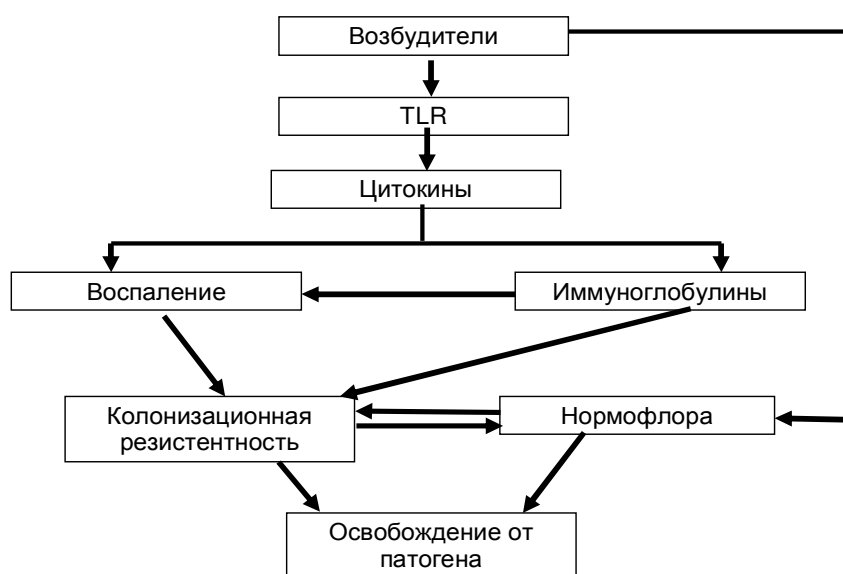


Рис. 8. Взаимодействие факторов, определяющих колонизационную резистентность

ВЫВОДЫ

1. Впервые установлено, что оценка уровней экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 в соскобном материале из цервикального канала и уретры больных урогенитальной хламидийной инфекцией позволяет различить острую и хроническую форму течения хламидиоза, а также выявить начало хронизации инфекционного процесса.
2. При остром урогенитальном хламидиозе снижение уровней экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 наряду с прямыми методами детекции возбудителя могут косвенно свидетельствовать об эрадикации хламидий.
3. Реакция TLR на условно-патогенную микрофлору и нормофлору определяет цитокиновый и иммуноглобулиновый профили и колонизационную резистентность слизистых урогенитального тракта.
4. При урогенитальном хламидиозе Toll-подобные рецепторы запускают местную воспалительную реакцию, определяют уровни IgG, sIgA и sc.
5. Цитокиновая система опосредует передачу активационных сигналов от TLR на клетки УГТ макроорганизма.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Байракова А.Л. Уровень экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 как прогностический критерий излеченности при урогенитальном хламидиозе / А.Л. Байракова, Е.А. Воропаева, С.С. Афанасьев, В.А. Алешкин, Л.И. Кафарская, Б.А. Ефимов, А.Н. Шкопоров, О.Г. Гречишникова, В.А. Метельская, М.С. Афанасьев, Е.А. Егорова // Человек и лекарство: сборник материалов XV Российского национального конгресса.– М., 2008.С.387-388.
2. Гречишникова О.Г. Лабораторная база диагностики хламидиоза / О.Г. Гречишникова, Е.А. Воропаева, С.С. Афанасьев, В.А. Алешкин, В.А. Метельская, А.Л. Байракова, В.В. Слободенюк, М.С. Афанасьев, Е.А. Егорова // Человек и лекарство: сборник материалов XV Российского национального конгресса.– М., 2008.С.430-431.
3. Байракова А.Л. Уровни экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 как показатели динамики патогенетических изменений при урогенитальном хламидиозе / А.Л. Байракова, Е.А. Воропаева, С.С. Афанасьев, В.А. Алешкин, Л.И. Кафарская, Б.А. Ефимов, А.Н. Шкопоров, О.Г. Гречишникова, В.А. Метельская, М.С. Афанасьев, Е.А. Егорова // Идеи Пастера в борьбе с инфекциями. Материалы четвертой международной конференции. – СПб, 2008. – С.53.
4. Байракова А.Л. Роль и биологическое значение Толл-подобных рецепторов в антиинфекционной резистентности организма / А.Л. Байракова, Е.А. Воропаева, С.С. Е.А. Егорова, В.А. Метельская, О.Г. Гречишникова, М.С. Афанасьев, О.В. Рубальский // Вестн. РАМН. – 2008. – № 1. – С.45-54.
5. Караулов А.В. Прогностическая значимость экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 при урогенитальном хламидиозе у женщин / А.В. Караулов, М.С. Афанасьев, А.Л. Байракова, Е.А. Воропаева, С.С. Афанасьев, В.А. Алешкин, Л.И. Кафарская, А.Н. Шкопоров, Ю.В. Несвижский, С.А. Леваков. // Российский иммунологический журнал. – 2008. – Т. 2. – № 2-3. – С.178.
6. Алешкин В.А. Уровни экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 как критерий оценки эффективности алгоритмов терапии при хламидиозе / В.А. Алешкин, Е.А. Воропаева, А.В. Караулов, А.Л., Байракова, С.С. Афанасьев, Л.И. Кафарская, Ю.В. Несвижский, Б.А. Ефимов, А.Н. Шкопоров, О.Г. Гречишникова, С.А. Леваков, В.А. Метельская, М.С. Афанасьев, Е.А. Егорова, В.В. Слободенюк, Е.В. Фандеева // Современные представления об иммунокоррекции. Материалы Всероссийской научно-практической конференции. – Пенза, 2008. – С.8–10.
7. Воропаева Е.А. Связь уровней экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 с изменениями микробиоценоза урогенитального тракта при урогенитальном хламидиозе у женщин / Е.А. Воропаева, А.В. Караулов, А.Л. Байракова, С.С. Афанасьев, В.А. Алешкин, Л.И. Кафарская, Ю.В. Несвижский, Б.А. Ефимов, А.Н. Шкопоров, О.Г. Гречишникова, С.А. Леваков, В.А. Метельская, М.С. Афанасьев, Е.А. Егорова, В.В. Слободенюк, Е.В. Фандеева // Иммунопатология, Аллергология, Инфектология. – 2008. – № 2. – С.68-76.

8. Афанасьев С.С. Связь уровней экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 с изменениями цитокинового профиля урогенитального тракта при урогенитальном хламидиозе у женщин / С.С. Афанасьев, А.Л. Байракова, Е.А. Воропаева, В.А. Алёшкин, А.В. Караулов, Л.И. Кафарская, Ю.В. Несвижский, А.П. Топтыгина, Б.А. Ефимов, А.Н. Шкопоров, О.Г. Гречишникова, С.А. Леваков, Кострова О.М., В.А. Метельская, М. С. Афанасьев, Е.А. Егорова, В.В. Слободенюк, Е.В. Фандеева // Естественные науки. – 2008. – № 4 (прил. N ° 25). – С.57-63.

9. Метельская В.А. Современные методы лабораторной диагностики хламидиозов / В.А. Метельская, В.А. Алешкин, В.В. Зверев, О.Г. Гречишникова, Е.А. Воропаева, С.С. Афанасьев, Ю.В. Несвижский, М.С. Афанасьев, А.Л. Байракова, Е.А. Егорова // Журн. микробиол. – 2008 – № 4. – С.111-117.

10. Байракова А.Л. Уровни экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 как способ оценки формы и прогноза течения урогенитальной хламидийной инфекции у женщин / А.Л. Байракова, О.Г. Гречишникова, В.А. Алешкин, Е.А. Воропаева, С.С. Афанасьев, В.А. Метельская, М.С. Афанасьев // Биологическая безопасность в современном мире. Материалы науч.-практ. конф. СМУиС– Оболенск, 2009. – С.98-100.

11. Гречишникова О.Г. Сравнительная характеристика методов лабораторной диагностики урогенитального хламидиоза у больных в зависимости от остроты клинических проявлений / О.Г. Гречишникова, В.В. Слободенюк, Е.А. Воропаева, В.А. Алешкин, С.С. Афанасьев, В.А. Метельская, А.Л. Байракова, М.С. Афанасьев, Е.А. Егорова // Человек и лекарство: сборник материалов XVI Росс. Нац. конгресса – М, 2009. – С.76.

12. Афанасьев С.С. Молекулярные механизмы индукции врождённого иммунитета / С.С. Афанасьев, В.А. Алёшкин, А.Л. Байракова, Е.А. Воропаева, Ю.В. Несвижский, Л.И. Кафарская, Е.А. Егорова, М.С. Афанасьев, В.А. Метельская, О.Г. Гречишникова, А.А. Куракова // Вестник РАМН. – 2009. – № 4. – С.42-49.

13. Алешкин В.А. Связь уровней мРНК TLR-2 и TLR-4 с изменениями иммуноглобулинового профиля урогенитального тракта при урогенитальном хламидиозе у женщин / В.А. Алешкин, А.В. Караулов, А.Л. Байракова, С.С. Афанасьев, Е.А. Воропаева, Л.И. Кафарская, Ю.В. Несвижский, Б.А. Ефимов, А.Н. Шкопоров, М.С. Афанасьев, О.Г. Гречишникова, С.А. Леваков, В.А. Метельская, Н.С. Матвеевская, Р.Л. Панурина, Е.А. Егорова, В.В. Слободенюк, Е.В. Фандеева // Иммунология. – 2009. – Т. 30 – № 3. – С.165-170.

14. Байракова А.Л. Экспрессия гена TLR-2 как показатель состояния локального иммунитета у женщин с урогенитальной хламидийной инфекцией / А.Л. Байракова, С.С. Афанасьев, Е.А. Воропаева, В.А. Алёшкин, Е.В. Фандеева, М.С. Афанасьев, О.Г. Гречишникова, В.А. Метельская, В.В. Слободенюк // Научное обеспечение противоэпидемической защиты населения: сборник материалов юбилейной Всероссийской науч.-практ. конференции – Нижний-Новгород, 2009. – С.172-173.

15. Топтыгина А.П. Особенности индукции местного иммунного ответа у больных урогенитальным хламидиозом / А.П. Топтыгина, С.С. Афанасьев, А.Л. Байракова, Е.А. Воропаева, В.А. Алёшкин, М.С. Афанасьев, Е.В. Фандеева // Российский иммунологический журнал. – 2009. – Т. 3 (12) – № 2.– С.171-176.

Патент РФ на изобретение

Пат. № 2327995 Российская Федерация. Способ диагностики хронического урогенитального хламидиоза / А.Л. Байракова, В.А. Алешкин, Е.А. Воропаева, С.С.Афанасьев, Л.И. Кафарская, О.М. Кострова, Ю.В. Несвижский, О.В. Рубальский, О.Г.Гречишникова, В.А. Метельская, А.Н. Шкопоров, Б.А. Ефимов, А.А. Куракова, Е.А. Егорова, К.В. Поздняков, М.С. Афанасьев, А.М. Затевалов, Е.В. Хохлова; заявитель и патентообладатель ФГУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – № 2007123483; заявл. 25.06.2007; опубл. 27.06.2008., Бюл. № 18.-3 с.

Список сокращений

Ат	– антитела
ВПЧ	– вирус папилломы человека
ВПГ	– вирус простого герпеса
Вл	– влагалище
ГМ-КСФ	– гранулоцит макрофаг колониестимулирующий фактор
ДК	– дендритные клетки
ИФА	– иммуноферментный анализ
ИППП	– инфекции, передаваемые половым путём
ЛПС	– липополисахарид
НК	– нормальные клетки киллеры
ПЦР	– полимеразная цепная реакция
РИД	– радиальная иммунодиффузия по Манчини
РИФ	– реакция прямой иммунофлуоресценции
РТ	– ретикулярные тельца
Ур	– уретра
УГТ	– урогенитальный тракт
УГХ	– урогенитальный хламидиоз
УПМ	– условно-патогенная микрофлора
Цк	– цервикальный канал
ЦС	– цервикальный секрет
ЦМВ	– цитомегаловирус
ЭТ	– элементарные тельца
CD	– клеточные рецепторы
Ig	– иммуноглобулин
INF- α	– интерферон альфа
INF- γ	– интерферон гамма
IL	– интерлейкин
PRR	– образраспознающие рецепторы
PAMP	– консервативные молекулярные структуры
sIgA	– секреторный иммуноглобулин А
sc	– секреторный компонент
TLR (Toll-like)	– Toll-подобные рецепторы
TNF- α	– фактор некроза опухолей альфа

Байракова Александра Львовна

**РОЛЬ КЛЕТОЧНЫХ TOLL-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ
В ФОРМИРОВАНИИ КОЛОНИЗАЦИОННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ УРОГЕНИ-
ТАЛЬНОГО ТРАКТА ПРИ ХЛАМИДИОЗЕ**

03.00.07 – микробиология
14.00.36 – аллергология и иммунология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Формат 60x84¹/₁₆. Бумага офсетная. Ризография. Тираж 100 экз. Заказ

Отпечатано в ООО «Литера-Принт»
Москва, ул. Прянишникова, д. 19а, стр. 4
Тел./факс: (495) 771-34-77
www.litera-print.ru
E-mail: litera-print@yandex.ru