

Характеристика инфекционного процесса при урогенитальном хламидиозе применением оценки экспрессии генов TLR

А.В. Караулов², С.С. Афанасьев¹, В.А. Алешкин¹, И.В. Евсегнеева², Е.А. Воропаева¹,
А.Л. Байракова¹, М.С. Афанасьев², Ю.В. Несвижский², Е.А. Егорова¹, В.А. Метельская¹,
А.В. Алёшкин¹, О.Г. Гречишникова¹, Е.О. Рубальский¹, Ю.Н. Урбан¹, А.Д. Воропаев¹,
Е.С. Толстова², А.В. Степанов¹

¹ ФБУН Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, 125212, Москва

² ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва

An infectious process characterization during urogenital chlamydiosis by application of the TLR gene expression assessment

A.V. Karaulov², S.S. Afanasiev¹, V.A. Alyoshkin¹, I.V. Evsegneeva², E.A. Voropaeva¹,
A.L. Bairakova¹, M.S. Afanasiev², Y.V. Nesvizhsky², E.A. Egorova¹, V.A. Metelskaya¹,
A.V. Alyoshkin¹, O.G. Grechishnikova¹, E.O. Rubalskii¹, Y.N. Urban¹, A.D. Voropaev¹,
E.S. Tolstova², A.V. Stepanov¹

¹ FSIS Moscow Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology n. a. G.N. Gabrichevsky, 125212, Moscow, Russia;

² SBEI HPE Ministry of Health of the Russian Federation I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, 119991, Moscow, Russia

Аннотация

При хламидийной инфекции различные уровни активации 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 возбудителей ИППП, УПМ и менее выражено при контакте с нормофлорой. Наиболее высокие уровни экспрессии генов TLR соответствуют более высокой степени обсеменённости УПМ Цк, Ур и Вл. Во Вл имеет место экспрессия генов TLR-2 и TLR-4 в ответ на УПМ, а в Цк и Ур - на УПМ и ИППП. Повышение экспрессии TLR-2 и TLR-4 в Ур, Цк и Вл коррелирует с выраженностью клинических проявлений УГХ, зависящих как от возбудителя, так и от патогенности ассоциатов (возбудителей ИППП и УПМ). Установлена диагностическая и прогностическая значимость оценки уровней экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 при урогенитальном хламидиозе у женщин. Оценка уровней экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 в соскобном материале из цервикального канала и уретры больных урогенитальной хламидийной инфекцией позволяет раз-

Summary

TLR are providing a launch of an infectious process when a macroorganism contacts with pathogenic OM and their communities. During the chlamydial infection different levels of TLR-2 and TLR-4 activation depend on qualitative composition of microbial communities present on the mucosa of UGT. Activation of TLR-2 and TLR-4 gene expression is occurring more pronounced in response to pathogens of STI, OM and less pronounced during contact with normoflora. The highest levels of TLR gene expression correspond to the higher OM contamination degree of cervical canal, urethra and vagina. TLR-2 and TLR-4 gene expression is taking place in response to OM in vagina and to OM and STI in cervical canal and urethra. Increase of TLR-2 and TLR-4 expression into urethra, cervical canal, and vagina correlates with severity of clinical manifestations of UGC depending on a pathogen, as well as on pathogenicity of associates (pathogens of STI and OM). Diagnostic and prognostic significance of the TLR-2 and TLR-4 gene expression levels assessment during urogenital chlamydiosis in women is determined. The assessment of levels of TLR-2 and TLR-4 gene expressions in scraping

личить острую и хроническую форму течения хламидиоза (хронический урогенитальный хламидиоз диагностируют при уровнях экспрессии в соскобном материале из уретры ТЛ-рецептора-2 не более 5 единиц и ТЛ-рецептора-4 не более 5 единиц), а также выявить начало хронизации инфекционного процесса. При остром урогенитальном хламидиозе снижение уровней экспрессии генов ТLR-2 и ТLR-4 наряду с прямыми методами детекции возбудителя могут косвенно свидетельствовать об эрадикации хламидий.

Ключевые слова

Урогенитальный хламидиоз (УГХ), толл-подобные рецепторы – TLR- Toll-like receptor, экспрессия генов TLR, инфекции, передаваемые половым путём (ИППП), условно-патогенные микроорганизмы (УПМ), острое течение, хроническое течение.

Открытие участия Toll-подобных рецепторов (TLR) во врожденном иммунном ответе макроорганизма побудили к исследованию этих рецепторов как потенциальных регуляторов ответа организма на хламидии. TLR-4 взаимодействует с липополисахаридом (ЛПС) грамотрицательных бактерий, F-протеином (белком слияния) респираторно-синцитиального вируса и оболочечным белком МТТ вируса (mouse mammary tumor virus). TLR-2 вовлечен в распознавание широкого ряда микробных продуктов, включая пептидогликан грамположительных бактерий, бактериальные липопротеины, липоарабиноманнан микобактериальной клеточной стенки и клеточной стенки дрожжей. Как отдельные члены, так и комбинация этих рецепторов могут создавать не только быструю защиту от патогенов путем активации врожденной иммунной системы, но и распознавать практически все основные типы патогенов: бактерий, вирусов, грибов, простейших и гельминтов [1, 2].

Задачей исследования является установление диагностической значимости экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 в эпителиальных клетках урогенитального тракта (УГТ), хламидиями и условно-патогенными микроорганизмами (УПМ) при урогенитальном хламидиозе (УГХ).

Материалы и методы

Отобранные 100 пациенток с УГХ и 32 клинически здоровых женщин были разбиты на 4 группы: группу I (острый хламидиоз) составила 41 пациентка; группу II (хронический хламидиоз) составляли 29 пациентки; в группу III (группа сравнения, переболевшие) вошли 30 пациенток,

material of the cervix and urethra of patients with urogenital chlamydial infection allows to distinguish chronic and acute forms of chlamydiosis (chronic urogenital chlamydiosis is diagnosed with levels of expression of TL-receptor-2 not more than 5 units and TL-receptor-4 not more than 5 units in scraping material from the urethra), as well as to reveal the beginning of chronization of an infectious process. During acute urogenital chlamydiosis reduction of the TLR-2 and TLR-4 gene expression levels along with direct methods of detecting the pathogen can indirectly indicate an eradication of chlamydia.

Keywords

Urogenital chlamydiosis, toll-like receptors – TLR, TLR gene expression, sexually transmitted infections (STI), opportunistic microorganisms (OM), acute disease, chronic disease.

в анамнезе которых ранее диагностировался УГХ; в группу IV (контрольная, группа сравнения) включили 32 клинически здоровые женщины [3].

Диагноз урогенитальной инфекции хламидийной этиологии устанавливался на основании результатов стандартных клинико-инструментальных методов обследования [4]. Инфицированность возбудителями инфекций, передаваемых половым путём (ИППП): вирусом папилломы человека (ВПЧ), вирусом простого герпеса (ВПГ), цитомегаловирусами (ЦМВ), микоплазмами, уреаплазмами, токсоплазмами, кандидами - устанавливалась общепринятыми методами полимеразной цепной реакции (ПЦР) и иммуноферментным анализом (ИФА), а микоплазмами, уреаплазмами, кандидами - дополнительно культуральным методом (обнаружение возбудителя в исследуемом материале более чем в 104 КОЕ/мл свидетельствовало о наличии выраженного инфекционного процесса, а 103 КОЕ/мл и менее - о носительстве). Микробиологические исследования выполнялись согласно рекомендациям [5, 6].

Для определения экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 [7, 8] в день обследования у женщины получали мазки-соскобы со слизистой УГТ: влагалища (Вл), цервикального канала (Цк) и уретры (Ур) с помощью стерильных урогенитальных зондов, позволяющих получить со слизистой слой поверхностных эпителиальных клеток. Для определения достоверных количественных различий в уровнях экспрессии мРНК TLR-2 и TLR-4 в различных областях УГТ, забирали соскоб от одного и того же больного дважды и сравнивали в парах с выполнением статисти-

ческого анализа. 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 эпителиальных клеток с помощью слайд-планшета (Плива-Лажема, 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 1:5 относительно объема клеточной суспензии. Уровень экспрессии генов TLR определялись ПЦР в реальном времени (РВ), совмещенной с обратной транскрипцией с использованием специфических праймеров к TLR-2 (TLR2-F1 - CCTTCACTCAGGAGCAGCAAGC; TLR2 - R1 TGGAAACGGTGGCACAGGAC) и TLR-4 (TLR4-F6 - GAAGGGGTGCCTCCATTTCAGC; TLR4-R6 - TGCCTGAGCAGGGTCTTCTCCA). Уровни экспрессии мРНК TLR контролировали (стандартизировали) по гену GAPDH (GAPDH-F1 - TGCMTCTGCACCACCAACT; GAPDH-F2 - YGCCTGCTTACCACCTTC) 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 детекции 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. Количество исследуемых кДНК в образцах рассчитывали путем определения пороговых циклов ПЦР в РВ на образцах серийных разведений очищенного ПЦР-продукта в качестве матрицы. Нормализация количества изучаемых транскриптов к общему количеству кДНК в пробе определялась через отношения TLR2/GAPDH и TLR4/GAPDH. Экспрессию генов TLR оценивали в относительных единицах (ОЕ).

Полученные результаты исследований были подвергнуты обработке методами вариационной статистики с вычислением средней арифметиче-

ской и ее стандартной ошибки ($M \pm m$). В случае нормального распределения о достоверности различий средних величин судили по критерию Стьюдента (t). Различия считались достоверными при $p < 0,05$. Статистическую обработку полученных данных проводили с применением программы Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

У 17,1% (7 пациенток) больных I группы выявлена хламидийная моноинфекция, а у 82,9% (34 пациенток) - в сочетании с другими ИППП: уреаплазмами, микоплазмами, ВПЧ, ВПГ, ЦМВ, трихомонадами и токсоплазмами. Выявлено одновременное доминирование двух биоваров *U. urealyticum* Parvo и T-960; 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. Наличие УПМ установлено в I группе в Цк у 61,0% пациенток (12 родов микроорганизмов), в 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. 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 микстинфекциях 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). Регистрировалось формирование 2-3 компонентных ассоциаций патогенов. В IV группе не выявлены ИППП. УПМ выявлялись у двух пациенток в Цк (3 рода микроорганизмов), у трех пациенток - в Ур (3 рода микроорганизмов) и Вл- (4 рода микроорганизмов).

УПМ во Вл (табл. 1) при остром хламидиозе определялись в количестве $8,1 \pm 0,4$ lg КОЕ/мл, при обострении хронического хламидиоза - $4,6 \pm 1,0$ lg КОЕ/мл, у переболевших - $2,5 \pm 1,2$ lg КОЕ/мл, у клинически здоровых пациентов - $2,74 \pm 0,94$ lg КОЕ/мл. Уровни выявления УПМ при остром хламидиозе достоверно (при $p < 0,05$) отличались

Таблица 1. Уровни TLR в зависимости от микробиологической и морфологической характеристик биотопа УГТ при УГХ женщин

Группы	Отдел УГТ	Лейкоциты	УПМ, Lg КОЕ/мл	TLR-2	TLR-4
		1	2	3	4
I	Цк	42,8±6,2	3,7±1,56	57,0±9,95	34,8±1,72
	Ур	32,4±4,6	4,2±0,51	37,3±7,02	16,28±2,82
	Вл	18,2±2,1	8,1±0,37	37,72±2,4	16,68±2,36
II	Цк	14,8±1,4	3,8±0,27	5,71±1,07	8,01±1,08
	Ур	6,7±1,4	2,3±0,5	3,45±1,46	2,0±0,83
	Вл	12,5±1,94	4,58±1,01	35,3±6,74	14,37±1,96
III	Цк	8,1±1,8	1,36±0,37	18,67±2,39	13,5±0,93
	Ур	5,2±1,9	2,5±0,83	13,46±1,8	9,0±1,98
	Вл	8,6±1,7	2,5±1,2	31,8±3,3	12,34±2,26
IV	Цк	4,0±1,52	1,94±0,73	17,02±2,1	13,8±1,9
	Ур	3,3±1,7	1,32±0,37	11,9±1,8	7,8±1,03
	Вл	5,1±2,0	2,74±0,94	36,82±3,56	12,1±1,63

Примечания: Цк- цервикальный канал; Ур- уретра; Вл- влагалище; УПМ- условно-патогенные микробы; одновременное поражение хламидийной инвазией Цк и Ур было диагностировано у 68 человек из общего числа обследованных групп I и II и у 2 человек обнаружено отдельное поражение Ур и Цк.

от таковых других сравниваемых групп пациентов. По частоте выявляемости УПМ во Вл достоверные различия выявлены между I и II группами ($\chi^2=7,540$, $p<0,01$), 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. 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. 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; интенсивность колонизации 6,5±1,0 lg КОЕ/г) по сравнению с IV группой (выявлялись у 100% пациентов; интенсивность

колонизации 7,5±1,5 lg КОЕ/г), также достоверно различие по сравнению со II ($\chi^2= 4,272$, $p<0,01$; выявлялись у 72,10% пациентов; интенсивность колонизации 6,2±1,0 lg КОЕ/г), с III группами ($\chi^2= 6,200$, $p<0,01$; выявлялись у 87,00% пациентов; интенсивность колонизации 7,2±0,6 lg КОЕ/г). Бифидобактерии не выявлялись: достоверно различие по сравнению с III ($\chi^2=9,790$, $p<0,001$; выявлялись у 26,6% пациентов; интенсивность колонизации 5,2±0,7 lg КОЕ/г) и IV группами ($\chi^2=17,580$, $p<0,001$; выявлялись у 50,0% пациентов; интенсивность колонизации 6,1±0,9 lg КОЕ/г), а со II группой различия не достоверны). У обследованных II группы имело место достоверное снижение ($\chi^2=7,880$, $p<0,01$) количества лактобацилл по сравнению с IV группой, а с группой III- не достоверны. Бифидобактерии выявлялись у двух пациентов (интенсивность колонизации 3,5±1,0 lg КОЕ/г; различия достоверны по сравнению с III- $\chi^2=7,364$, $p<0,01$ и IV группами $\chi^2=7,600$, $p<0,001$, а с группой III- не достоверны). По содержанию лактобацилл и бифидобактерий различия между III и IV группами не достоверны. Во Вл у II группы пациенток выявлена обратная корреляционная зависимость между УПМ и лактобациллами ($r_s=-0,7$). Не установлено корреляционной зависимости показателей уровней лактобацилл и бифидобактерий (нормофлора) с показателями уровней экспрессии генов TLR.

По частоте выявляемости УПМ (табл. 1) 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 (табл. 1) 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.

Пациентов I и II групп разбили на четыре этиологические подгруппы (табл. 2) 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 урогенитального тракта (УГТ) не определялись УПМ. В четвертую этиологическую подгруппу больных включены пациентки, у которых одновременно определялось

Таблица 2. Нарушение микробиотопа различных отделов УГТ и уровень экспрессии генов TLR (OE) у больных с различными этиологическими подгруппами инфекционного процесса.

Этиологические подгруппы инфекционного процесса	TLR-2			TLR-4		
	Цервикальный канал	Уретра	Влагалище	Цервикальный канал	Уретра	Влагалище
Первая						
Хламидийная инфекция как монокультура	36,3±4,1/ 7,2±1,9	28,0±3,9/ 3,5±0,4	36,8±9,1/ 25,3±5,1	16,3±1,8/ 2,5±0,2	16,59±4,3/ 6,3±1,3	27,2±3,5/ 36,2±16,6
n(I/II)= 7/14						
Вторая						
Хламидийная инфекция в сочетании с УПМ	67,9±14,2/ 13,0±3,0	19,6±4,5/ 6,2±4,3	34,11±2,5/ 31,8±2,6	45,6±11,9/ 24,2±6,1	28,4±5,2/ 12,3±4,6	35,4±6,6/ 18,4±4,5
n(I/II)= 16/18						
Третья						
Хламидийная инфекция в сочетании с ИППП	51,8±8,3/ 8,6±2,71	20,81±3,6/ 5,9±2,6	28,0±3,91/ 30,3±3,8	27,2±6,12/ 7,2±1,6	16,7±3,5/ 12,41±8,4	24,3±1,6/ 17,9±3,5
n(I/II)= 22/14						
Четвёртая						
Хламидийная инфекция в сочетании с ИППП и УПМ	94,8±6,11/ 10,6±4,4	30,7±4,5/ 11,8±6,7	33,4±4,6/ 21,49±6,7	34,2±6,3/ 9,4±6,4	12,6±2,7/ 12,3±4,63	46,3±15,2/ 16,7±8,2
n(I/II)= 34/12						

Примечания: УПМ- условно-патогенные микробы; в числителе средние значения показателей экспрессии генов TLR для I группы, в знаменателе - для II группы; ИППП- инфекции, передаваемые половым путём; n- число пациентов в группе.

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 и 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). 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. Клинические проявления микстинфекции в большинстве случаев ассоциированы со значительным повышением экспрессии TLR-2 и менее выраженным - TLR-4. Данные сравнения экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 в Цк и Ур при различных формах хламидийно-ассоциированной инфекции пациенток I группы выявило, что достоверно высокое различие наблюдалось при совокупном воздействии бактериальной флоры и ИППП (подгруппа 4), по сравнению с показателями других ассоциаций при $p < 0,05$. Уровень экспрессии гена TLR-2 в Цк и Ур у пациенток 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 пациенток третьей этиологической подгруппы - $8,6 \pm 2,71$ ОЕ и $5,9 \pm 2,6$ ОЕ, соответственно, и у пациенток 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 Вл 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. При сопоставлении уровней экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 в I, II, III и IV группах с качественной характеристикой микрофлоры регистрировались более высокие уровни экспрессии генов TLR-4 в ответ на грамотрицательные микроорганизмы: кишечную палочку, клебсиеллы, энтеробактеры и др. Повышение уровня экспрессии TLR-4 может служить неспецифическим маркером воспаления.

TLR обеспечивают запуск инфекционного процесса при контакте макроорганизма с патогенными и УПМ и их ассоциациями. При хламидийной инфекции различные уровни активации 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 возбудителей ИППП, УПМ и менее выражено при контакте с нормофлорой. Наиболее высокие уровни экспрессии генов TLR соответствуют более высокой степени обсеменённости УПМ Цк, Ур и Вл. Во Вл имеет место экспрессия генов TLR-2 и TLR-4 в ответ на УПМ, а в Цк и Ур - на УПМ и ИППП. Повышение экспрессии TLR-2 и TLR-4 в Ур, Цк и Вл коррелирует с выраженностью клинических проявлений УГХ, зависящих как от возбудителя, так и от патогенности ассоциатов (возбудителей ИППП и УПМ), что позволяет использовать данный показатель для определения степени активности клеточного звена иммунитета и воспалительного ответа. Установлено достоверное угнетение выраженности воспалительной реакции слизистой генитального тракта женщин при остром и обострении хронического хламидиоза. При остром УГХ наблюдается более высокий всплеск экспрессии TLR-2 и TLR-4 в Цк и Ур, а при хроническом УГХ экспрессия генов TLR-2 и TLR-4 находится на уровне, намного ниже нормы. Естественная или приобретённая супрессия генов TLR-2 и TLR-4 обуславливает хроническое течение УГХ. Низкие уровни TLR-2 и TLR-4 могут свидетельствовать о хроническом течении инфекции или указывать на возможность начала хронизации инфекционного процесса. Хронический уrogenитальный хламидиоз диагностируют при уровнях экспрессии в соскобном материале из уретры TL-

рецептора-2 не более 5 единиц и TLR-рецептора-4 не более 5 единиц. У половины женщин с хроническим рецидивирующим течением УГХ наблюдается снижение экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 (в полтора-два раза ниже значений у клинически здоровых пациентов), сопровождаемое уменьше-

нием лейкоцитарной реакции. Об эрадикации возбудителя можно судить по изменению уровня TLR-2 и TLR-4 (возвращение к физиологической норме). Усиление защитной реакции в очаге поражения всегда сопровождается повышенной активацией TLR-2 и TLR-4.

Литература

1. Караулов А.В., Афанасьев С.С., Алёшкин В.А. и др. Хламидийная инфекция. Новые аспекты патогенеза, иммунологии, верификации и лечения инфекции у человека и приматов. М.: Изд-во Первого МГМУ им. И.М. Сеченова; 2012, 256 с.
2. Сергеев А. Ю., Сергеев Ю.В. Факторы резистентности и иммунитет при грибковых инфекциях кожи и слизистых оболочек. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2004; 1: 6-14.
3. Воропаева Е.А., Караулов А.В., Байракова А.Л. и др. Связь уровней экспрессии генов TLR-2 и TLR-4 с изменениями микробиоценоза урогенитального тракта при урогенитальном хламидиозе у женщин. Иммунопатология, аллергол., инфектол. 2008; 2: 68-76.
4. Савичева А.М., Башмакова М.А., Кошелева Н.Г. Хламидийная инфекция в акушерстве и гинекологии. Методическое пособие. Диагностика, клиника, лечение. Санкт-Петербург: «Издательство Санкт-Петербурга»; 2002, 48 с.
5. Зверев В.В., Несвижский Ю.В., Воропаева Е.А. и др. Микробиология и гуморальный иммунитет слизистых открытых полостей человека в норме и при патологических состояниях. Учебное пособие для системы послевузовского профессионального образования врачей. УМО-42 от 30.01.08. Астрахань-Москва; 2011, 80 с.
6. Воропаева Е.А., Караулов А.В., Афанасьев С.С. и др. Оценка микробиоценоза влагалища при акушерской и гинекологической патологии (новая медицинская технология). Серия АА. № 0001997. ФС № 2009/187 от 17.07.2009. Москва-Астрахань; 2012, 50 с.
7. Новиков, Д. К., Сергеев Ю.В. Иммунодиагностика: неиспользуемые возможности и достоверность получаемой информации. Иммунопатология, аллергол., инфектол. 1999; 1: 8-14.
8. Байракова А.Л., Алёшкин В.А., Воропаева Е.А. и др. Способ диагностики хронического урогенитального хламидиоза. Патент РФ № 2327995 РФ, 2008.

Сведения об авторах:

Караулов Александр Викторович, Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, кафедра клинической аллергологии и иммунологии, член-корреспондент РАМН, профессор, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой клинической аллергологии и иммунологии, тел. 8-903-515-71-36, E-mail: drkaraulov@mail.ru;

Афанасьев Станислав Степанович, Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, заслуженный деятель науки РФ, профессор, доктор медицинских наук, заместитель директора, тел. 8-903-667-20-68, E-mail: afanasievss409.4@bk.ru;

Алешкин Владимир Андрианович, Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, заслуженный деятель науки РФ, профессор, доктор биологических наук, директор, тел. 8-985-998-01-22, E-mail: info@gabrich.com.

Поступила 14.01.2016 г.