

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА  
«ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ ТА ІМУНОЛОГІЇ ІМ. І. І. МЕЧНИКОВА  
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ»**

**ГРУЗЕВСЬКИЙ ОЛЕКСАНДР АНАТОЛІЙОВИЧ**

УДК 579.262/.264:618.15-022.7:612.017.11:577.175.6



**ВПЛИВ МІСЦЕВИХ ФАКТОРІВ КОЛОНІЗАЦІЙНОЇ  
РЕЗИСТЕНТНОСТІ, ІМУННОГО СТАТУСУ ТА СТАНУ  
НЕЙРОГОРМОНАЛЬНОЇ РЕГУЛЯЦІЇ НА РОЗВИТОК ТА  
ПРОГРЕСУВАННЯ БАКТЕРІАЛЬНОГО ВАГІНОЗУ**

03.00.07 - мікробіологія

**АВТОРЕФЕРАТ**  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
доктора медичних наук

Харків – 2021

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Одеському національному медичному університеті  
МОЗ України

**Науковий консультант:** доктор медичних наук, професор **Мінухін Валерій Володимирович**, Державна установа «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України», директор;

**Офіційні опоненти:** доктор медичних наук, професор **Савінова Олена Михайлівна**, Харківська медична академія післядипломної освіти МОЗ України, професор кафедри клінічної імунології та мікробіології;

доктор медичних наук, професор **Климнюк Сергій Іванович**, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології;

доктор медичних наук **Джорасва Світлана Карьягдівна**, Державна установа «Інститут дерматології та венерології Національної академії медичних наук України», завідувач лабораторно-експериментальним відділом.

Захист дисертації відбудеться « 07 » травня 2021 р. об 11 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.618.01 при Державній установі «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України» за адресою: 61057, м. Харків, вул. Пушкінська 14-16.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Державної установи «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України» за адресою: 61057, м. Харків, вул. Пушкінська 14-16.

Автореферат розісланий « 06 » квітня 2021 року.

В.о. вченого секретаря  
спеціалізованої вченої ради Д 64.618.01,  
д. мед. н.



А. Ю. Волянський

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Поширеність запальних захворювань жіночих статевих органів невпинно зростає та складає від 30 % серед стаціонарних до 60-65 % серед амбулаторних хворих (Наумкина Е. В., 2009; Nasioudis D. et al., 2017). Неспецифічні запальні захворювання внутрішніх жіночих статевих органів посідають одне з головних місць у структурі гінекологічної патології та складають до 28,0 % у структурі гінекологічних стаціонарів, які надають невідкладну допомогу (van de Wijgert J. H. M. & Jespers V., 2017; Kenyon C.R. & Osbak K., 2014; Мавзютов А. Р., 2007). Попри широке застосування антибактеріальних препаратів, протизапальної та імунокоригуючої терапії, фізіотерапевтичних маніпуляцій, запальні захворювання матки та придатків у 70,0 % випадків набувають хронічного перебігу (Олина А. А., 2008; Venugopal S. et al., 2017; Javed A. et al., 2019).

Усі ці процеси відбувалися і відбуваються на тлі вельми помітного погіршення репродуктивного здоров'я жінок, про що свідчать численні публікації (Мавров Е. В., 2002; Олина А. А., 2008; Nasioudis D. et al., 2017). Дослідженнями останніх років показано, що інфекційно-запальні процеси піхви беруть участь у розвитку акушерсько-гінекологічної патології, яка визначає не тільки здоров'я матері, а й плоду (Redelinguys M. J. et al., 2015; Li X. D. et al., 2015; Venugopal S. et al., 2017). На думку Р.А. Дмитрієва, сумарна кількість осіб, які захворіли, щорічно в світі становить сотні мільйонів, а лабораторних досліджень проводиться щонайменш в 2-3 рази більше (Дмитриев Р. А., 2003).

Поряд з такими інфекціями, що передаються статевим шляхом, як сифіліс, гонорея, трихомоніаз, хламідіоз, пахова лімфогранульома, шанкроїд, аногенітальна герпетична і папіломовірусна інфекції, включеними в розділ «Інфекції, що передаються статевим шляхом», відповідно до Міжнародної класифікації хвороб і проблем, пов'язаних зі здоров'ям, десятого перегляду (МКХ-10), зростаюче клінічне значення набувають умовно-патогенні мікроорганізми мікробіоти урогенітального тракту (Mark K. S. et al., 2020; Javed A. et al., 2019; Kenyon C. & Osbak K., 2015). Факультативно-анаеробні та облигатно-анаеробні умовно-патогенні мікроорганізми, складові резидентної мікробіоти урогенітального тракту, при дії певних екзо- і ендогенних факторів ризику можуть виявляти патогенні потенції та ставати мікроорганізмами, що входять до складу етіологічної структури інфекційно-запального процесу (Machado A. & Cerca N., 2015; Larsen J. M., 2017). В асоціації патогенність і вірулентність мікроорганізмів посилюється, і визначити, який мікроорганізм на даному етапі розвитку запалення відіграє провідну роль, практично неможливо; відповідно – неможливо виявити специфічні клінічні симптоми захворювання і визначити провідний інфекційний агент (Machado A. & Cerca N., 2015; Sobel J. D. et al., 2019; Vestby L. K. et al., 2020).

Зміни в складі мікробіоценозу піхви клінічно можуть проявлятися різними нозологічними формами захворювань: бактеріальним вагінозом (БВ), неспецифічним вагінітом і вагінальним кандидозом (Javed A. et al., 2019; Reid G., 2018; Unemo M, et al., 2017). Терміном БВ позначають комплекс клініко-

лабораторних ознак, що характеризують стан здоров'я нижніх відділів статевої системи жіночого організму. Це загальний інфекційний незапальний синдром, пов'язаний з дисбіозом вагінального біотопу, що супроводжується надмірним вмістом облігатно- і факультативно-анаеробних умовно патогенних мікроорганізмів і різким зниженням вмісту або відсутністю *Lactobacillus* spp. у виділеннях піхви (Reid G., 2018; Sobel J.D. et al., 2018; Nasioudis D. et al., 2017).

БВ є одним з найбільш поширених видів інфекційної патології статевих органів жінок переважно у репродуктивному віці (Javed A. et al., 2019). Частка його серед всіх вульвовагінальних інфекцій нижнього відділу статевого тракту жінок становить від 12 % до 80 % (Kenyon C. R. & Osbak K., 2014; Kusters J. G. et al., 2015; Martin D. H. & Mrazek J. M., 2016). Частота БВ за останнє десятиліття зросла в два рази і становить, за даними різних авторів, від 26 % до 40-45 % (Mark K. S., et al., 2020; Sobel J. D. et al., 2019).

До теперішнього часу переконливо доведена провідна роль у виникненні БВ облігатно-анаеробних бактерій, у зв'язку з чим він розглядається як полімікробний вагінальний синдром і характеризується не тільки вагінальними виділеннями, а й – ураженням шийки матки, тіла матки, її придатків, є причиною патології вагітності та пологів (Vestby L. K. et al., 2020; Muzny C. A. et al., 2019; Li X. D. et al., 2015; Nasioudis D. et al., 2017).

Етіологічна структура збудників інфекційних процесів в останнє десятиліття істотно змінилася, що пов'язано з постійною еволюцією бактерій і залученням до патологічних процесів умовно патогенних мікроорганізмів (Coudray M. S. & Madhivanan P., 2020; Buchta V., 2018). У зв'язку з подвійною природою, умовно-патогенні мікроорганізми як коменсали присутні в складі нормальної мікрофлори здорових людей, а також реєструються як етіопатогенні при різних місцевих і генералізованих процесах. У клініцистів досить часто виникають складнощі при оцінці результатів обстеження, визначення доцільності призначення лікарських препаратів і їх вибору (Vestby L. K. et al., 2020; Nasioudis D. et al., 2017; Mark K. S. et al., 2020).

Хронічні запальні процеси внутрішніх статевих органів у жінок слід розглядати як загальне мультисистемне захворювання, що супроводжується залученням до патологічного процесу всіх ланок нейроендокринної системи, центральної і вегетативної нервової системи, серцево-судинної, сечовидільної, імунної, системи гемостазу, обміну речовин (Reid G., 2018; Muzny C. A. et al., 2019). Це призводить до порушення специфічних функцій жіночого організму (менструальної, статевої, репродуктивної), виникнення синдрому тазових болів і генералізації процесу (Vestby L. K. et al., 2020; Nasioudis D. et al., 2017; Muzny C.A. et al., 2019).

Отже, визначення впливу порушень місцевих факторів колонізаційної резистентності, імунного статусу та нейрогормональної регуляції на біоценоз піхви сприятиме підвищенню ефективності діагностики та прогнозування розвитку бактеріального вагінозу.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота була виконана на кафедрі мікробіології, вірусології та

імунології Одеського національного медичного університету і є фрагментом науково-дослідної роботи «Мультиплексне визначення впливу загальних та місцевих регулюючих факторів на мікробіоценоз піхви» (№ держреєстрації 0115U006643), в якій дисертант був керівником. Тема і план дисертації затверджені Вченою радою Одеського Національного медичного університету МОЗ України (протокол № 7 від 14.04.2016 р.).

**Мета і завдання дослідження.** *Мета* – підвищити ефективність діагностики та прогнозування розвитку бактеріального вагінозу шляхом визначення впливу нейрогормональної регуляції, імунного статусу та місцевих факторів колонізаційної резистентності на біоценоз піхви.

**Завдання дослідження:**

1. Вивчити якісний та кількісний склад біоценозу піхви за умов відсутності ознак інфекційно-запального процесу.

2. Встановити критерії якісного та кількісного складу біоценозу піхви та системних факторів при дисбіозі I ступеня у порівнянні з нормоценозом.

3. Встановити критерії якісного та кількісного складу біоценозу піхви та системних факторів при дисбіозі II ступеня у порівнянні з дисбіозом I ступеня та нормоценозом.

4. Встановити критерії якісного та кількісного складу біоценозу піхви та системних факторів бактеріального вагінозу та їх взаємозалежність.

5. Вивчити вікову залежність показників при нормоценозі та дисбіозі I та II ступеня; виявити залежність показників мікробіоти від віку.

6. Вивчити стан гуморальної та клітинної ланок місцевої колоніальної резистентності; визначити основні фактори, що визначають колоніальну резистентність при нормоценозі, дисбіозі I та II ступеня.

7. Вивчити стан гуморальної та клітинної ланок імунної системи організму; визначити основні фактори, що впливають на розвиток та прогресування дисбіозу.

8. Вивчити стан нейрогормональних регуляторних систем організму; визначити основні фактори, що впливають на розвиток та прогресування дисбіозу.

9. Шляхом будування логістичних моделей регресії оцінити ризик розвитку та ступеня тяжкості дисбіозу за показником нормобіоти та індексом умовно-патогенної мікрофлори, визначити основні прогностичні показники імунної системи та нейрогормональної регуляції.

*Об'єкт дослідження:* зіскрібки слизової оболонки вагіни, вагінальний вміст, кров осіб, які звернулися до гінеколога для профілактичного огляду або з приводу скарг на дискомфорт в області геніталій різного ступеня прояву.

*Предмет дослідження:* вагінальний біоценоз, місцеві фактори колоніальної резистентності піхви, імунний статус та стан нейрогормональної регуляції.

**Методи дослідження:** бібліосемантичний (вивчення фахової сучасної міжнародної літератури з досліджуваної проблеми); загально-клінічні (аналіз скарг хворих, даних анамнезу хвороби, результатів клінічного обстеження та

особливостей перебігу хронічних запальних процесів жіночої статеві сфери); мікроскопічні (дослідження морфологічних і тинкторіальних властивостей бактерій в забарвлених за Грамом, Романовським-Гімзою препаратах; визначення «ключових клітин» за допомогою світлового мікроскопа); фізико-хімічні: імунотурбідиметричний метод визначення компонентів системи комплементу: С3 та С4, вивчення рН вагінального секрету спектрофотометричне визначення та реєстрація результатів ІФА; імунологічні (визначення фагоцитарної нейтрофілів крові людини та вагінального секрету, індексу ФАЛ, рівнів імуноглобулінів G, G2, M, A, sIgA і лізоциму в крові й вагінальному секреті, вивчення фракцій лімфоцитів (CD3, CD4, CD8, CD4/CD8, CD22); імунобіологічні (вивчення рівнів гормонів в крові (естрадіол-2, прогестерон, тестостерон, кортизол, пролактин, тироксин, трийодтиронин), визначення концентрації гамма-інтерферону, інтерлейкінів: IL1 $\beta$ , IL2 IL4 IL6 IL8 IL10, інших цитокінів: TNF $\alpha$ , TGF-1 $\beta$ , в крові та вагінальному секреті); молекулярно-генетичні (вивчення видового складу представників вагінального мікробіоценозу, ідентифікація вагінальної мікрофлори та визначення кількості геном-еквівалентів за допомогою Real-time ПЛР); аналітичні та медико-статистичні.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше визначено та конкретизовано якісні та кількісні характеристики нормоценозу та бактеріального дисбіозу. Показано, що за відсутності ознак інфекційно-запального процесу при індексі умовно патогенних мікроорганізмів (ІУПМ) $\leq$ -3 lg ГЕ/зразок у жінок мав місце нормоценоз із переважанням серед факультативно анаеробної флори ентеробактерій (98,1%), *Corynebacterium* spp. (81,1 %) серед облигатно анаеробної – *Mobiluncus* spp. + та *Eubacterium* spp. (69,8 %). При дисбіозі I ступеня (ІУПМ від -3 lg ГЕ/зразок до -1 lg ГЕ/зразок) спостерігалось зниження загальної бактеріальної маси (ЗБМ) (на 1,8% у порівнянні з нормоценозом;  $p < 0,05$ ) і кількості лактобактерій (ЛБ) (на 8,0%;  $p < 0,05$ ) на тлі збільшення частоти та вмісту *Corynebacterium* spp. (87,5 %), анаеробів, серед яких переважали *Mobiluncus* spp. та *Eubacterium* spp. (79,7 %); Показник нормобіоти (ПНБ) був більшим при дисбіозі I ступеня у порівнянні з нормоценозом. З'явилися представники видів *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp. і *Mycoplasma hominis*+*genitalium*. При дисбіозі II ступеня (ІУПМ $>$ -1 lg ГЕ/зразок) загальна бактеріальна маса (ЗБМ) була нижче на 12,5 % у порівнянні з нормоценозом та на 10,9 % – з дисбіозом I ступеня. Кількість ЛБ була меншою на 35,1 % від нормоценозу і на 29,4 % від дисбіозу I ступеня. Серед факультативних анаеробів виявлено *Enterobacterium* spp., *Streptococcus* spp. і *Staphylococcus* spp. у кількостях понад норму. Виявлено всі види облигатних анаеробів у кількостях, які на декілька порядків перевищують норму, а також представників видів *Sneathia* spp. / *Leptotrichia* spp. / *Fusobacterium* spp., які при нормоценозі не виявляються. Також виявлені нехарактерні для нормоценозу мікоплазми.

Вперше комплексно охарактеризовані зміни у місцевій колоніальній резистентності піхви. Доведено, що гуморальна ланка місцевої колоніальної

резистентності активувалась при дисбіозі I ступеня та пригнічувалася на тлі БВ, коли вкрай низькі рівні у вагінальному секреті секреторного IgA та лізоциму вказували на глибокий локальний неспецифічний імунодефіцит. Різке зниження ФАЛ, індексу ФАЛ, імунних комплексів та компонентів комплементу С3 і С4 при БВ вказувало на розвиток комбінованого локального імунодефіциту.

Вперше показані закономірності функціонування імунної системи при БВ. При дисбіозі, аж до БВ, на тлі загального лімфоцитозу мало місце поступове зменшення у крові вмісту CD3- та CD4-лімфоцитів, що вказувало на прогресування Т-клітинного імунодефіциту. Виявлена залежність ступеня прогресування дисбіозу від активації NK-клітин (CD16) та В-лімфоцитів (CD22). За умов наростання тяжкості дисбіозу показано формування недостатності фагоцитозу, особливо при БВ. Встановлено, що рівень всіх цитокінів у крові збільшувався з поглибленням ступеня дисбіозу, та сягав максимуму при БВ. Також встановлено, що визначальну роль відігравали показники рівню у крові комплементу, регуляторних та прозапальних цитокінів. Загальний аналіз зв'язку показників імунної системи у крові виявив розвиток системного комбінованого імунодефіциту та вихід найбільш патогенних мікроорганізмів з-під контролю імунної системи.

Вперше дана характеристика порушень нейрогормональної регуляції при БВ: реакція гормональних систем при дисбіозі характеризувалася розвитком первинного гіпергонадотропного гіпогонадизму з гіпоестрогенією та гіперандрогенією; «дистрес-синдрому» (гіпокортицизм та гіперпролактинемія) та функціонального дистіреозу. Доведено, що рівні у крові КР, ФСГ та E<sub>2</sub> віддзеркалювали ступінь дисбіозу.

Одержано нові дані щодо взаємовпливу показників мікробного біоценозу, місцевої колоніальної резистентності, імунної системи та системи нейрогормональної регуляції, які відображали існування єдиної дизрегуляторної патологічної гормонально-імунної системи, що формується в умовах вагінального дисбіозу та призводить до розвитку БВ.

**Практичне значення одержаних результатів.** Розроблений та захищений патентом спосіб визначення ступеня впливу місцеві факторів колонізаційної резистентності на біоценоз піхви (патент України на корисну модель № 139407), який є основою нового підходу до діагностики вагінальних дисбіозів. Результати досліджень дозволили створити чітку характеристику нормоценозу, обґрунтовують доцільність застосування запропонованих параметрів для діагностики бактеріальних дисбіозів, що, у свою чергу, прокладає шлях до покращення лікувальної корекції вагінальних дисбіозів.

Побудовані логістичної моделі регресії за ПНБ та ІУПМ, які показали що ризик розвитку дисбіозу за ПНБ статистично значимо підвищується при підвищенні рівня в крові IL2, TNF $\alpha$ , на кожну одиницю виміру (нг/мл), а за показником ІУПМ - статистично значимо знижується при підвищенні рівня у вагінальному секреті IL10 та при підвищенні вмісту у крові IL4 на кожну одиницю (пг/мл).

Побудовані лінійні нейромережеві моделі для визначення ступеня

тяжкості дисбіозу за показником ПНБ, до якої увійшли рівні у вагінальному секреті компоненту комплементу С4 та  $\gamma$ -INF, а також вміст у крові ЦК та TNF $\alpha$  та за показником ІУПМ, до якої увійшли рівні у вагінальному секреті секреторного IgA, лізоциму,  $\gamma$ -INF і TGF1 $\beta$ , а також вміст у крові компоненту комплементу С4 і IL8.

Створено інтерфейси експертних систем прогнозування ступеня тяжкості дисбіозу за ПНБ та ІУПМ, що дає змогу за прогнозувати ризики розвитку вагінальних дисбіозів з високим ступенем вірогідності і, отже, коригувати діагностичний і, в подальшому лікувальний процес.

Основні матеріали і положення дисертаційної роботи впроваджено в науковий і навчальний процес на кафедрах мікробіології, вірусології та імунології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України (акт впровадження від 26.10.2020 р.); Української Медичної стоматологічної академії МОЗ України (акт впровадження від 25.10.2020 р.); Вінницького Національного медичного університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України (акт впровадження від 15.12.2020 р.), а також у клініко-діагностичний процес ДУ «Науково-дослідний протичумний інститут імені І. І. Мечникова МОЗ України (акт впровадження від 12.10.2020 р.), ДП «Український Науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України» (акт впровадження від 07.10.2020 р.)». Матеріали Інформаційних листів впроваджені до наукового і навчального процесу на кафедрі мікробіології, вірусології та імунології Української Медичної стоматологічної академії МОЗ України (акт впровадження від 26.02.2021 р.); на кафедрі мікробіології та вірусології Буковинського державного медичного університету (акт впровадження від 25.02.2021 р.)

**Особистий внесок здобувача.** Дисертантом самостійно обрано напрям, здійснено вибір теми дисертації, сформовано наукову концепцію та обґрунтовано науковий напрямок досліджень; проведений інформаційний і патентний пошук, аналіз наукової літератури з досліджуваної проблеми та узагальнення даних наукової літератури з обраного напрямку. Здобувач особисто визначив методологічні підходи до дослідження мікробної заселеності відповідних біотопів жіночого організму. Молекулярно-генетичні дослідження було проведено автором у відділі молекулярно-генетичних досліджень Центральної науково-дослідної лабораторії Донецького національного медичного університету ім. М. Горького МОЗ України при консультативній допомозі д.мед.н., професора Зябліцева С. В. Дисертантом особисто отримано, проаналізовано, узагальнено результати мікроскопічних, біохімічних, імунологічних досліджень, визначено основні положення дисертації, надано практичні рекомендації та сформульовані висновки. Оформлення матеріалів дисертації та статистична обробка результатів клінічних та генетичних досліджень виконана здобувачем самостійно. Математичні моделі розвитку БВ були розроблені дисертантом при консультативній допомозі доцента кафедри медичної та біологічної фізики Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця МОЗ України, к.фіз.-мат.н., доцента Гур'янова В.Г.



У наукових працях, опублікованих за матеріалами дисертації в співавторстві здобувачу належала провідна роль у формулюванні мети, завдань, методології дослідження, статистичній обробці та аналізі результатів. Особистий внесок автора в публікованих зі співавторами працях наводиться в тексті дисертації та авторефераті у списку публікацій за темою дисертації. Автором самостійно розроблені 2 інформаційних листа та патент на корисну модель (№139407). Наукові положення і результати, які виносилися на захист у кандидатській дисертації, не виносяться на захист здобувачем наукового ступеня доктора медичних наук у його докторській дисертації.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертаційної роботи були висвітлені та викладені у формі доповідей та тез на міжнародних науково-практичних конференціях: «Медичні та фармацевтичні науки: історія, сучасний стан та перспективи досліджень» (м. Одеса, 16-17 жовтня 2020 р.); «Вітчизняна та світова медицина: вимоги сьогодення» (м. Дніпро, 9-10 жовтня 2020 р.); «Медичні науки: історія розвитку, сучасний стан та перспективи досліджень» (м. Львів, 25-26 вересня 2020 р.); «Проблеми та стан розвитку медичної науки та практики в Україні» (м. Дніпро, 12-13 червня 2020 р.); «Досягнення медичної науки як чинник стабільності розвитку медичної практики» (м. Дніпро, 13-14 березня 2020 р.); «Особливості модернізації предмету досліджень представників медичних наук» (м. Київ, 5-6 червня 2020 р.); «Мікробіологічні читання пам'яті професора Ю. Л. Волянського» (м. Харків, 12 лютого 2020 р.); IV Міжнародній науково-практичній конференції “Innovative development of science and education” (м. Афіни, Греція, 21-23 червня 2020 р.); X Міжнародній науково-практичній конференції “Dynamics of the development of World Science” (м. Ванкувер, Канада, 10-12 червня 2020); «Актуальні проблеми мікробіології, вірусології та імунології» (м. Київ, 5 листопада 2019); «Сучасні проблеми світової медицини та її роль у забезпеченні здоров'я світового співтовариства» (м. Одеса, 15-16 лютого 2019 р.); «Актуальні досягнення медичних наукових досліджень в Україні та країнах ближнього зарубіжжя» (м. Київ, 4-5 жовтня 2019 р.); «Ключові питання наукових досліджень у сфері медицини у ХХІ столітті» (м. Дніпро, 14-15 квітня 2017 р.); «Медична наука та практика на сучасному історичному етапі» (м. Київ, 5-6 травня 2017 р.); «Сучасний вимір медичної науки та практики» (м. Дніпро, 12-13 травня 2017 р.); Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції XV з'їзду Товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського (м. Одеса, 11-15 вересня 2017 р.); «Актуальні питання сучасної медицини: досвід Польщі та України» (м. Люблін, Польща, 20-21 жовтня 2017 р.); «Медична наука та практика: актуальні питання взаємодії» ГО «Київський медичний науковий центр» (м. Київ, 4-5 вересня 2015 р.); «Вітчизняна та світова медицина: вимоги сьогодення» (м. Дніпро, 9-10 жовтня 2015 р.).

**Публікації.** За результатами дисертаційної роботи опубліковано 48 наукових праць (26 – одноосібно), з них 26 статей у наукових фахових виданнях (10 – у закордонних наукових фахових виданнях), 1 патент на

корисну модель, 2 інформаційних листа, 19 тез у матеріалах науково-практичних конференцій, в тому числі іноземних.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 340 сторінках друкованого тексту, містить вступ, огляд літератури, опис матеріалів і методів дослідження, сім розділів власних досліджень з узагальненням їх результатів, висновки, практичні рекомендації та список використаних першоджерел (містить 296 найменувань, з яких 161 латиницею, 135 кирилицею). Дисертаційна робота містить 50 таблиць, 47 рисунків, 4 додатки.

## **ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**В огляді літератури** висвітлені сучасні погляди на проблему формування бактеріальних вагінальних дисбіозів, роль окремих представників мікробіоти тіла людини в умовах нормоценозу та дисбіозу. Наголошено на важливому значенні представників нормо біоти, особливо *Lactobacillus* spp. в забезпеченні локального протиінфекційного захисту та протизапальних ефектів. Підкреслено значення БВ як можливої причини ускладнень вагітності та пологів, Крім того, БВ асоційований з інфекцією уретрального тракту, цервіцитом; є фактором ризику зараження ІПСШ та ВІЛ-інфекцією. БВ негативно позначається на якості життя жінок. Показано, що за наявності довготривалих та рясних виділень з піхви у пацієток можливий розвиток психосоматичних порушень, знижується працездатність, порушується статева і дітородна функції, знижується якість життя. Визначені клініко-лабораторні критерії встановлення БВ та підкреслені локальні та системні фактори, що сприяють його розвитку. Подано інформацію про стан імунної системи та неспецифічних факторів захисту у жінок з БВ. Представлено огляд сучасних діагностичних підходів до проблеми вагінальних дисбіозів та зосереджено увагу на перспективах розроблення нових діагностичних засобів та способів.

**Матеріали та методи досліджень.** В рамках відбору пацієток для даного дослідження обстежені жінки у віці від 16 до 64 років, які звернулися до гінеколога для профілактичного огляду або з приводу скарг на дискомфорт в області геніталій різного ступеня прояву.

Дослідження було проспективним, сліпим, рандомізованим. Всі дослідження проводили з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, виконані відповідно до Кодексу етики Всесвітньої медичної асоціації (Декларація Гельсінкі) Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (з подальшими доповненнями), Наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. Всі пацієнти дали інформовану згоду на участь у дослідженні. Виконання досліджень схвалено рішенням Комісії з питань біоетики Одеського національного медичного університету (№ IRB 00004535 Odessa Ste Med U IRB#1) №90Д.

Дизайн досліджень був розроблений у відповідності до мети і завдань дисертаційної роботи та передбачав декілька етапів.

*Отримання матеріалу і формування груп обстеження.* До основного етапу

дослідження були включені 298 жінок, у яких не був виявлений хоча б один з безумовно патогенних мікроорганізмів - *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* та *Herpes Simplex Virus 1,2*. Крім того, підраховували кількість лейкоцитів при мікроскопії мазку. Присутність в мазку більш ніж 15-20 лейкоцитів в полі зору вказувало на наявність запальної реакції і також було причиною виключення пацієнток з основного етапу досліджень. Ці жінки були розділені за віком на 3 групи. До 1-ї вікової групи увійшли 77 пацієнток з регулярним менструальним циклом у віці від 18 до 25 років. До 2-ї групи включені 192 пацієнтки віком від 26 до 45 років в анамнезі яких були від 1 до 3 пологів. До 3-ї групи увійшли 29 пацієнток у віці понад 46 років, які перебували в постменопаузальному періоді (STRAW стадії +1a, +1b і +1c) (Кирилюк М. Л., 2014).

У всіх жінок після огляду брали матеріал у вигляді зіскрібка епітелію з задньобічної стінки піхви за допомогою урогенітального зонда. Забраний матеріал розміщували в пробірці типу «Еппендорф», що містила 1 мл фізіологічного розчину і зберігали в холодильнику при  $-20^{\circ}\text{C}$ , до проведення дослідження стану біоценозу піхви. Разом з цим, частину матеріалу поміщали на предметне скло для наступного фарбування за Грамом і світлової мікроскопії.

Додатково за допомогою стерильної ложки Фолькмана з склепінь піхви збирали секрет, для виконання імунологічних та імуноферментних досліджень. Матеріал збирали в стерильні пробірки типу «Еппендорф» об'ємом 1,5 мл. Як правило, об'єм секрету, забраного одноразово не перевищував 180-300 мкл. Аліквоту секрету доводили до 1000 мкл фізіологічним розчином. Фактор розведення враховували для кожного випадку збирання і використовували при розрахунку результатів вимірювань як фактор корекції.

Лабораторні дослідження клітинного імунітету і вимір рН вагінальної рідини виконували відразу ж після отримання секрету. Решта аналізів могла бути відстрочена, в зв'язку з цим, пробірки з матеріалом зберігали до проведення аналізу в морозильній камері при температурі  $-20^{\circ}\text{C}$  не довше 1 місяця.

При виконанні мікробіологічного дослідження методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) проводили виявлення і кількісне визначення нормобіоти, умовно-патогенної мікрофлори, мікоплазм і дріжджоподібних грибів, що характеризує стан біоценозу піхви. Для зручності подальших розрахунків і оцінки отриманих результатів як кількісну характеристику мікрофлори використовували величину десяткового логарифма кількості геномних еквівалентів мікробіоти в перерахунку на досліджуваний зразок (lg ГЕ/зразок). Кількість мікроорганізмів у транспортному середовищі було прямо пропорційним загальному обсіменінню відповідного біотопу.

Критерієм для розподілу пацієнток на групи був обраний індекс умовно-патогенної мікрофлори (ІУПМ), який розраховували, як різницю між сумою всіх умовно-патогенних мікроорганізмів і кількістю лактобактерій в lg ГЕ/зразок.

Для розподілу жінок за групами додатково до критеріїв, отриманих в результаті ПЛР-дослідження стану біоценозу піхви, використовували результати традиційних клініко-лабораторних тестів для діагностики бактеріального вагінозу: критерії Амсела (Amsel R., 1983), бали Нугента (Nugent R.P. et al., 1991) і показник лактобацилярного ступеня (Spiegel C.A., 1993).

Діагноз БВ встановлювали при наявності більш ніж двох з чотирьох критеріїв Амсела: наявність рясних гомогенних сіро-білих виділень; рН вагінальних виділень більш ніж 4,5; поява специфічного запаху при додаванні до секрету 10 % розчину їдкого калію (КОН); наявність «ключових» клітин при мікроскопії мазка та понад 6 балів Нугента.

Грунтуючись на результатах ПЛР-дослідження та клініко-лабораторних тестах стану біоценозу піхви, були виділені три групи пацієнок. До 1-ої групи ввійшли 53 жінки у віці від 18 до 52 років з нормоценозом. Згідно віку пацієнтки були розділені на 3 категорії: 1-а – вік від 18 до 25 років включала 19 пацієнок з регулярним менструальним циклом; 2-а – вік від 26 до 45 років, 23 пацієнтки в анамнезі яких були від 1 до 3 пологів; 3-тя – вік від 46 років і більше, 11 пацієнок, які перебували в менопаузальному періоді з відсутністю менструацій протягом останнього року (за класифікацією STRAW стадії +1a, +1b).

Всі жінки звернулися до гінеколога для профілактичного огляду. Критеріями для діагностики стану вагінального нормоценозу були відсутність скарг на патологічні виділення і дискомфорт в області вульви і піхви. Під час огляду патологічних змін виявлено не було. Стан нормоценозу у всіх пацієнок було підтверджено клініко-лабораторними критеріями Амсела – виявляли не більше двох критеріїв, визначенням балів Нугента – не більше трьох балів і лактобацилярного ступеня – I або IIА. При розрахунку ІУПМ у всіх жінок величина показника не перевищувала  $-3 \lg \text{ГЕ/зразок}$  (табл. 1, 2).

2-ю і 3-ю групи склали жінки у віці від 17 до 55 років, які звернулися до гінеколога з приводу наявності рідких білуватих або сіруватих виділень із статевих шляхів з неприємним специфічним запахом. Пацієнтки, які вважали себе хворими тривалий час пред'являли скарги на наявність густих або пінистих виділень жовтуватого або зеленуватого кольору. Характер і кількість виділень при БВ варіювали в залежності від віку, загального стану здоров'я, психічного і емоційного стану, сексуальної активності, фази менструального циклу жінок. При первинному гінекологічному обстеженні у всі пацієнок було діагностовано бактеріальний дисбіоз. Клініко-лабораторні критерії Амсела: у 166 жінок виявляли три критерії, у інших – чотири критерії; визначення балів Нугента: від чотирьох до шести балів виявляли у 53 жінок, 7-9 балів – у 135 і 10-12 балів – у 66; лактобацилярного ступеня: IIА ступінь встановили у 33; IIВ – у 196 і III – у 25 пацієнок.

2-а група включала 128 пацієнок трьох вікових категорій з подібним анамнезом. До 1-ї категорії входили 29 жінок з регулярним менструальним циклом у віці 17-25 років; до 2-ї категорії було віднесено 89 пацієнок, які

перенесли від 1 до 3 пологів у віці 26-45 років; 3-я група включала 10 жінок в постменопаузальному періоді (STRAW стадії +1a, +1b) у віці 46-55 років.

У 117 пацієток 3-ої групи розподіл за віковими категоріями був наступним. До 1-ї (17-25 років) групи ввійшли 29 жінок, у яких не було пологів, з непорушеним менструальним циклом; у 2-у (26-45 років) – 76 пацієток у яких було від 1 до 3 нормальних пологів. В 3-ю (46-55 років) – 12 жінок, що знаходилися в періоді менопаузи (STRAW стадії +1a, +1b). Критерієм диференціювання їх за групами був ІУПМ, який склав у 2-й групі від -3 lg ГЕ/зразок до -1 lg ГЕ/зразок, а в 3-й групі – більш ніж -1 lg ГЕ/зразок (табл. 1, 2).

Таблиця 1  
Розподіл пацієток в групах в залежності від величин ІУПМ і ПНБ

Показник	Значення, lg ГЕ/зразок	Нормоценоз, n=53	Дисбіоз I ст., n=128	Дисбіоз II ст., n=117
ІУПМ	≤-3,0	53	-	-
	> -3,0 и ≤-1,0	-	128	-
	> -1,0	-	-	117
ПНБ	≤0,3	53	23	-
	> 0,3 и ≤1,0	-	83	-
	≤1,0	-	-	34
	> 1,0	-	22	83

Таблиця 2  
Розподіл пацієток в групах в залежності від вікової категорії

Вік, роки	Нормоценоз, n=53	Дисбіоз I ст., n=128	Дисбіоз II ст., n=117
≤25	19	29	29
26-45	23	89	76
> 45	11	10	12

У всіх пацієток здійснювали забір крові вранці натщесерце з кубітальної вени в кількості 10 мл. Молекулярно-генетичні дослідження проводили методом ПЛР. ДНК виділяли за допомогою набору реактивів «Проба-ГС» (ТОВ «ДНК-технологія», РФ).

Виявлення в матеріалі безумовно патогенних мікроорганізмів *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* та *Herpes Simplex Virus 1,2* проводили з використанням наборів реактивів: «Тріхо-ГЕН»; «Гоно-ГЕН»; «Хламід-ГЕН» і «ВПГ-ГЕН» виробництва ТОВ «ДНК-технологія»

(РФ), відповідно. Комплекти реагентів призначені для ПЛР-ампліфікації ДНК і флуоресцентної детекції по кінцевій точці (формат «FLASH»). Ампліфікацію пробірок з реакційною сумішшю проводили в чотирьохканальному ампліфікаторі «Терцик» (ТОВ «ДНК-технологія», РФ). Реєстрацію результатів ампліфікації здійснювали за допомогою флуоресцентного детектора «Джин» (ТОВ «ДНК-технологія», РФ). Чутливість використаних тест-систем визначається на рівні не менше 100 бактеріальних геномів у зразку.

Дослідження стану біоценозу піхви проводили з використанням тест-системи «Фемофлор 16» методом ПЛР в режимі реального часу. Набір включає суміш для ПЛР-ампліфікації ДНК, специфічну для всіх бактерій (загальна бактеріальна маса – ЗБМ), суміш, специфічну для нормобіоти (*Lactobacillus* spp.; НБ) і суміші, специфічні для умовно-патогенних мікроорганізмів: *Corynebacterium* spp., облигатних анаеробів (ОА) – *Atopobium vaginae*, *Eubacterium* spp., *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia*, *Porphyromonas* spp., *Lachnobacterium* spp., *Clostridium* spp., *Megasphaera* spp., *Veilonella* spp., *Dialister* spp., *Mobiluncus* spp., *Peptostreptococ* spp., *Sneathia* spp., *Leptotrichia* spp., *Fusobacterium* spp.; факультативних анаеробів (ФА) – *Enterobacteriaceae* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp.; мікоплазм (МП) – *Ureaplasma urealyticum* + *parvum*, *Mycoplasma hominis* + *genitalium* і дріжджоподібних грибів (ДГ) *Candida* spp.

ПЛР в режимі реального часу виконували на приладі DTLite (ТОВ «ДНК-Технологія», РФ). За допомогою алгоритму, закладеного в програмний модуль «Фемофлор» (ТОВ «ДНК-Технологія», РФ) по завершенню етапу ампліфікації і детекції розраховується кількість загальної бактеріальної маси і окремих видів мікроорганізмів (lg GE/зразок).

Визначення вмісту імуноглобулінів А (IgA), М (IgM) і G (IgG) в крові і вагінальній рідині проводили методом імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням тест-системи «Ig A, M, G - ІФА» виробництва НВЛ «Гранум» (Україна). Вміст імуноглобуліна G<sub>2</sub> (IgG<sub>2</sub>) і секреторного IgA (sIgA) в крові і вагінальній рідині проводили методом ІФА з використанням тест-системи «IgG2-ІФА» і «Секреторний IgA-ІФА» відповідно, виробництва ТОВ «Хема» (РФ). Вміст лізоциму в крові і вагінальній рідині проводили методом ІФА з використанням тест-системи «Lysozyme (human) Sandwich» виробництва DRG (США). Для кількісного визначення концентрації ЦК використаний метод заснований на селективній преципітації комплексів антиген-антитіло в 3,75 % розчині поліетиленгліколю на спектрофотометрі SPECORD-200 (Німеччина) при довжині хвилі 450 нм.

Вміст інтерлейкінів 1 $\beta$  (IL1 $\beta$ ), 2 (IL2), 4 (IL4), 6 (IL6), 8 (IL8), 10 (IL10), фактора некрозу пухлин  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) та  $\gamma$ -інтерферону ( $\gamma$ -INF) в крові і вагінальній рідині проводили методом ІФА з використанням тест-системи виробництва ТОВ «Вектор-Бест» (РФ): «Інтерлейкин-1-бета-ІФА-БЕСТ», «Інтерлейкин-2-ІФА-БЕСТ», «Інтерлейкин-4-ІФА -БЕСТ», «Інтерлейкин-6-ІФА-БЕСТ», «Інтерлейкин-8-ІФА-БЕСТ», «Інтерлейкин-10-ІФА-БЕСТ», «альфа-ФНП-ІФА-БЕСТ» і «Гамма-інтерферон-ІФА-БЕСТ», відповідно.

Концентрацію трансформуючого фактора росту  $1\beta$  (TGF- $1\beta$ ) в крові і вагінальній рідині проводили методом ІФА з використанням тест-системи виробництва «DRG» (США) «TGF- $1\beta$  ELISA».

*Визначення концентрації гормонів.* Концентрацію лютеотропного гормону (ЛГ), фолікулостимулюючого гормону (ФСГ), пролактину (ПРЛ) в сироватці крові визначали методом ІФА з використанням комплектів реактивів виробництва НПЛ «Гранум» (Україна): «ЛГ - ІФА», «ФСГ - ІФА», «Пролактин - ІФА», відповідно. Кількісне визначення кортизолу (КР), прогестерону (ПГ), естрадіолу ( $E_2$ ), тестостерону (ТС), вільного трийодтіроніну ( $T_3$ ) і вільного тироксину ( $T_4$ ) в сироватці крові проводили методом ІФА з використанням комплектів реагентів виробництва НПЛ «Гранум» (Україна): «Кортизол - ІФА», «Прогестерон - ІФА», «Естрадіол - ІФА», «Тестостерон - ІФА», « $T_3$  вільний - ІФА» і « $T_4$  вільний - ІФА», відповідно. Реєстрацію оптичної щільності зразків після проведення ІФА здійснювали на планшетному рідері «Multiscan EX» (Thermo EC, Фінляндія).

*Кількісне визначення компонентів комплементу C3 і C4 в крові і вагінальної рідини* проводили імунотурбідиметричним методом з використанням комплектів реагентів «Комплемент C3» і «Комплемент C4» виробництва «PLIVA-Lachema Diagnostica s.r.o.» (Чехія). Каламутність розчинів при турбодиметрії вимірювали на лабораторному турбідиметрі "2100 N IS» («Hach», USA).

Кількісне визначення субпопуляцій Т- і В-лімфоцитів в крові і вагінальної рідини проводили методом їх візуалізації в реакції розеткоутворення з моноклональними антитілами до Т-лімфоцитів (CD3), Т-лімфоцитів хелперів (CD4); Т-лімфоцитів кілерів/супресорів (CD8); В-лімфоцитів (CD22) і натуральних кілерів (CD16). Для досліджень використано еітроцитарні діагностикуми виробництва НПЛ «Гранум» (Україна): «Анти-CD3», «Анти-CD4», «Анти-CD8», «Анти-CD22» і «Анти-CD16», відповідно. Суспензію лімфоцитів для подальших аналізів виділяли на градієнті щільності  $d=1,077$  (НВО «Гранум», Україна). Визначення фагоцитарної активності лейкоцитів (нейтрофілів, ФАЛ) проводили з використанням суспензії клітин дріжджів (НПЛ «Гранум», Україна).

*При світловій мікроскопії* мазків з піхви, забарвлених за Грамом, визначали кількість і морфотінкторіальні характеристики епітеліоцитів; кількість лейкоцитів, наявність фагоцитозу, ФАЛ та індекс ФАЛ; морфотипи мікроорганізмів; відносну кількісну характеристику загального числа мікроорганізмів у досліджуваному препараті. Світлову мікроскопію виконували на мікроскопі Granum L20 виробництва НПЛ «Гранум» (Україна).

pH вагінального секрету визначали за допомогою тест-смужок «Кольпо-Тест рН» виробництва ТОВ «Біосенсор АН» (РФ). За допомогою смужок визначали рН в діапазоні значень 3,0 - 7,0.

*Кожну статистичну вибірку* оцінювали на предмет характеру розподілу за допомогою тестів Колмогорова-Смирнова і  $\chi$ -квадрат. Для описової статистики даних, що мають нормальний характер розподілу використовували

середнє арифметичне (M), стандартні відхилення (SD) і помилку середньої (m). Порівняння парних варіаційних рядів здійснювали з використанням критерію Стюдента (t) для незалежних вибірок. Більшу кількість варіаційних рядів порівнювали з використанням одно- та багатофакторного дисперсійного аналізу за критерієм (F). Ступінь взаємозв'язку вибірок оцінювали з використанням коефіцієнта кореляції Пірсона (r). Парні незалежні вибірки даних порівнювали із застосуванням критерію Манна-Уїтні (U). Три і більше вибірок оцінювали за допомогою дисперсійного аналізу Краскела-Уолліса (Q). Взаємозв'язок варіаційних рядів оцінювали коефіцієнтом рангової кореляції Спірмена. Для порівняння категоріальних змінних використовували критерій хі-квадрат ( $\chi^2$ ) Пірсона в модифікації Йетса.

*Вплив факторних змінних на залежні показники* досліджували з використанням одно- та багатофакторного лінійного та нелінійного регресійного аналізу. Розраховували коефіцієнти регресії ( $\beta$ ), достовірність їх відмінностей від нульової гіпотез, коефіцієнти кореляції (R) і детермінації (R<sup>2</sup>) для лінійних моделей, а також значення Wald-статистики і коефіцієнта максимальної правдоподібності для нелінійних. Оцінювали операційні характеристики (чутливість, специфічність і правильність) логістичних моделей за допомогою ROC-діаграм. Класифікацію ознак проводили за допомогою дерев класифікації. Побудову прогностичних моделей здійснювали з використанням нейромережевого моделювання. Для статистичної обробки отриманих даних використовували пакет комп'ютерних програм Statistica 10 (StatSoft, Inc., USA).

**Результати дослідження.** На першому етапі обстежено 53 жінки віком від 18 до 52 років, які були поділені на групи (табл. 1, 2).

Показано, що кількісно при нормоценозі абсолютно переважали ЛБ, на 3-4 порядки нижчою була кількість ентеробактерій, на 5-6 порядків – стафілококів. Ці результати відповідають даним відомої методичної літератури (Болдырева М.Н., 2010). Серед облигатних анаеробів переважали *Eubacterium* spp. і *Mobiluncus* spp. У тій же кількості визначалися *Corynebacterium* spp., *Candida* spp. та *Ureaplasma urealyticum+parvum*. Представників сімейств *Sneathia* spp., *Leptotrihia* spp., *Fusobacterium* spp., а також *Mycoplasma hominis+genitalium* за нормоценозу виявлено не було у жодній віковій групі.

Визначені граничні показники для нормоценозу, коли переважають факультативні анаероби (35 %); частка облигатних анаеробів складає 30 %, дріжджеподібних грибів – 25 %, міко-/уреаплазм – 10 %. Серед факультативних анаеробів кількісно переважали мікроорганізми груп *Mobiluncus* spp. / *Corynebacterium* spp., *Eubacterium* spp. і *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia* / *Porphyromonas* spp., натомість їх кількість не перевищувала 2,237 lg GE/зразок. Кількість маркерного для бактеріального вагінозу *Atopobium vaginae* не перевищувала 0,735 lg GE/зразок. Кількість *Ureaplasma urealyticum+parvum* не перебільшувала 1,561 lg GE/зразок. Представники *Candida* spp. виявлялися у 85 % випадків у кількості щонайбільше 3,219 lg GE/зразок. Представників сімейств *Sneathia* spp., *Leptotrihia* spp., *Fusobacterium* spp., а також *Mycoplasma*



*hominis+genitalium* при нормоценозі не виявлено.

У даному дослідженні зроблено спробу розділити групи за величиною ІУПМ, яка об'єктивно відображає співвідношення умовно патогенної мікрофлори та ЛБ і є, по суті, різницею їх кількостей. При нормоценозі ІУПМ в усіх жінок був нижчим від  $-3 \lg \text{ГЕ/зразок}$ , а ЗБМ коливалася від  $7,0 \lg \text{ГЕ/зразок}$  до  $8,0 \lg \text{ГЕ/зразок}$  (медіана  $7,7 \lg \text{ГЕ/зразок}$ ).

У пацієток із дисбіозом I ступеня ІУПМ був у діапазоні від  $-3 \lg \text{ГЕ/зразок}$  до  $-1 \lg \text{ГЕ/зразок}$ . ЗБМ варіювала від  $6,0 \lg \text{ГЕ/зразок}$  до  $8,0 \lg \text{ГЕ/зразок}$  (медіана  $7,7 \lg \text{ГЕ/зразок}$ ). Частка ЛБ складала від 73,1 % до 99,4 % (медіана 95,0 %). Після порівняння середніх величин встановлено, що показник ЗБМ у групі 2 був нижчим від такого у групі 1 на 1,8 %, що натомість виявилось статистично значущим ( $p < 0,05$ ). Кількість *Lactobacillus spp.* знижувалася (на 8,0 %;  $p < 0,05$ ) зі збільшенням майже усіх умовно патогенних мікроорганізмів.

Якісний і кількісний склад дослідженої мікрофлори у виділених за наявністю дисбіозу групах (нормоценоз – група 1, дисбіоз I ст. – група 2, дисбіоз II ст. – група 3) наведений у таблиці 3.

Таблиця 3

Кількісний склад біоценозу вмісту цервікального каналу та склепіння піхви залежно від величини ІУПМ,  $\lg \text{ГЕ/зразок}$  ( $M \pm m$ ).

Мікроорганізми	Клінічний діагноз за ІУПМ ( $\lg \text{ГЕ/зразок}$ )		
	нормоценоз, n=53	дисбіоз I ст., n=128	дисбіоз II ст., n=117
	ІУПМ $\leq$ -3	-3<ІУПМ $\leq$ -1	ІУПМ>-1
ЗБМ	7,740 $\pm$ 0,037	7,600 $\pm$ 0,039*	6,774 $\pm$ 0,076*#
1	2	3	4
Нормофлора			
<i>Lactobacillus spp.</i>	7,622 $\pm$ 0,039	7,009 $\pm$ 0,044*	4,945 $\pm$ 0,173*#
Факультативно анаеробні (аеробні) мікроорганізми			
<i>Enterobacteriaceae spp.</i>	3,777 $\pm$ 0,109	5,169 $\pm$ 0,068*	5,179 $\pm$ 0,072*
<i>Streptococcus spp.</i>	0,964 $\pm$ 0,205	1,020 $\pm$ 0,149	1,753 $\pm$ 0,212*#
<i>Staphylococcus spp.</i>	1,045 $\pm$ 0,205	1,316 $\pm$ 0,166	1,309 $\pm$ 0,169
Облігатно анаеробні мікроорганізми			
<i>Gardnerella vaginalis,</i> <i>Prevotella bivia,</i> <i>Porphyromonas spp.</i>	0,923 $\pm$ 0,178	2,190 $\pm$ 0,193*	3,950 $\pm$ 0,267*#
<i>Eubacterium spp.</i>	1,840 $\pm$ 0,174	3,276 $\pm$ 0,165*	4,150 $\pm$ 0,202*#
<i>Sneathia spp., Leptotrihia spp.,</i> <i>Fusobacterium spp.</i>	0,000 $\pm$ 0,000	0,465 $\pm$ 0,112*	1,301 $\pm$ 0,231*#
<i>Megasphaera spp., Veilonella</i> <i>spp., Dialister spp.</i>	0,357 $\pm$ 0,121	1,038 $\pm$ 0,159*	2,704 $\pm$ 0,264*#

Продовження таблиці 3

1	2	3	4
<i>Lachnobacterium</i> spp., <i>Clostridium</i> spp.	0,413±0,138	1,172±0,168*	1,590±0,201*
<i>Mobiluncus</i> spp.	1,951±0,143	3,010±0,106*	3,085±0,134*
<i>Peptostreptococ</i> spp.	0,504±0,130	1,184±0,157*	1,830±0,223*#
<i>Atopobium vaginae</i>	0,489±0,123	0,699±0,119	2,356±0,267*#
Міко- та уреаплазми			
<i>Mycoplasma hominis+genitalium</i>	0,000±0,000	0,023±0,023*	0,467±0,173*#
<i>Ureaplasma urealyticum+parvum</i>	1,104±0,228	1,622±0,023*	2,062±0,223*#
Дріжджеподібні гриби			
<i>Candida</i> spp.	2,864±0,177	3,197±0,092	2,832±0,137#

Примітки: \* –  $p < 0,05$  порівняно з показником групи 1; # –  $p < 0,05$  порівняно з показником групи 2 (за t-критерієм).

Відповідно ПНБ, який розраховується за різницею показників ЗБМ і ЛБ, був більшим у пацієток із дисбіозом I ступеня, ніж у жінок із нормоценозом (0,6 lg ГЕ/зразок і 0,1 lg ГЕ/зразок, відповідно). Частота виявлення *Atopobium vaginae* і *Peptostreptococ* spp. не змінилася, а їх абсолютний вміст збільшився, надто останніх. Такі самі показники збільшилися для *Megasphaera* spp. + *Veilonella* spp. + *Dialister* spp. і *Lachnobacterium* spp. + *Clostridium* spp. – до 26,6 % і 29,7 % випадків, відповідно, що було статистично значущим порівняно з нормоценозом (на 76,1 % і 96,7 %, відповідно, для обох випадків).

На відміну від жінок із нормоценозом, у пацієток із дисбіозом I ступеня виявляли мікроорганізми видів *Sneathia* spp. + *Leptotrihia* spp. + *Fusobacterium* spp. – у 12,5 % випадків у кількості, меншій від  $10^4$ .

Мікоплазми траплялися з частотою, аналогічною показнику нормоценозу – 0,029 у.о. *Ureaplasma urealyticum+parvum* виявляли у 39,8 % випадків, причому у 26,6 % спостережень їх вміст перевищував  $10^4$ . У групі 2 відзначено появу у 8,0 % випадків *Mycoplasma hominis+genitalium* у кількості до  $10^3$ . Дріжджеподібні гриби виявляли приблизно з тією ж частотою, що і в групі 1 (92,2 %) і в невеликих кількостях (лише у 6,0 % випадків понад  $10^4$ ).

Таким чином, відзнаками дисбіозу I ступеня виявилися зниження ЗБМ, кількості ЛБ на тлі збільшення частоти та вмісту представників умовно патогенної мікрофлори. На відміну від нормоценозу виявляються представники видів *Sneathia* spp. + *Leptotrihia* spp. + *Fusobacterium* spp. і *Mycoplasma hominis+genitalium*. Проведений кореляційний аналіз показав із розвитком дисбіозу послаблення кореляційного зв'язку між ЗБМ і вмістом ЛБ ( $r=+0,62$ ;  $p < 0,05$ ) і зникнення зв'язку між ЗБМ і вмістом ентеробактерій. Крім того, з'являються численні позитивні зв'язки середньої сили між показниками факультативних та облигатних анаеробів. Це вказує на появу при дисбіозі I ступеня чинників, що сприяють росту даних мікроорганізмів.

Для більш детального аналізу взаємовпливу досліджуваних мікробіот групи пацієнток із дисбіозом I ступеня (128 осіб) розподілили на 3 підгрупи залежно від величини ПНБ (табл. 4).

Таблиця 4

Показники біоценозу у виділених за показником нормобіоти (lg GE/зразок) підгрупах жінок із дисбіозом I ступеня (M±m; n=128)

Показник, lg GE/зразок	1-а ПНБ≤0,3; n=23	2-а 0,3<ПНБ≤1,0; n=83	3-я ПНБ>1,0; n=22
ЗБМ	7,591±0,108	7,546±0,039	7,809±0,040 <sup>#</sup>
ЛБ	7,407±0,107	7,039±0,044 <sup>*</sup>	6,477±0,066 <sup>*#</sup>
ПНБ	0,185±0,020	0,507±0,017 <sup>*</sup>	1,332±0,050 <sup>*#</sup>
ПНБ, min/max	0,050/0,300	0,301/0,900	1,050/2,100
ГУПМ	-1,553±0,071	-1,493±0,034	-1,249±0,056 <sup>*#</sup>
ГУПМ, min/max	-2,008/-1,054	-2,172/-1,02	-1,769/-1,008

Примітки: \* – p<0,05 порівняно з показником підгрупи 1; # – p<0,05 порівняно з показником підгрупи 2.

Передумовою цьому стали такі міркування. За умов нормоценозу в усіх жінок ПНБ був нижчим від межі норми – 0,3 lg GE/зразок. Це відображає нормальне співвідношення ЛБ і ЗБМ. При дисбіозі I ступеня ПНБ суттєво варіював (від 0,05 lg GE/зразок до 2,1 lg GE/зразок) і міг бути нижчим від граничного для норми (18 % випадків) або більшим за нього (82 % випадків). Для нормоценозу ПНБ склав 0,118±0,018 lg GE/зразок.

Як і в попередньому випадку, для детальнішого аналізу взаємовпливу досліджуваних мікробіот, групу 3 пацієнток із дисбіозом II ступеня (117 осіб, див. табл. 1) розподілили на підгрупи залежно від величини ПНБ (табл. 5).

Таблиця 5

Показники біоценозу у виділених за показником нормобіоти підгрупах жінок із дисбіозом II ступеня (M±m; n=117)

Показник, lg GE/зразок	1-а ПНБ≤1,0 lg GE/зразок, n=34	2-а ПНБ>1,0 lg GE/зразок, n=83
ЗБМ	6,541±0,111	6,869±0,096 <sup>*</sup>
ЛБ	6,354±0,114	4,367±0,208 <sup>*</sup>
ПНБ	0,187±0,015	2,501±0,169 <sup>*</sup>
ПНБ, min/max	0,100/0,400	1,050/7,200
ГУПМ	-0,423±0,052	2,111±0,189 <sup>*</sup>
ГУПМ, min/max	-0,982/0,107	-0,396/7,117

Примітка: \* – p<0,05 при порівнянні підгруп.

При дисбіозі II ступеня ПНБ також суттєво варіював (від

0,1 Іg GE/зразок до 7,2 Іg GE/зразок) і був як нижчим від граничного для норми (0,3 Іg GE/зразок, 27 % випадків), так і більшим за нього. Причому показник ПНБ до 1,0 Іg GE/зразок зафіксовано у 29 % випадків, у решті спостережень він був більшим. Показники ПНБ, нижчі від 1,0 Іg GE/зразок, що, на думку деяких авторів (Ворошилина Т. С., 2011), є підставою для встановлення діагнозу бактеріального вагініту. Кількість ЛБ була суттєво зниженою у виділених підгрупах порівняно з показником нормоценозу: в 1,2 разу у підгрупі 1 і в 1,7 разу у підгрупі 2, відповідно ( $p < 0,01$ ).

Аналіз отриманих результатів дозволив зробити такі підсумки. За відсутності ознак інфекційно-запального процесу за ІУПМ  $\leq -3$  Іg GE/зразок у жінок має місце нормоценоз. При дисбіозі I ступеня (ІУПМ від  $-3$  Іg GE/зразок до  $-1$  Іg GE/зразок) спостерігається зниження ЗБМ і кількості ЛБ на тлі збільшення частоти та вмісту представників анаеробів. З'являються представники видів *Sneathia* spp. + *Leptotrihia* spp. + *Fusobacterium* spp. і *Mycoplasma hominis*+*genitalium*. Порушення біоценозу піхви розпочиналися з розвитку анаеробного дисбіозу навіть за умов нормального значення ПНБ.

При дисбіозі II ступеня (ІУПМ  $> -1$  Іg GE/зразок) ЗБМ і кількість ЛБ було знижено ще більшою мірою на тлі значного збільшення частоти та абсолютної кількості стрептококів та облігатних анаеробів. Значне збільшення частки облігатних анаеробів, показало, що у цих пацієнток мав місце виражений анаеробний дисбіоз із наявністю патогенних *Sneathia* spp. + *Leptotrihia* spp. + *Fusobacterium* spp. і *Mycoplasma hominis*+*genitalium*, що можна було розцінити як БВ. Результати кореляційного аналізу продемонстрували, що зі збільшенням ступеня дисбіозу зменшується пряма залежність ЗБМ і кількості ЛБ та збільшуються кількість і сила позитивних зв'язків показників умовно патогенної мікрофлори (але не дріжджеподібних грибів). Вочевидь, при бактеріальному вагінозі ця мікрофлора набуває властивостей самопідтримання та прогресивної самостимуляції.

Наступним етапом вивчено вплив місцевих чинників на колонізаційну резистентність. На тлі нормоценозу показник рН вагінального секрету складав від 3,76 до 4,20. Такі малі розбіжності даних вказують на наявність жорсткого механізму підтримання значення рН вагінального секрету. При дисбіозі I ступеня значення рН виявилось підвищеним, причому воно зростало зі зниженням кількості ЛБ і, відповідно, – зі збільшенням ПНБ. При дисбіозі II ступеня з поглибленням порушень вагінальної біоти показник рН значуще підвищувався ( $p < 0,001$ ).

З поглибленням дисбіозу у вагінальному вмісті виявлено прогресуюче зниження рівня ІgА – до 45-75 % при дисбіозі II ступеня. Вміст ІgМ, навпаки, підвищувався – у 2,6-3,5 рази. Таке «перемикання» може бути обумовлено ростом анаеробної грамнегативної флори, оскільки ІgМ зв'язує ендотоксини грамнегативних бактерій (ліпополісахариди). Вміст ІgG був значуще зниженим лише у пацієнток 3-ї підгрупи I групи та 1-ї підгрупи II групи (до 72-73 % від рівня за нормоценозу). Зниження рівня ІgG з поглибленням дисбіозу відображає загальну схильність до розвитку імунодефіциту за умов БВ. Вміст

секреторного IgA та лізоциму закономірно знижувався та досягав 6-7-разового зниження при дисбіозі II ступеня.

Імунні чинники колонізаційної резистентності піхви (вміст імуноглобулінів і лізоциму) наведено у таблиці 6.

Таблиця 6

Показники вмісту імуноглобулінів і лізоциму в вагінальному секреті (M±m)

Група, підгрупа		IgA, мкг/мл	IgM, мкг/мл	IgG, мкг/мл	sIgA, мкг/мл	Лізоцим, мкг/мл
1-а (нормоценоз), n=53		89,7±1,4	9,41±0,19	112,5±2,2	132,5±2,8	10,41±0,18
2-а (дисбіоз I ступеня), n=128	1-а, n=23	84,8±2,5	9,44±0,24	111,6±5,2	155,4±1,0 <sup>1</sup>	19,96±0,85 <sup>1</sup>
	2-а, n=83	85,2±1,4 <sup>1</sup>	14,08±0,25 <sup>1,2</sup>	113,7±1,9	131,0±2,3 <sup>2</sup>	15,43±0,26 <sup>1,2</sup>
3-я, n=22		72,6±3,4 <sup>1-3</sup>	21,15±0,86 <sup>1-3</sup>	81,4±3,0 <sup>1-3</sup>	80,4±3,4 <sup>1-3</sup>	8,26±0,20 <sup>1-3</sup>
3-я (дисбіоз II ступеня, n=117)	1-а, n=34	67,1±1,6 <sup>1-3</sup>	24,09±0,68 <sup>1-4</sup>	82,2±2,2 <sup>1-3</sup>	37,6±0,6 <sup>1-4</sup>	4,07±0,12 <sup>1-4</sup>
	2-а, n=83	40,6±0,7 <sup>1-5</sup>	32,97±0,64 <sup>1-5</sup>	111,1±1,9 <sup>4,5</sup>	19,7±0,4 <sup>1-5</sup>	1,48±0,03 <sup>1-5</sup>
Статистична процедура порівняння результатів						
p(MW) <sup>1</sup>		0,084	0,743	0,717	1,55E-07	5,89E-11
p(MW) <sup>2</sup>		0,026	4,50E-19	0,869	0,761	1,70E-19
p(MW) <sup>3</sup>		5,53E-05	1,22E-11	1,72E-08	5,93E-11	1,97E-08
p(MW) <sup>4</sup>		1,68E-12	4,76E-15	2,60E-11	4,76E-15	4,76E-15
p(MW) <sup>5</sup>		1,00E-22	1,00E-22	0,532	1,00E-22	1,00E-22
F		207,027	359,215	28,808	756,724	724,307
p		0,00E-01	0,00E-01	9,79E-24	0,00E-01	0,00E-01

Примітки: Достовірність розбіжностей з використанням U-критерію Манна-Уїтні між відповідними показниками в 1-й групі та: p(MW)<sup>1</sup> – в 1-й підгрупі 2-ї групи, p(MW)<sup>2</sup> – в 2-й підгрупі 2-ї групи, p(MW)<sup>3</sup> – в 3-й підгрупі 2-ї групи, p(MW)<sup>4</sup> – в 1-й підгрупі 3-ї групи, p(MW)<sup>5</sup> – в 2-й підгрупі 3-ї групи; F – результат і p – вірогідність дисперсійного аналізу оцінки розбіжностей відповідних показників між підгрупами

Індекс ФАЛ, який відображає частку клітин, що вступили у фагоцитоз, від їх загальної кількості у відсотках, за нормоценозу варіював від 14 % до 45 %, причому більшість показників (68 %) були в інтервалі від 27 % до 36 % (табл. 7). Тобто, в нормі близько третини лейкоцитів, знайдених у вагінальному секреті, були у стані фагоцитозу. ФАЛ вагінального секрету при нормоценозі варіювала у досить широких межах – від 2,9 у.о. до 6,4 у.о., причому більшість показників (74 %) були в діапазоні 2,9-4,3 у.о. Іншими словами, у середньому, кожен фагоцитуючий лейкоцит мав від 3 до 5 поглинених латексних часток.

Таблиця 7

Показники фагоцитарної активності лейкоцитів та її індексу, вмісту імунних комплексів і компонентів комплементу C<sub>3</sub> і C<sub>4</sub> у вагінальному секреті (M±m)

Група, підгрупа		ФАЛ, у.о.	Індекс ФАЛ, %	ІК, од/екст.	C <sub>3</sub> , мкг/мл	C <sub>4</sub> , мкг/мл
1-а (нормоценоз), n=53		3,24±0,13	32,0±1,0	4,89±0,16	15,6±0,43	3,53±0,07
2-а (дисбіоз I ступеня), n=128	1-а, n=23	4,10±0,12 <sup>1</sup>	35,4±1,5	5,03±0,29	17,4±0,8	3,64±0,11
	2-а, n=83	2,03±0,04 <sup>1,2</sup>	22,3±0,4 <sup>1,2</sup>	5,13±0,09	20,5±0,3 <sup>1,2</sup>	4,62±0,08 <sup>1,2</sup>
	3-я, n=22	1,20±0,05 <sup>1-3</sup>	11,9±0,4 <sup>1-3</sup>	7,18±0,21 <sup>1-3</sup>	12,5±0,4 <sup>1-3</sup>	2,28±0,07 <sup>1-3</sup>
3-я дисбіоз II ступеня), n=117	1-а, n=34	1,02±0,03 <sup>1-4</sup>	8,1±0,2 <sup>1-4</sup>	6,86±0,19 <sup>1-3</sup>	7,8±0,2 <sup>1-4</sup>	1,19±0,03 <sup>1-4</sup>
	2-а, n=83	0,60±0,01 <sup>1-5</sup>	5,9±0,1 <sup>1-5</sup>	2,46±0,04 <sup>1-5</sup>	3,1±0,1 <sup>1-5</sup>	0,60±0,01 <sup>1-5</sup>
Статистична процедура порівняння результатів						
p(MW) <sup>1</sup>		2,60E-05	0,094	0,751	0,065	0,541
p(MW) <sup>2</sup>		4,36E-15	7,95E-15	0,153	1,43E-13	4,83E-14
p(MW) <sup>3</sup>		1,82E-11	1,82E-11	6,16E-09	5,01E-05	5,49E-11
p(MW) <sup>4</sup>		5,10E-15	4,76E-15	6,39E-10	4,76E-15	4,76E-15
p(MW) <sup>5</sup>		1,00E-22	1,00E-22	1,56E-21	1,00E-22	1,00E-22
F		349,545	380,932	174,747	555,406	654,759
p		0,00E-01	0,00E-01	0,00E-01	0,00E-01	0,00E-01

Примітки: аналогічні таким у табл. 6.

Показник ІК у 1-й й 2-й підгрупах при дисбіозі I ступеня порівняно з таким для нормоценозу суттєво не змінювався. У 3-й підгрупі при дисбіозі I ступеня та в 1-й підгрупі при дисбіозі II ступеня цей показник був суттєво більшим (в 1,4-1,5 рази), тоді як у 2-й групі при дисбіозі II ступеня вміст ІК виявився вдвічі зниженим від показника нормоценозу. Початкові стадії дисбіозу (ІУПМ від -3 lg GE/зразок і ПНБ до 1,0 lg GE/зразок) не супроводжувалися підвищенням утворення ІК. Подальше наростання умовно патогенної мікрофлори призвело до підвищення утворення ІК у вагінальному секреті, що відповідало динаміці збільшення рівня IgM. На тлі БВ (у 2-й підгрупі при дисбіозі II ступеня) вміст у вагінальному секреті IgM продовжував значуще збільшуватися, але утворення ІК суттєво знижувалось. Імовірно, гуморальна ланка неспецифічної резистентності на тлі дисбіозу різного ступеня перебувала у різному функціональному стані – активувалась у процесі переходу до дисбіозу II ступеня та пригнічувалася (попри досить високий рівень IgM) на тлі БВ.

В останньому випадку вкрай низькі рівні секреторного IgA та лізоциму

доповнювали картину глибокого локального неспецифічного імунодефіциту та, поруч зі зниженням ФАЛ, дозволяли констатувати наявність на тлі БВ комбінованого локального імунодефіциту.

Вміст компонентів комплементу у вагінальному секреті відповідав змінам рівня ІК – був підвищеним порівняно з показником для нормоценозу при дисбіозі І ступеня (2-а підгрупа – в 1,3 рази), знижувався з переходом до дисбіозу ІІ ступеня (до 50-66 % від рівня нормоценозу) та різко знижувався на тлі БВ (до 20 % для  $C_3$  і до 17 % для  $C_4$ ). Вірогідно, саме зниження рівня комплементу складало причину зниження ІК на тлі БВ, коли рівень ІgМ був досить високим.

З усіх вивчених прозапальних цитокінів у 1-й підгрупі 2-ї групи (дисбіоз І ступеня) зміною рівня відреагував лише  $TNF\alpha$ , вміст якого виявився вищим за такий для нормоценозу в 1,4 рази. Вміст решти цитокінів цієї групи не змінився. З поглибленням дисбіозу вміст прозапальних цитокінів синхронно та планомірно підвищувався. Так, вміст  $IL1\beta$  у 2-й групі дисбіозу ІІ ступеня (за БВ) перевищив показник нормоценозу в 2,8 рази,  $IL2$  – у 2,1 рази,  $IL6$  – у 3,4 рази,  $IL8$  – у 2,4 разу та  $TNF\alpha$  – у 3,0 рази. За ступенем збільшення рівня вивчені інтерлейкіни розподілилися таким чином:  $IL6 > TNF\alpha > IL1\beta > IL8 > IL2$ . Можна зазначити, що першим на дисбіоз відреагував  $TNF\alpha$ , максимальний приріст продемонстрував  $IL6$ , а найбільш інертну реакцію –  $IL2$ .

Вміст  $\gamma$ -ІNF фактично не змінився в 1-й підгрупі дисбіозу І ступеня, але досяг максимуму в 2-й підгрупі (збільшився в 1,3 рази). З поглибленням дисбіозу вміст  $\gamma$ -ІNF знижувався та при БВ склав 21,9 % від показника нормоценозу. Цікаво, що аналогічно змінювався й рівень компонента комплементу  $C_3$ . Вміст  $IL4$  та  $IL10$ , як і більшості інших інтерлейкінів, фактично не змінився в 1-й підгрупі дисбіозу І ступеня. Зі збільшенням ступеня дисбіозу він знижувався та склав за БВ 22 % для  $IL4$  та 25 % для  $IL10$  від рівня нормоценозу.

Рівень  $TGF-1\beta$  у вагінальному секреті в 1-й підгрупі дисбіозу І ступеня також фактично не змінився. З поглибленням дисбіозу зафіксовано подвійний ступінчастий підйом вмісту цього цитокіну порівняно з показником нормоценозу – в 1,2-1,3 разу в 2-й і 3-й підгрупах дисбіозу І ступеня та в 2,4-2,5 разу при дисбіозі ІІ ступеня. Дані дискримінантного аналізу показали, що  $TGF-1\beta$  виконував роль чинника, який пригнічував колоніальну резистентність вагінального секрету та, маючи імунорегуляторну активність, пригнічував імунну реакцію на тлі вагінального дисбіозу. Це припущення підтверджується наявністю негативного корелятивного зв'язку  $TGF-1\beta$  із ІgА, секреторним ІgА, лізоцимом, показниками ФАЛ, компонентами комплементу  $C_3$  і  $C_4$ ,  $\gamma$ -ІNF,  $IL4$  та  $IL10$  (значення  $r$  від -0,69 до -0,81).

Чинниками, що відображали імуносупресію найбільшим чином, були лізоцим,  $IL10$  і компонент комплементу  $C_3$ , вміст яких за БВ знижувався у 7,0, 4,1 і 5,0 разів відповідно. Поряд із  $TGF-1\beta$  показниками імуносупресії можна вважати підвищення у вагінальному секреті рівнів  $TNF\alpha$  та  $IL6$ .

Регресійний аналіз показав, що на тлі нормоценозу колоніальна

резистентність визначалася фактично двома неспецифічними ефекторними чинниками імунного захисту – комплементом і фагоцитозом.

При дисбіозі I ступеня до числа ефекторних чинників приєднувалися лізоцим, sIgA та рН, з'являвся чинник специфічного імунітету – IgG, утворення якого потребує формування гуморальної імунної реакції за участю Т- і В-лімфоцитів та опосередковується інтерлейкінами ( $\gamma$ -INF і TNF $\alpha$ ).

При дисбіозі II ступеня провідного значення набували рівні регуляторних цитокінів (IL1 $\beta$  та IL10) і значення рН. Облігатні анаероби, які на тлі нормоценозу та дисбіозу I ступеня не проявляли зв'язку з чинниками колоніальної резистентності, при дисбіозі II ступеня мали зв'язок з рівнем IgG у вагінальному секреті. Отже, значне збільшення вмісту облігатних анаеробів приводило до запуску специфічної гуморальної імунної реакції.

З прогресуванням дисбіозу до фагоцитозу приєднуються такі захисні чинники, як лізоцим (контроль факультативних анаеробів), sIgA (контроль ПНБ, міко- та уреоплазм),  $\gamma$ -INF (контроль ПНБ) та утворення IgG (запускається ростом дріжджеподібних грибів); зниження кількості ЛБ і збільшення ІУПМ відображало зростання рН. Регуляторне значення мали рівні IL1 $\beta$  та IL10.

Узагальнення результатів показало, що реакція імунної системи у процесі розвитку БВ еволюціонувала від неспецифічної резистентності до індукованих цитокінами реакцій специфічного гуморального імунітету. Це положення вкладається у класичну парадигму імунної реактивності. При БВ формувався локальний вагінальний імунодефіцит, який, власне, і був причиною його розвитку. Пошук таких причин спонукав до аналізу ролі імунної реактивності організму на системному рівні та стану гормональної регуляції.

*Наступним етапом вивчено вплив системних імунних показників на колонізаційну резистентність слизової оболонки піхви.* Кількість у крові лімфоцитів за умов нормоценозу склала  $6,104 \pm 0,162$  Г/л, що дещо перевищувало норму (1,2-3 Г/л; 20-40%) та могло залежати від особливостей виконання аналізів у даній лабораторії. Оскільки у пацієток 1-ої групи не було відзначено запальних процесів та/або ознак інфекційних захворювань, такі значення нами були розцінені як варіант норми.

У групах з прогресуванням дисбіозу було відзначено значне підвищення вмісту лімфоцитів у крові, тобто – прогресування лімфоцитозу. Отже, за умов розвитку БВ (2-а підгрупа 3-ої групи) лімфоцитоз набував максимального значення і, навіть, перевищував такі значення при дисбіозі I та II ступенів (відповідно, у 1,4 рази та у 1,2 рази).

Кількість CD3-лімфоцитів у крові у порівнянні з 1-ю групою (нормоценоз) при дисбіозі I ступеня фактично не змінювалася, тоді як при дисбіозі II ступеня виявилася зменшеною – у 1,8 рази у 1-й підгрупі та у 2,7 рази у 2-й підгрупі. Максимальне зниження кількості CD3-лімфоцитів у крові було характерним для БВ.

У нашому дослідженні відзначено достеменно зниження кількості CD4-лімфоцитів у крові при вираженому дисбіозі, а саме у 3-й підгрупі 2-ої групи



та у 3-й групі у 1,3-1,8 рази. Максимальною мірою (у 1,8 рази) вміст CD4-лімфоцитів був зниженим при БВ. До того ж при БВ він був значуще нижче, ніж при дисбіозі (у 1,3 рази).

При нормоценозі та дисбіозі вміст у крові CD8-лімфоцитів майже не відрізнявся. Виключення склали пацієнтки з БВ, у яких відзначено підвищення вмісту у крові CD8-лімфоцитів (у 1,2 рази у порівнянні з нормоценозом).

Отже при дисбіозі на тлі загального лімфоцитозу мало місце поступове, пов'язане з наростанням його важкості, зменшення у крові вмісту лімфоцитів та таких їх субпопуляцій, як CD3- та CD4-лімфоцити, що було виражено максимальною мірою при БВ. Це дозволяло встановити прогресування Т-клітинного імунодефіциту при розвитку дисбіозу.

Виявлену закономірність підтверджувала та кількісно характеризувала динаміка ІРІ. У 3-й підгрупі 2-ої групи та у 3-й групі ІРІ був суттєво знижений у порівнянні з нормоценозом (у 1,4-2,2 рази). Причому при БВ ІРІ був знижений максимальною мірою – у 2,2 рази у порівнянні з нормоценозом, та у 1,5-1,6 рази у порівнянні з показниками при дисбіозі. При аналізі отриманих кількісних даних було встановлено, що величину ІРІ можна було вважати за діагностичний маркер розвитку дисбіозу. Величина ІРІ менше ніж  $q_1=1,340$  ум. од. була межею, нижче якої можна було статистично значимо діагностувати дисбіоз ( $F=20,47$ ;  $p<0,001$ ).

Вміст у крові CD16-лімфоцитів перевищував такий при нормоценозі у 3-й підгрупі 2-ої групи та у 3-й групі, причому приблизно однаковою мірою – у 1,1-1,2 рази. Така динаміка вказувала на активацію системи НК-клітин при прогресуванні дисбіозу.

ФАЛ та індекс ФАЛ у крові мали схожу динаміку – були зниженими при дисбіозі I ступеня у 3-й підгрупі та при дисбіозі II ступеня (максимальною мірою при БВ). Отже, за умов наростання тяжкості дисбіозу показано формування недостатності фагоцитозу, що було більшою мірою притаманне БВ. Таким чином, фагоцитарний дефіцит мав не тільки локальний, а й системний характер.

Стан системи гуморального імунітету за умов розвитку БВ також зазнавав певних змін. Зокрема, вміст у крові CD22-лімфоцитів перевищував такий при нормоценозі однаковою мірою у 3-й підгрупі 2-ої групи та у 1-й підгрупі 3-й групі (у 1,5 рази), тобто – за умов розвитку вираженого дисбіозу. Максимальною мірою вміст у крові CD22 був збільшений при БВ (у 2,1 рази;).

Локальний імунодефіцит на місцевому рівні проявлявся зниженням вмісту у вагінальному секреті IgA та sIgA, що відповідало системним реакціям, які теж характеризувалися зменшенням рівнів цих імуноглобулінів у крові. При цьому активувався синтез IgM, як у вагінальному секреті, так і системно. IgG і IgG<sub>2</sub> мали тенденцію до зниження у вагінальному секреті та збільшення – у крові. Тобто був наявний дисонанс реакції цих імуноглобулінів: активація на системному рівні та пригнічення на локальному.

Згідно з результатами дискримінантного аналізу, визначальну роль у розподілі на підгрупи залежно від ступеня дисбіозу відігравали показники

рівню у крові компонентів комплементу, регуляторних та прозапальних цитокінів. При нормоценозі ПНБ визначався активацією комплементу (C4), ФА – також активацією комплементу C3 та рівнем sIgA; ОА та ДГ – рівнем  $\gamma$ -INF, а ДГ ще й рівнями IL8, IL10 sIgA, результативна величина ІУПМ визначався ступенем активації В-лімоцитів (CD22). При дисбіозі I ступеня ПНБ залежав від низки факторів (CD22, IL6, IgM, IgG, індекс ФАЛ, ЦК, IL10), що вказувало на реалізацію різних механізмів та залучення майже всіх важелів імунної системи для компенсації дисбіозу на початку його формування. На кількість ОА при дисбіозі I ступеня окремо мали вплив IL6 та IL10, а на кількість мікоплазм – IL1 $\beta$  та IgG. При дисбіозі II ступеня на ПНБ жодні чинники не впливали, що само по собі вказувало на вихід дисбіотичних процесів з-під контролю імунної системи й віддзеркалювало розвиток системного імунодефіциту. Вміст у крові IL1 $\beta$  відображав зсув ІУПМ: при його рівні більше за 24,6 пг/мл був наявний дисбіоз II ступеня; при рівні IL1 $\beta$  від 9,6 пг/мл до 24,6 пг/мл – дисбіоз I ступеня, а при рівні менш, ніж 9,6 пг/мл – нормоценоз. Факторами, для яких анаеробний дисбіоз був провокуючим чинником була активація гуморальної ланки імунітету, а саме – секреція IgG та збільшення рівню IL10. Загальний аналіз зв'язку показників імунної системи у крові виявив розвиток системного комбінованого імунодефіциту та виходу найбільш патогенних мікроорганізмів з-під контролю імунної системи.

*Вивчення впливу показників системи гормональної регуляції на колонізаційну резистентність піхви.* Зі збільшенням ступеня дисбіозу вміст гонадотропних гормонів збільшувався, тоді як гормонів яєчників – зменшувався. Так, за умов дисбіозу I ступеня рівні ФСГ та ЛГ були збільшені у порівнянні з рівнями при нормо ценозі, відповідно, у 1,6-1,9 рази та у 1,3 рази. При дисбіозі II ступеня вони збільшувалися більшою мірою (відповідно, у 2,7-3,1 рази та 1,4-1,5 рази).

Рівні у крові E<sub>2</sub> і ПГ поступово знижувалися з розвитком дисбіозу та при дисбіозі I ступеня були менше за показники нормоценозу, у 1,6-2,3 рази, та у 1,5-1,7 рази, а при дисбіозі II ступеня – у 3,0-3,3 та у 1,2-2,0 рази відповідно.

Отже, за умов прогресування дисбіозу розвивався та посилювався первинний гіпергонадотропний гіпогонадизм, причиною якого міг бути розвиток висхідної інфекції та залучення у запальний процес яєчників.

Інші досліджені гормони також вказували на розвиток патологічних реакцій паралельно до прогресування вагінального дисбіозу. Так, рівень ТС за наявності вираженого дисбіозу (3-я підгрупа 2-ої групи та 3-я група) поступово збільшувався та при БВ перевищував показник нормоценозу у 1,7 рази. Поряд із прогресуючою гіпоестрогенією це свідчило про переключення секреції у яєчниках з естрогенів на андрогени (розвиток гіперандрогенії), що було характерно для розвитку аднекситів.

Рівень КР по мірі прогресування дисбіозу показував двофазову реакцію – був збільшеним у 1-й підгрупі (у 1,2 рази) та у 2-й підгрупі (у 1,4 рази) 2-ої групи. У 2-й підгрупі 2-ої групи рівень гормону у порівнянні з попередніми значеннями виявився зниженим та не відрізнявся від рівню при нормоценозі. У

2-й групі (при дисбіозі II ступеня) рівень КР був статистично значно зниженим у порівнянні з нормоценозом у 1,3-1,5 рази, а більшою мірою – при БВ (у 1,5 рази).

Отже, при дисбіозі основна стресова система організму – гіпоталамо-гіпофізарно-кортикоадrenalова при початковому та помірному дисбіозі зазнавала активації, а при вираженому дисбіозі та, особливо, БВ – виснаження.

Рівень у крові іншого стресового гормону – ПРЛ, виявився збільшеним, що набувало статистичної значущості за умов вираженого дисбіозу, тобто у 3-й підгрупі 2-ої групи та у 3-й групі, а максимальною мірою – при БВ (у 1,5 рази). Це, на наш погляд, відбивало розвиток стресової реакції, авжеж джерело хронічної інфекції напружує захисні сили організму та підвищує рівень напруженості у центральній нервовій системі.

Аналізуючи реакцію нейро-ендокринної системи з класичних позицій концепції про загальний адаптаційний синдром Г. Сельє, дисбіоз I ступеня можна вважати реакцією «тривоги», тоді як розвиток вираженого дисбіозу (дисбіоз II ступеня) та, особливо БВ, – реакцією «виснаження». Відповідно до цього, БВ також можна віднести до стресової патології з розвитком «дистрес-синдрому».

Отримані результати по впливу системи гормональної регуляції на показники мікробного біоценозу, місцевої колоніальної резистентності та імунної системи відображали формування єдиної гормонально-імунної системи, яка формується в умовах БВ.

*Прогнозування ризику виникнення та ступеня тяжкості дисбіозу та бактеріального вагінозу.* Значущі фактори для визначенні ступеня тяжкості дисбіозу (за ПНБ та ІУПМ) надано в табл. 8.

Таблиця 8

Роль значущих факторів колоніальної резистентності піхви та імунної системи у визначенні ступеня тяжкості дисбіозу (за ПНБ та ІУПМ)

Група	Знак коеф.	ПНБ		ІУПМ	
		ВС	Кров	ВС	Кров
Нормоценоз	+	-	ЦІК	sIgA, $\gamma$ -INF	-
	-	<b>C4, <math>\gamma</math>-INF</b>	TNF $\alpha$	<b>Лізоцим, TGF-1<math>\beta</math></b>	<b>C4, IL8</b>
Дисбіоз I ступеня	+	<b>C4, <math>\gamma</math>-INF</b>	ЦІК, TNF $\alpha$	Лізоцим	C4, IL8
	-	-	-	<b>sIgA, <math>\gamma</math>-INF, TGF-1<math>\beta</math></b>	-
Дисбіоз II ступеня	+	<b>C4</b>	TNF $\alpha$	<b>TGF-1<math>\beta</math></b>	<b>IL8</b>
	-	<b><math>\gamma</math>-INF</b>	<b>ЦІК</b>	<b>sIgA, Лізоцим <math>\gamma</math>-INF</b>	<b>C4</b>

Примітки: ВС – вагінальний секрет; «+» – позитивний знак коефіцієнту у лінійній нейромережевій моделі, «-» – від'ємний знак; жирним шрифтом виділені ефекторні фактори обмеження активації умовно-патогенної мікрофлори.

При нормоценозі від'ємні знаки коефіцієнтів (тобто такі, які знижували ІУПМ) мали вміст у вагінальному секреті лізоциму і TGF-1 $\beta$  та вміст у крові компоненту комплементу C4 та IL8. Отже до числа ефекторних факторів підтримки нормоценозу у вагінальному секреті, крім комплементу (C4), як це було показано для ПНБ, можна було додати лізоцим, та активацію комплементу (C4) у крові. Рівень у вагінальному секреті sIgA мав позитивний знак коефіцієнту, тобто підвищувався паралельно із зростанням ІУПМ, що свідчило про наявність цієї імунної реакції, але – і про неефективність цього фактору у плані стримування росту умовно-патогенної мікрофлори. Такий стан імунної системи при нормоценозі можна характеризувати як контрольований по відношенню до розвитку вагінального дисбіозу.

Знижували прогресію вагінозу вміст у вагінальному секреті  $\gamma$ -INF, у крові TNF $\alpha$ , як це було показано для ПНБ та, за впливом на ІУПМ, можна було додати вміст у вагінальному секреті TGF-1 $\beta$ , а у крові – вміст IL8. Підвищувалися паралельно з ПМУ такі фактори як вміст у крові ЦІК (за ПНБ) та вміст у вагінальному секреті sIgA та  $\gamma$ -INF (за ІУПМ). Ці три фактори були маркерами росту умовно-патогенної мікрофлори при нормоценозі та є можливим рекомендувати їх використання як доклінічних тестів щодо розвитку вагінального дисбіозу.

При дисбіозі I ступеня за ПНБ від'ємного знаку коефіцієнтів не мав жодний з показників, тобто всі мали позитивні знаки, а, отже, сприяли підвищенню ПНБ. За ІУПМ можна було додати до цієї купи вміст у вагінальному секреті лізоциму, а у крові – C4 та IL8. Тобто ця низка факторів віддзеркалювала активацію умовно-патогенної мікрофлори, яка таким чином набувала властивості неконтрольованого процесу: і система комплементу, і лізоцим втрачали здатність пригнічувати активацію умовно-патогенної мікрофлори. На нашу думку, саме ці механізми полягали у основі початку розвитку імунорезистентності та формування локального та системного імунодефіциту при дисбіозі II ступеня. Це, у свою чергу, сприяло набуттю патогенною мікрофлорою здатності до самопідтримання та прогресивної самостимуляції.

За показником ІУПМ виявилися й фактори, які протидіяли росту умовно-патогенної мікрофлори. Це були рівні sIgA,  $\gamma$ -INF та TGF-1 $\beta$  у вагінальному секреті. Ці показники, на нашу думку, відображали розвиток вторинних імунних реакцій, які розгорталися пізніше – при дисбіозі II ступеня, та були викликані збільшенням антигенного навантаження.

При дисбіозі II ступеня за ПНБ від'ємні знаки коефіцієнтів з'являлися для вмісту у вагінальному секреті  $\gamma$ -INF та вмісту у крові ЦІК. За ІУПМ можна було додати ще вміст у вагінальному секреті sIgA, лізоциму та  $\gamma$ -INF, а у крові – рівень комплементу (C4). Стан імунної системи при дисбіозі II ступеня за ПНБ віддзеркалювали активація комплементу (C4) у вагінальному секреті та прогресивне збільшення у крові TNF $\alpha$ , а за ІУПМ – ще й рівні TGF-1 $\beta$  у вагінальному секреті та IL8 у крові.

*Таким чином, отримані за допомогою математичного аналізу дев'ять факторних ознак дозволили с високим рівнем точності прогнозувати ступень*

тяжкості вагінального дисбіозу та розраховувати показники ПНБ та ІУПМ. Крім того, показана фазність розвитку реакції імунної системи при розвитку вагінального дисбіозу – від стану контрольованості при нормоценозі до розвитку імунорезистентності при дисбіозі I ступеня та вираженого комбінованого імунодефіциту при наявності реакцій специфічної гуморальної відповіді на бактеріальні антигени при дисбіозі II ступеня.

Побудова логістичної моделі регресії показала, що ризик розвитку дисбіозу за ПНБ статистично значимо ( $p=0,002$ ) підвищується при підвищенні рівня в крові IL2, на кожен одиницю виміру (нг/мл). Встановлено підвищення ризику розвитку дисбіозу за ПНБ при підвищенні рівня в крові TNF $\alpha$ , на кожен одиницю виміру (нг/мл).

Побудована лінійна нейромережева модель для визначення ступеня тяжкості дисбіозу за показником ПНБ, до якої увійшли рівні у вагінальному секреті компоненту комплементу C4 та  $\gamma$ - INF, а також вміст у крові ЦІК та TNF $\alpha$ . Показник згоди каппа Коена для цієї моделі на навчальній множині склав  $\kappa=0,87$ , на підтверджувальній множині  $\kappa=0,89$ , що свідчило про адекватність побудованій моделі. Створено інтерфейс експертної системи прогнозування ступеня тяжкості дисбіозу за ПНБ.

Побудова логістичної моделі регресії показала, що ризик розвитку дисбіозу за ІУПМ статистично значимо знижувався при підвищенні рівня у вагінальному секреті IL10 на кожен одиницю (пг/мл) та – ( $p=0,019$ ) при підвищенні вмісту у крові IL4 на кожен одиницю (пг/мл).

Побудована лінійна нейромережева модель для визначення ступеня тяжкості дисбіозу за показником ІУПМ, до якої увійшли рівні у вагінальному секреті секреторного IgA, лізоциму,  $\gamma$ - INF і TGF 1 $\beta$ , а також вміст у крові компоненту комплементу C4 і IL8. Показник згоди каппа Коена для цієї моделі на навчальній множині склав  $\kappa=0,99$ , на підтверджувальній множині  $\kappa=0,95$ , що свідчило про адекватність побудованої моделі. Створено інтерфейс експертної системи прогнозування ступеня тяжкості дисбіозу за ІУПМ.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та експериментально-клінічне обґрунтування вирішення актуальної наукової проблеми, а саме підвищення ефективності діагностики і точності прогнозування розвитку бактеріального вагінозу шляхом визначення впливу нейрогуморальної регуляції, імунного статусу та місцевих факторів колонізаційної резистентності на вагінальний мікробіоценоз.

1. За відсутності ознак інфекційно-запального процесу при ІУПМ $\leq$ 3 Іг GE/зразок у жінок мав місце нормоценоз із переважанням серед факультативно анаеробної флори ентеробактерій (98,1 %), серед облигатно анаеробної – *Mobiluncus* spp. (81,1 %) та *Eubacterium* spp. (69,8 %). Абсолютна кількість умовно патогенних мікроорганізмів не перевищувала  $10^{4,5}$ . Представники видів *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp. і *Mycoplasma*

*hominis+genitalium* при нормоценозі не виявлялися.

2. При дисбіозі I ступеня (ІУПМ від -3 lg ГЕ/зразок до -1 lg ГЕ/зразок) спостерігалось зниження ЗБМ (на 1,8% у порівнянні з нормоценозом;  $p < 0,05$ ) і кількості ЛБ (на 8,0%;  $p < 0,05$ ) на тлі збільшення частоти та вмісту анаеробів, серед яких переважали *Mobiluncus* spp. + *Corynebacterium* spp. (87,5 %) та *Eubacterium* spp. (79,7 %); їх кількісний вміст був більшим, ніж при нормоценозі (на 54,3 % і 78,0 %, відповідно  $p < 0,05$  в обох випадках). ПНБ був більшим при дисбіозі I ступеня у порівнянні з нормоценозом (у 6,0 разів;  $p < 0,05$ ). З'являлися представники *Sneathia* spp. + *Leptotrihia* spp. + *Fusobacterium* spp. (у 12,5 % випадків у кількості, меншій від 4 lg ГЕ/зразок) і *Mycoplasma hominis+genitalium* (у 8,0 % випадків у кількості до 3 lg ГЕ/зразок). Порушення біоценозу піхви розпочиналися з розвитку анаеробного дисбіозу.

3. При дисбіозі II ступеня (ІУПМ  $> -1$  lg ГЕ/зразок) ЗБМ була нижче на 12,5 % у порівнянні з нормоценозом та на 10,9 % – з дисбіозом I ступеню ( $p < 0,05$  в обох випадках). Кількість ЛБ була меншою на 35,1 % від нормоценозу і на 29,4 % від дисбіозу I ступеня ( $p < 0,05$  в обох випадках). Серед факультативних анаеробів виявлено *Enterobacterium* spp., *Streptococcus* spp. і *Staphylococcus* spp. у кількостях понад норму (5,4 lg ГЕ/зразок, 3,7 lg ГЕ/зразок і 3,6 lg ГЕ/зразок, відповідно). Виявлено всі види облигатних анаеробів у кількостях, які на декілька порядків перевищують норму, а також представників видів *Sneathia* spp. / *Leptotrihia* spp. / *Fusobacterium* spp. (5,5 lg ГЕ/зразок), які при нормоценозі не виявляються взагалі. Крім того, виявлено нехарактерні для нормоценозу мікоплазми у кількості 1,7 lg ГЕ/зразок.

4. Максимальною мірою збільшення частоти та абсолютної кількості стрептококів та облигатних анаеробів виявлено при ПНБ понад 1,0 lg ГЕ/зразок, коли мав місце виражений анаеробний дисбіоз з наявністю патогенних *Sneathia* spp. + *Leptotrihia* spp. + *Fusobacterium* spp. і *Mycoplasma hominis+genitalium*, що дозволило встановити бактеріальний вагіноз. Результати кореляційного аналізу продемонстрували, що зі збільшенням ступеня дисбіозу зменшується пряма залежність ЗБМ і кількості ЛБ та збільшуються кількість і сила позитивних зв'язків показників умовно патогенної мікрофлори (але не дріжджеподібних грибів). Вочевидь, при бактеріальному вагінозі ця мікрофлора набуває властивостей самопідтримання та прогресивної самостимуляції.

5. ЗБМ мала зворотну залежність від віку та ступеня вагінального дисбіозу ( $F=4,313$ ;  $p=0,016$ ) при дисбіозі II ступеня, коли вона була значуще нижчою в усіх вікових підгрупах порівняно з показниками нормоценозу та дисбіозу I ступеня (в 1,1-1,2 рази;  $p < 0,05$ ). З віком і поглибленням дисбіозу, ПНБ багаторазово збільшувався (у віковій підгрупі старше 45 років при дисбіозі II ступеня він був більшим за такий у тій же підгрупі при дисбіозі I ступеня 25 разів;  $F=5,409$ ;  $p=0,022$ ). При дисбіозі I ступеня існує зворотний зв'язок частоти *Ureaplasma urealyticum+parvum* і кандид від віку ( $F=6,7$ ;  $p=0,002$  і  $F=6,1$ ;  $p=0,003$ , відповідно). При дисбіозі II ступеня з віком зникають стрептококи, знижується число *Eubacterium* spp. зі збільшенням частоти облигатних анаеробів, надто *Mobiluncus* spp. + *Corynebacterium* spp. та *Atopobium*

*vaginae*. Існує зворотний зв'язок частоти кандид від віку ( $F=3,6$ ;  $p=0,032$ ).

6. Гуморальна ланка місцевої колоніальної резистентності активувалась при дисбіозі I ступеня та пригнічувалась на тлі БВ, коли вкрай низькі рівні у вагінальному секреті секреторного IgA (у 2,2 рази від рівню при нормоценозі) та лізоциму (у 7,0 рази) вказували на глибокий локальний неспецифічний імунodefіцит. Різке зниження ФАЛ (у 5,4 рази), індексу ФАЛ (у 5,4 рази), імунних комплексів (у 2,0 рази) та компонентів комплементу С3 і С4 (у 5-6 разів) дозволяли констатувати наявність при БВ комбінованого локального імунodefіциту. Всі прозапальні інтерлейкіни продемонстрували приріст рівня у вагінальному секреті (у 2,1-3,4 рази) та виражену реакцію на активацію умовно патогенної мікрофлори (при дисперсійному аналізі F склав від 150,4 до 298,4). При нормоценозі колоніальна резистентність визначалась комплементом і фагоцитозом ( $p<0,02$ ). При дисбіозі I ступеня – лізоцимом, sIgA, рН та IgG, серед інтерлейкінів мали значення  $\gamma$ -INF і TNF $\alpha$  ( $p<0,04$ ). При дисбіозі II ступеня – рівнями регуляторних цитокінів (IL1 $\beta$  та IL10) і значенням рН ( $p<0,04$ ). Кількості облигатних анаеробів при дисбіозі II ступеня залежали від рівня IgG у вагінальному секреті ( $p=0,013$ ). При бактеріальному вагінозі регуляторне значення набували IL1 $\beta$  та IL10 ( $p<0,04$ ). Реакція імунної системи у процесі розвитку БВ еволюціонувала від неспецифічної резистентності до індукованих цитокінами реакцій специфічного гуморального імунітету.

7. При дисбіозі на тлі загального лімфоцитозу мало місце поступове, пов'язане з наростанням важкості дисбіозу, зменшення у крові вмісту CD3- та CD4-лімфоцитів, що було виражено максимальною мірою при БВ (від нормоценозу у 2,7 і 1,7 рази відповідно), що вказувало на прогресування Т-клітинного імунodefіциту при розвитку дисбіозу. Збільшення CD8 відзначено тільки при БВ (у 1,2 рази). Виявлена залежність ступеня прогресування дисбіозу та активації НК-клітин (CD16) та В-лімфоцитів (CD22), яка сягала максимального ступеня при ДБ (у 1,2 та 2,1 рази, відповідно). За умов наростання тяжкості дисбіозу показано формування недостатності фагоцитозу, особливо при БВ. Гуморальний імунodefіцит проявлявся зниженням при бактеріальному вагінозі IgA (у 1,5 рази) та sIgA (у 2,1 рази) на тлі збільшення IgM (у 2,0 рази). IgG і IgG<sub>2</sub> мали тенденцію до збільшення у крові. Рівень у крові всіх цитокінів збільшувався з поглибленням ступеня дисбіозу, та сягав максимуму при БВ у порівнянні з нормоценозом (у 3,0-6,0 рази). Реакція  $\gamma$ -INF була двофазною: при дисбіозі мала місце активація синтезу, тоді як при вираженому дисбіозі та при БВ – пригнічення його синтезу. Рівні IL4 та IL10 знижались по підгрупах відповідно до стадії дисбіозу, що максимальною мірою було виражене при БВ (у 5,5 та 5,1 рази, відповідно). Згідно до результатів дискримінантного аналізу, визначальну роль відігравали показники рівню комплементу, регуляторних та прозапальних цитокінів ( $p<0,001$ ) у крові. Загальний аналіз зв'язку показників імунної системи у крові виявив розвиток системного комбінованого імунodefіциту та вихід найбільш патогенних мікроорганізмів з-під контролю імунної системи.

8. Реакція гормональних систем при дисбіозі характеризувалась

розвитком первинного гіпергонадотропного гіпогонадизму з гіпоестрогенією та гіперандрогенією; «дистрес-синдрому» (гіпокортицизм та гіперпролактинемія) та функціонального дистіреозу (відповідні гормональні зсуви мають статистичну значимість розбіжностей на рівні  $p < 0,001$ ). Дискримінантний аналіз показав, що ступінь дисбіозу відбивали рівні у крові КР, ФСГ та Е<sub>2</sub> ( $p < 0,001$ ). Отже, напруженість глюкокортикоїдної регуляції та ступінь порушення гормональної функції яєчників (первинний гіпогонадизм та гіперандрогенемія) були визначальними факторами для прогресування дисбіозу.

9. Побудовано логістичні моделі регресії, які оцінюють ризик розвитку дисбіозу та ступень його тяжкості за показником нормобіоти та індексом умовно-патогенної мікрофлори; виявлено основні прогностичні показники, до яких відносилися рівні у крові ІЛ2, TNF $\alpha$  та ЦІК, у вагінальному секреті – компонента комплементу С4 та  $\gamma$ -ІNF для показника нормобіоти; а для індексу умовно-патогенної мікрофлори – рівні у крові компоненту комплементу С4, ІЛ8 і ІЛ4, а у вагінальному секреті – секреторного ІgА, лізоциму,  $\gamma$ -ІNF, TGF 1 $\beta$  та ІЛ10. Отримані результати по взаємовпливу показників мікробного біоценозу, місцевої колоніальної резистентності, імунної системи та системи гормональної регуляції відображали єдину дизрегуляторну патологічну гормонально-імунну систему, яка формується в умовах вагінального дисбіозу та призводить до розвитку бактеріального вагінозу.

### ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для впровадження у практику діагностичних та лікувальних закладів запропоновані граничні показники для нормоценозу, коли переважають факультативні анаероби (35%); частка облигатних анаеробів складає 30%, дріжджеподібних грибів – 25, міко-/уреаплазм – 10%. При ПЛР-дослідженні кількість маркерного для бактеріального вагінозу *Atopobium vaginae* не повинно перевищувати 0,735 Іg ГЕ/зразок. Кількість *Ureaplasma urealyticum+parvum* не повинно перевищувати 1,561 Іg ГЕ/зразок. Представники *Candida* spp. Мають виявлятися у кількості щонайбільше 3,219 Іg ГЕ/зразок. Представники *Sneathia* spp., *Leptotrichia* spp., *Fusobacterium* spp., а також *Mycoplasma hominis+genitalium* при нормоценозі не мають виявлятися.

2. Клінічну діагностику вагінальних дисбіозів рекомендовано підтверджувати наступними лабораторними критеріями: показник ІРІ є діагностичним чинником як для формування дисбіозу (ІРІ < 1,340 ум. од.), так і для діагностики БВ (ІРІ < 0,800 ум. од.); Вміст у крові ІЛ1 $\beta$  відображав зсув ІУПМ: при його рівні більше за 24,6 пг/мл був наявний дисбіоз ІІ ступеня; при рівні ІЛ1 $\beta$  від 9,6 пг/мл до 24,6 пг/мл – дисбіоз І ступеня, а при рівні менш, ніж 9,6 пг/мл – нормоценоз.

3. Прогнозування ризику розвитку дисбіозу є можливим шляхом побудови логістичних моделей регресії за ПНБ та ІУПМ, причому ризик розвитку дисбіозу за ПНБ статистично значимо підвищується при підвищенні рівня в крові ІЛ2 і TNF $\alpha$  (на кожен одиницю виміру (нг/мл)). За ІУПМ ризик



розвитку дисбіозу статистично значимо знижується при підвищенні рівня у вагінальному секреті IL10 та при підвищенні вмісту у крові IL4 на кожен одиницю (пг/мл).

4. Використання факторних ознак поряд з побудовою лінійних нейромережкових моделей за ПНБ (факторні ознаки: рівні у вагінальному секреті компоненту комплементу C4 та  $\gamma$ -INF, вміст у крові ЦІК та TNF $\alpha$ ) та за показником ІУПМ (рівні у вагінальному секреті секреторного IgA, лізоциму,  $\gamma$ -INF і TGF1 $\beta$ , вміст у крові компоненту комплементу C4 і IL8.) може бути рекомендоване для визначення ступеня тяжкості дисбіозу та прогнозування його перебігу. Створено також інтерфейс експертної системи прогнозування ступеня тяжкості дисбіозу за ПНБ та ІУПМ для Excel 2003, 2010 (Microsoft, США), який може бути рекомендований для прогнозування ступеня тяжкості дисбіозів, прогнозування вірогідності їх розвитку.

### СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Hruzevskiy O. A. Value of conditionally-pathogenic microflora index as predicting factor of bacterial dysbiosis' development. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10, № 11. P. 312–319. doi: 10.12775/JEHS.2020.10.11.032
2. Hruzevskiy O.A. Influence of local factors of colonization resistance on vaginal microbial biocenosis. *European Journal of Technical and Natural Sciences*. 2020. № 3. P. 7–15. doi: 10.29013/EJTNS-20-3-7-15
3. Hruzevskiy O.A., Minukhin V.V., Venger A.M. Model for predicting the vaginal dysbiosis' severity according to the index of conditionally pathogenic microflora. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10, № 7. P. 456–464. doi: 10.12775/JEHS.2020.10.07.047 (дисертантом сформовано групи обстеження, аналіз літератури, інтерпретація одержаних даних, написання та редагування статті)
4. Hruzevskiy O. A. status of cellular immunity in bacterial dysbiosis and bacterial vaginosis. *Austrian Journal of Technical and Natural Sciences*. 2020. № 5-6. P.14–21. doi: 10.29013/AJT-20-5.6-14-21
5. Грузевський О. А. Стан системи цитокінів при бактеріальному дисбіозі та бактеріальному вагінозі. *Science Rise: Medical Science*. 2020. Vol. 36, № 3. P. 50–56. doi: 10.15587/2519-4798.2020.204094
6. Грузевський О. А., Мінухін В. В. Стан гуморального імунітету при бактеріальному дисбіозі та бактеріальному вагінозі. *Annals of Mechnikov Institute*. 2020. № 2. С. 50–56. doi: 10.5281/zenodo.3885147 (дисертантом сформовано групи обстеження, аналіз літератури, написання статті).
7. Грузевський О. А., Мінухін В. В., Дзигал А. Ф. Стан неспецифічного імунітету при бактеріальному дисбіозі та бактеріальному вагінозі. *Medical Science of Ukraine*. 2020. Vol.16, № 1. С. 8–15. doi: 10.15587/2519-4798.2020.204094 (концепція і дизайн дослідження, аналіз літературних даних, планування і організація досліджень та участь у їх проведенні, аналіз, статистична обробка та інтерпретація одержаних результатів, написання статті).

8. Hruzevskiy O. A., Minukhin V. V., Vastyanov R. S. The relationship between the immune system activity and the bacterial vaginosis development. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10, №3. P. 272–286. doi: 10.12775/JEHS.2020.10.03.029 (концепція і дизайн дослідження, аналіз наукової літератури, планування, організація та проведення досліджень, участь в аналізі і інтерпретації отриманих даних, написання та редагування статті).
9. Грузевський О. А. Вплив гормональної регуляції на колонізаційну резистентність піхви при бактеріальному дисбіозі. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2020. Vol. 20, №2 (70). С. 31–37. doi: 10.31718/2077-1096.20.2.31
10. Hruzevskiy O. A. Bacterial dysbiosis risk prediction according to vaginal normobiota indicator. *The European Science Review*. 2020. № 5–6. P.13–21. doi: 10.29013/ESR-20-5-6-13-21
11. Hruzevskiy O. A., Minukhin V. V. The vaginal bacterial dysbiosis severity predicting model according to the normobiota index. *Вісник морфології*. 2020. Vol. 26, № 3. С. 24–30. doi: 10.31393/morphology-journal-2020-26(3)-03 (дисертантом проведено аналіз даних наукової літератури, участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, аналізі одержаних результатів та написанні статті).
12. Hruzevskiy O. A., Minukhin V. V. The stress hormones effect on the progression of vaginal bacterial dysbiosis. *Вісник Вінницького національного медичного університету*. 2020. Vol. 24, № 3. С. 455–459. doi: 10.31393/reports-vnmedical-2020-24(3)-14 (дисертантом проведено добір, аналіз та систематизація матеріалу, написання статті, передредакційна підготовка)
13. Gruzevskiy A. A. Colonization resistance of vaginal secretion. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019. Vol. 9, №2. P. 583–595. doi:10.5281/zenodo.39931
14. Грузевський О.А. Мікроекологія, нормальна мікрофлора піхви. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2019. Vol. 56, №2. P. 23–31.
15. Грузевський О. А. Бактеріальний вагіноз: стан імунної системи. *Вісник морської медицини*. 2019. Vol. 83, № 2. С.128–134. doi: 10.5281/zenodo.3267492
16. Gruzevskiy O. A. Vaginary microflora spectrum at bacterial vaginosis of different degree. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2019. Vol. 55, № 1. P.119–123. doi:10.5281/zenodo.2614464
17. Грузевський О.А. Вплив показників системи гормональної регуляції на колонізаційну резистентність піхви. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2019. Vol. 58, № 4. С. 104–111. doi:10.5281/zenodo.3611199
18. Грузевський О. А. Показники системи гормональної регуляції колонізаційної резистентності піхви. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2018. Vol. 51, № 1. С. 84–90.
19. Грузевський О. А., Шевчук Г. Ю., Дубіна А. В. Прогнозування ризику розвитку дисбіозу за показником індексу умовно-патогенної мікрофлори. *Вісник Вінницького національного медичного університету*. 2018. Vol. 22, №2. С. 333–338. (дисертантом проведено концепція і дизайн дослідження, аналіз наукової

літератури, планування, організація та проведення досліджень, аналіз, інтерпретація та статистична обробка одержаних результатів, написання та редагування статті).

20. Gruzevskiy A. A. Index of conditionally-pathogenic microflora: forecasting the risk of dysbiosis development. *Journal of Education, Health and Sport*. 2018. Vol. 8, № 1. P. 406–413. doi:10.5281/zenodo.39931

21. Gruzevskiy A. A. Clinical and laboratory criteria for diagnosis of bacterial vaginosis. *Journal of Education, Health and Sport*. 2018. Vol. 8, № 6. P. 495–506. doi: 10.5281/zenodo.39931

22. Грузевский А. А., Зяблицев С. В., Чернобривцев П. А. Частота встречаемости условно-патогенной микрофлоры влагалища в зависимости от возраста при нормоценозе и дисбиозе. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. Vol. 7, № 2. С. 509–522. doi:10.5281/zenodo.399315. (дисертантом проведено аналіз наукової літератури, планування, організація та участь у проведенні досліджень, аналіз та статистична обробка одержаних результатів, написання статті)

23. Грузевський О. А. Колонизаційна резистентність при вагінальному дисбіозі: стан гуморального і клітинного зв'язків. *Вісник морської медицини*. 2017. Vol. 77, № 4. С. 103–107.

24. Грузевський О. А. Нормоценоз піхви: якісні і кількісні характеристики. *Одеський Медичний журнал*. 2015. Vol. 147, № 1. С. 36–41.

25. Грузевський О. А., Владимірова М. П. Результати комплексного бактеріологічного дослідження вмісту піхви за умов бактеріального вагінозу. *Досягнення біології та медицини*. 2014. № 2. С. 54–57. (дисертантом проведено добір, аналіз та систематизація матеріалу).

26. Грузевский А. А. Мультиплексное определение микробного пейзажа влагалища. *Питання експериментальної та клінічної медицини*. 2014. Vol. 18, № 3. С. 67–74.

27. Спосіб визначення ступеня впливу місцевих факторів колонізаційної резистентності на біоценоз піхви : пат. 139407 Україна. u 2019 04714 / О. А. Грузевський ; заявл. 02.05.2019 ; опубл. 10.01.2020, Бюл. № 1. 4 с. (дисертантові належить ідея розробки нового способу визначення впливу місцевих факторів колонізаційної резистентності на біоценоз піхви, пошук наукової патентної літератури та визначення формули корисної моделі, планування та участь у проведенні досліджень, аналіз та статистична обробка результатів, оформлення заявки на винахід).

28. Використання імунорегуляторного індексу для покращення діагностики вагінального дисбіозу та бактеріального вагінозу : [інформ. лист] / О. А. Грузевський, В. В. Мінухін, Г. Ю. Шевчук, А. В. Дубіна. 2021. Вип. 49. 9 с. (дисертантові належить ідея розробки нового способу використання імунорегуляторного індексу для покращення діагностики вагінального дисбіозу та бактеріального вагінозу, планування та участь у проведенні досліджень, розробці та підготовці до опублікування інформаційного листа).

29. Використання нейромережевих моделей для прогнозування ризику

розвитку дисбіозу за показником нормобіоти : [інформ. лист] / О. А. Грузевський, В. В. Мінухін, Г. Ю. Шевчук, А. В. Дубіна. 2021. Вип. 48. 7 с. *(дисертативі належить ідея розробки нового способу використання нейромережесих моделей для прогнозування ризику розвитку дисбіозу за показником нормобіоти, планування та участь у проведенні досліджень, розробці та підготовці до опублікування галузевого нововведення).*

30. Регресійний аналіз залежності мікробного біоценозу від показників гормональної регуляції / Грузевський О. А., Ніколаєва О. В., Шевчук Г. Ю., Кобильник С. М., Кагляк М. Д., Дубіна А. В. *Медичні та фармацевтичні науки: історія, сучасний стан та перспективи досліджень* : матеріали міжнародної науково-практичної конференції (16-17 жовтня 2020 р.). Одеса, 2020. С. 35–38. *(дисертантом проведено аналіз даних наукової літератури, участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, аналіз, статистична обробка одержаних результатів та написання тез).*

31. Визначення залежності групових та розрахункових показників мікробного біоценозу від вмісту гормонів у крові при вагінальному нормо- і дисбіозі / Грузевський О. А., Ніколаєва О. В., Авратинський О. Й., Кобильник С. М., Кагляк М. Д., Дениско Т. В. *Вітчизняна та світова медицина: вимоги сьогодення* : матеріали міжнародної науково-практичної конференції (9-10 жовтня 2020 р.). Дніпро, 2020. С. 20–23. *(дисертантом проведено аналіз даних наукової літератури, участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, аналіз та статистична обробка одержаних результатів, написання тез).*

32. Вміст регулюючих гормонів у крові при вагінальному дисбіозі Іта ІІ ступенів / Грузевський О. А., Ніколаєва О. В., Авратинський О. Й., Кобильник С. М., Кагляк М. Д., Дениско Т. В. *Медичні науки: історія розвитку, сучасний стан та перспективи досліджень* : матеріали міжнародної науково-практичної конференції (25-26 вересня 2020 р.). Львів, 2020. С. 13–17. *(дисертантом проведено аналіз даних наукової літератури, участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, аналіз та інтерпретація одержаних результатів, написання тез).*

33. Дослідження показників колонізаційної резистентності вагінальної рідини / Грузевський О. А., Дубіна А. В., Радкевич К. В., Табуліна А. М., Шевчук Г. Ю. *Проблеми та стан розвитку медичної науки та практики в Україні* : матеріали міжнародної науково-практичної конференції (12-13 червня 2020 р.). Дніпро, 2020. С. 90–94. *(дисертантом проведено аналіз даних наукової літератури, участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, аналіз одержаних результатів та написання тез)*

34. Вплив показників системи гормональної регуляції на колонізаційну резистентність піхви / Грузевський О. А., Ніколаєва О. В., Шевчук Г. Ю., Авратинський О. Й., Кобильник С. М., Кагляк М. Д., Дениско Т. В. *Досягнення медичної науки як чинник стабільності розвитку медичної практики* : матеріали міжнародної науково-практичної конференції (13-14 березня 2020 р.). Дніпро, 2020. С. 55–59. *(дисертантом проведено аналіз даних наукової літератури, участь у плануванні та проведенні експериментальних досліджень, аналіз одержаних результатів та написання тез)*

літератури, організація, планування, участь у проведенні експериментальних досліджень та аналізі одержаних результатів, написання тез)

35. Дослідження нормофлори вмісту цервікального каналу та склепіння піхви / Грузевський О. А., Дубіна А. В., Радкевич К. В., Табуліна А. М., Шевчук Г. Ю. *Особливості модернізації предмету досліджень представників медичних наук* : матеріали міжнародної науково-практичної конференції (5-6 червня 2020 р.). Київ, 2020. С. 89–93. (дисертантом сформовано групи обстеження та підготовка тез до друку).

36. Hruzevskyi O. A. The cytokine levels in patients with bacterial dysbiosis. *Innovative development of science and education* : Abstracts of IV International Scientific and Practical Conference. ISGT Publishing House, Athens, Greece, 2020. P. 44–46.

37. Hruzevskyi O. A. Bacterial dysbiosis as vaginal normobiota indicator. *Dynamics of the development of World Science* : Abstracts of X International Scientific and Practical Conference. Perfect Publishing. Vancouver, Canada, 2020. P. 71–73.

38. Грузевський О. А., Дубіна А. В., Шевчук Г. Ю. Частота умовно-патогенної мікрофлори у вмісті цервікального каналу та склепіння піхви залежно від віку на тлі нормоценозу та дисбіозу. *Мікробіологічні читання пам'яті професора Ю. Л. Волянського* : матеріали науково-практичної конференції (12 лютого 2020 р.). Харків, 2020. С. 45–46. (дисертантом проведено підбір матеріалу та написання тез)

39. Грузевський О. А., Шевчук Г. Ю., Дубіна А. В. Прогнозування ризику розвитку дисбіозу за показником індексу умовно-патогенної мікрофлори. *Актуальні проблеми мікробіології, вірусології та імунології* : матеріали наукової конференції (5 листопада 2019 р.). Вінниця, 2019. С. 46–48. (дисертантом проведено аналіз даних наукової літератури, планування, організація та проведення експериментальних досліджень, участь в аналізі одержаних результатів та написання тез).

40. Грузевський О. А., Шевчук Г. Ю., Дубіна А. В. Дослідження вмісту цервікального каналу та склепіння піхви при бактеріальному вагінозі. *Сучасні проблеми світової медицини та її роль у забезпеченні здоров'я світового співтовариства* : матеріали міжнародної науково-практичної конференції (15-16 лютого 2019 р.). Одеса, 2019. С. 81–83. (дисертантом сформовані групи обстеження, аналіз та систематизація матеріалу).

41. Грузевський О. А., Шевчук Г. Ю., Дубіна А. В. Вплив місцевих чинників на колонізаційну резистентність вагінального секрету. *Актуальні досягнення медичних наукових досліджень в Україні та країнах ближнього зарубіжжя* : матеріали міжнародної науково-практичної конференції (4-5 жовтня 2019 р.). Київ, 2019. С. 81–84. (дисертантом сформовано групи обстеження та підготовка тез до друку).

42. Грузевський О. А. Мікробіологічні характеристики нормоценозу піхви. *Ключові питання наукових досліджень у сфері медицини у XXI столітті* : матеріали міжнародної науково-практичної конференції (14-15 квітня 2017 р.).

Дніпро, 2017. С. 34–38.

43. Грузевський О. А. Частота виявлення умовно-патогенної мікрофлори у вмісті цервікального каналу та склепіння піхви залежно від віку при дисбіозі. *Медицина наука та практика на сучасному історичному етапі : матеріали міжнародної науково-практичної конференції (5-6 травня 2017 р.)*. Київ, 2017. С. 39–45.

44. Грузевський О. А. Кількісний та якісний склад мікрофлори піхви при бактеріальному дисбіозі різного ступеня. *Сучасний вимір медичної науки та практики : матеріали міжнародної науково-практичної конференції (12-13 травня 2017 р.)*. Дніпро, 2017. С. 6–10.

45. Грузевський О. А. Використання індексу умовно-патогенної мікрофлори для діагностики бактеріального дисбіозу. *XV з'їзд Товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського : зб. тез доп. (11-15 вересня 2017 р.)*. Львів, 2017. С. 183.

46. Грузевський О. А. Мікробна екологія піхви та склад її нормальної мікрофлори. *Актуальні питання сучасної медицини : досвід Польщі та України : матеріали міжнародної науково-практичної конференції (м. Люблін, Польща, 20-21 жовтня 2017 р.)*. Lublin: Izdevniciba «Baltija Publishing», 2017. Р. 30–33.

47. Грузевський О. А. Мікробний пейзаж отделяемого влагалища у женщин дітородного возраста. *Медицина наука та практика: актуальні питання взаємодії : матеріали міжнародної науково-практичної конференції (4-5 вересня 2015 р.)*. Київ, 2015. С. 40–44.

48. Грузевський О. А. Спектр мікрофлори влагалища при бактеріальному вагінозі різної ступені. *Вітчизняна та світова медицина: вимоги сьогодення : матеріали міжнародної науково-практичної конференції (9-10 жовтня 2015 р.)*. Дніпро, 2015. С. 22–27.

## АНОТАЦІЯ

**Грузевський О. А. Вплив місцевих факторів колонізаційної резистентності, імунного статусу та стану нейрогормональної регуляції на розвиток та прогресування бактеріального вагінозу. – На правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія. – Державна установа «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України». Харків, 2021.

Дисертація присвячена проблемі підвищення ефективності діагностики та прогнозування розвитку бактеріального дисбіозу та вагінозу шляхом визначення впливу місцевих факторів колонізаційної резистентності, імунного статусу та стану нейрогормональної регуляції.

Конкретизовано якісні та кількісні характеристики нормоценозу та бактеріального дисбіозу. Охарактеризовані зміни місцевої колоніальної резистентності піхви. Її гуморальна ланка активувалась при дисбіозі I ступеня та пригнічувалася на тлі бактеріального вагінозу, коли низькі рівні sIgA та лізоциму у вагінальному секреті вказували на локальний неспецифічний

імунодефіцит, а пригнічення фагоцитозу та системи комплементу вказувало на розвиток комбінованого локального імунодефіциту.

Загальні реакції імунної системи при розвитку бактеріального вагінозу включали прогресування Т-клітинного імунодефіциту, недостатності фагоцитозу, пригнічення гуморального імунітету.

Розроблено нові способи клініко-лабораторної діагностики та прогнозування розвитку вагінальних дисбіозів, які ґрунтуються на визначенні складу вагінальної мікробіоти, факторних ознак, взаємозв'язків між ними та залучення сучасних методів математичного аналізу.

**Ключові слова:** бактеріальний вагіноз, колоніальна резистентність піхви, імунна система, нейрогормональна регуляція.

### АННОТАЦІЯ

**Грузевський А. А. Влияние местных факторов колонизационной резистентности, иммунного статуса и состояния нейрогормональной регуляции на развитие и прогрессирование бактериального вагиноза. - На правах рукописи.**

Диссертация на соискание научной степени доктора медицинских наук по специальности 03.00.07 – микробиология. – Государственное учреждение «Институт микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова Национальной академии медицинских наук Украины». Харьков, 2021.

Диссертация посвящена проблеме повышения эффективности диагностики и прогнозирования развития бактериального дисбиоза и вагиноза путем определения влияния местных факторов колонизационной резистентности, иммунного статуса и состояния нейрогормональной регуляции.

Конкретизированы качественные и количественные характеристики нормоценоза и бактериального дисбиоза. Охарактеризованы изменения местной колониальной резистентности влагалища. Ее гуморальное звено активировалась при дисбиозе I степени и подавлялось на фоне бактериального вагиноза, когда низкие уровни sIgA и лизоцима в вагинальном секрете указывали на локальный неспецифический иммунодефицит, а угнетение фагоцитоза и системы комплемента указывало на развитие комбинированного локального иммунодефицита.

Общие реакции иммунной системы при развитии бактериального вагиноза включали прогрессирования Т-клеточного иммунодефицита, недостаточности фагоцитоза, угнетение гуморального иммунитета.

Разработаны новые способы клиничко-лабораторной диагностики и прогнозирования развития вагинальных дисбиозов, основанные на определении состава влагалищной микробиоты, факторных признаков, взаимосвязей между ними и привлечения современных методов математического анализа.

**Ключевые слова:** бактериальный вагиноз, колониальная резистентность влагалища, иммунная система, нейрогормональная регуляция.

## ABSTRACT

**Hruzevskiy O. A. Influence of local factors of colonization resistance, immune status and condition of neurohormonal regulation on the development and progression of bacterial vaginosis. – *On the rights of the manuscript.***

Thesis for a Doctor's of Medicine degree in speciality 03.00.07 – Microbiology. – State Institution «I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kharkiv, 2021.

The dissertation is devoted to the problem of increasing the efficiency of diagnostics and prediction of bacterial dysbiosis and vaginosis throughout determining the influence of local factors of colonization resistance, immune status and condition of neurohormonal regulation.

Qualitative and quantitative characteristics of normocenosis and bacterial dysbiosis are defined and specified. In normocenosis, value of the index of conditionally pathogenic microflora (ICPM) was  $\leq -3$  lg GE/sample; *Sneathia* spp./*Leptotrichia* spp./*Fusobacterium* spp. and Mycoplasma hominis/genitalium were not detected in normocenosis. In grade I dysbiosis (ICPM ranged from -3 lg GE/sample to -1 lg GE/sample), number of lactobacilli there was decreased and content of anaerobes increased. Among them *Mobiluncus* spp. / *Corynebacterium* spp. (87.5%) and *Eubacterium* spp. (79.7%) dominated; their quantitative content was higher than in normocenosis. *Sneathia* spp./*Leptotrichia* spp. / *Fusobacterium* spp. (in 12.5% of cases it was in an amount less than 4 lg GE/sample) and Mycoplasma hominis/genitalium (in 8.0% of cases it was in an amount up to 3 lg GE / sample) appeared.

In grade II dysbiosis (ICPM > -1 lg GE/sample), number of lactobacilli was lower by 35.1% in comparison to normocenosis. Among the facultative anaerobes *Enterobacterium* spp., *Streptococcus* spp. and *Staphylococcus* spp. there were found in excessive amount. All species of obligate anaerobes were found in quantities that exceeded the norm by several orders; *Sneathia* spp./*Leptotrichia* spp. / *Fusobacterium* spp. were found as well. In addition, mycoplasmas, uncharacteristic for normocenosis, were detected in the amount of 1.7 lg GE/sample.

Maximal increase in the frequency and absolute number of streptococci and obligate anaerobes was observed when normobiota indicator was higher than 1.0 lg GE/sample, when there was a severe anaerobic dysbiosis in the presence of pathogenic *Sneathia* spp. / *Leptotrichia* spp. / *Fusobacterium* spp. and Mycoplasma hominis / genitalium, which allowed establishing bacterial vaginosis.

Humoral link of local colonization resistance was activated in grade I dysbiosis and was suppressed in bacterial vaginosis, when extremely low levels of secretory IgA in vaginal secretion (2.2 times lower in comparison to normocenosis) and lysozyme (7.0 times lower) indicated a deep local nonspecific immunodeficiency. A sharp decrease in the phagocytosis activity, content of immune complexes and complement C3 and C4 allowed establishing a combined local immunodeficiency.

In dysbiosis, in the presence of general lymphocytosis, there was decrease of T-lymphocytes in blood. Dependence of the degree of dysbiosis and activation of NK-cells (CD16) and B-lymphocytes (CD22) was revealed. Under conditions of



increasing severity of dysbiosis, formation of phagocytosis insufficiency is shown. Humoral immunodeficiency was manifested by a decreasing of IgA (1.5 times) and secretory IgA (2.1 times). Level of all cytokines in blood increased as the degree of dysbiosis deepened. General analysis of relationship between the immune system indicators in blood revealed the development of systemic combined immunodeficiency and the escape of the most pathogenic microorganisms from the control of immune system.

In dysbiosis, reaction of hormonal systems was characterized by the development of primary hypergonadotropic hypogonadism with hypoestrogeny and hyperandrogeny; “distress syndrome” (hypocorticism and hyperprolactinemia) and functional dysthyroidism. Discriminant analysis showed that the degree of dysbiosis was reflected in the blood levels of cortisol, follicle-stimulating hormone and estradiol.

Logistic regression models were constructed: they estimate the risk of development of dysbiosis and its severity according to the normobiota indicator and the index of conditionally pathogenic microflora. There were revealed the main prognostic indicators, which included: for normobiota indicator – levels of IL2, TNF $\alpha$  and circulating immune complexes in blood, level of the C4 complement’s component and  $\gamma$ -INF’s content in vaginal secretion; for the index of conditionally pathogenic microflora– levels of the C4 complement’s component, IL8 and IL4 in blood, and level of secretory IgA, lysozyme,  $\gamma$ -INF, TGF-1 $\beta$  and IL10 in vaginal secretion.

New methods of clinical and laboratory diagnostics and forecasting of the development of vaginal dysbiosis, based on determining the composition of vaginal microbiota, factor signs, interrelations between them and application of modern methods of mathematical analysis are developed.

Thus, the results obtained on the interaction of microbial biocenosis indicators, local colonization resistance, immune system and neurohormonal regulation reflected a single dysregulatory pathological hormonal-immune system, which is formed in vaginal dysbiosis and leads to the development of bacterial dysbiosis.

**Key words:** bacterial vaginosis, colonization resistance of vagina, immune system, neuro-hormonal regulation.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАК**

ДГ	– дріжджеподібні гриби;
E <sub>2</sub>	– естрадіол;
ЗБМ	– загальна бактеріальна маса;
ІРІ	– імунорегуляторний індекс
ІУПІМ	– індекс умовно-патогенної мікрофлори;
Кр	– кортизол;
ЛБ	– лактобактерії;
МУ	– мікоплазми та уреоплазми;
ОА	– облігатні анаероби;
ПНБ	– показник нормобіоти;
ПРЛ	– пролактин;
T <sub>3</sub>	– трийодотиронін;
T <sub>4</sub>	– тироксин;
Tc	– тестостерон;
ТТГ	– тиреотропний гормон;
ФА	– факультативні анаероби;
ФАЛ	– фагоцитарна активність лейкоцитів;
ФСГ	– фолікулостимулюючий гормон;
C <sub>3</sub>	– компонент комплементу C <sub>3</sub> ;
C <sub>4</sub>	– компонент комплементу C <sub>4</sub> ;
FT <sub>3</sub>	– вільний трийодотиронін;
FT <sub>4</sub>	– вільний тироксин;
IL	– інтерлейкін;
p	– рівень статистичної значущості коефіцієнтів регресії;
TNF- $\alpha$	– фактор некрозу пухлин альфа;
TGF- $\beta$	– трофобластичний фактор росту $\beta$ ;
$\gamma$ -IFN	– $\gamma$ -інтерферон.