

Received: 2012.07.10  
Accepted: 2013.01.19  
Published: 2013.05.10

## Nieswoiste mechanizmy odpornościowe w zakażeniach dolnego odcinka żeńskich narządów płciowych

### Innate immunity to infection in the lower female genital tract

Karolina Paulina Gregorczyk, Małgorzata Krzyżowska

Zakład Immunologii, Katedra Nauk Przedklinicznych Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa  
Wiejskiego w Warszawie

#### Streszczenie

Dolny odcinek żeńskich narządów płciowych jest miejscem kontaktu ze środowiskiem zewnętrznym i w przeciwieństwie do wyżej położonych struktur, nie jest sterylny. Istnieje wiele mechanizmów odpowiedzi nieswoistej, zapewniających obronę dolnych dróg rodnych przed patogenami z jednoczesnym zachowaniem komensalnej flory bakteryjnej. Odpowiedź nieswoista w dolnym odcinku narządu rodnego podlega regulacji hormonalnej, w sposób zależny od fazy cyklu menstruacyjnego, podobnie jak przebudowa nabłonka błony śluzowej pochwy, w której aktywnie uczestniczą neutrofile, będące najliczniejszymi leukocytami w dolnych drogach rodnych. Narażone na ciągły kontakt ze środowiskiem zewnętrznym komórki nabłonkowe pełnią funkcję bariery fizycznej dla czynników zakaźnych, jednocześnie zawierają na swojej powierzchni cząsteczki MHC klasy I i II oraz receptory rozpoznające wzorce patogenów. Komórki nabłonka stanowią również źródło wielu cytokin i chemokin, co umożliwia migrację komórek wrodzonego układu odpornościowego: neutrofilów, makrofagów, komórek dendrytycznych, czy komórek NK. Oprócz komórek gospodarza, dużą rolę w odporności wrodzonej odgrywa mikroflora bakteryjna, która dzięki wytwarzaniu kwasu mlekowego i nadtlenu wodoru, utrudnia przeżycie potencjalnym patogenom. Zaburzenia składu mikroflory błony śluzowej pochwy prowadzą do bakteryjnego zakażenia pochwy i kandydozy. Zakażenia te, wraz z opryszczką narządów płciowych, zakażeniem HPV, zakażeniami chlamydiami, rzeźsikciem czy rzeżączką, zwiększają prawdopodobieństwo wystąpienia kolejnych chorób przenoszonych drogą płciową, w tym zakażenia HIV, co wynika z zaburzeń integralności błony śluzowej pochwy, ułatwiających penetrację tkanek przez patogeny oraz rozwój lokalnego stanu zapalnego.

#### Słowa kluczowe:

dolny odcinek żeńskich narządów płciowych • wrodzony układ odporności • neutrofile • komórki nabłonkowe • receptory Toll-podobne • mikroflora bakteryjna

#### Summary

Due to the contact with the external environment, the lower female genital tract is non-sterile. The innate immune system has evolved many mechanisms to protect vaginal tissues from pathogens at the same time allowing for survival of the comensal flora. Innate immunity in the lower female genital tract undergoes hormonal regulation. Estrogen and progesterone levels also influence the vaginal mucosal epithelium remodeling with the neutrophils playing a crucial role, as the most numerous leukocytes in the vaginal tissue. Being exposed to the environment, the vaginal epithelium consists a physical barrier for pathogens, but it also shows the presence of MHC class I and pattern recognition receptors. By production of cytokines and chemokines, the vaginal epithelium attracts innate immune cells such as neutrophils, macrophages, dendritic cells or NK cells. Vaginal comensal flora is another important

<b>Keywords:</b>	mechanism of innate immunity by production of lactic acid and hydrogen peroxide, inhibiting pathogen's growth. Disturbances of vaginal microflora can result in pathogenic infections such as bacterial vaginosis or candidosis. Together with herpes genitalis, HPV infection, chlamydia, trichomoniasis and gonorrhoea, vaginal infections increase the risk of acquiring another sexually transmitted disease, including HIV due to the impaired mucosal integrity, facilitating for tissue penetration by pathogens and development of local inflammation.
<b>Keywords:</b>	<b>lower female genital tract • innate immunity • neutrophils • epithelial cells • Toll-like receptors • bacterial microflora</b>
<b>Full-text PDF:</b>	<a href="http://www.phmd.pl/fulltxt.php?CID=1048816">http://www.phmd.pl/fulltxt.php?CID=1048816</a>
<b>Word count:</b>	5940
<b>Tables:</b>	2
<b>Figures:</b>	–
<b>References:</b>	120

**Adres autorki:** dr Małgorzata Krzyżowska, Zakład Immunologii, Katedra Nauk Przedklinicznych Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Ciszewskiego 8, 02-788, 02-786 Warszawa; e-mail: krzyzowskam@yahoo.com

**Wykaz skrótów:** **AMP** – białka przeciwdrobnoustrojowe (antimicrobial peptides), **APC** – komórki prezentujące antygen (antigen presenting cells), **BV** – bakteryjne zakażenie pochwy (bacterial vaginosis), **DC** – komórka dendrytyczna (dendritic cell), **EB** – ciała elementarne chlamydii (elementary bodies), **FLS-1** – receptor FLS-1 (fibroblast-like synoviocytes-1), **GM-CSF** – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), **HBD** – ludzkie defenzyny  $\beta$  (human beta defensins), **HD** – ludzkie defenzyny  $\alpha$  (human defensins), **HMG N2** – białko chromosomalne niehistonowe HMG N2 (high mobility group nucleosomal-binding domain 2), **HNP** – ludzkie defenzyny  $\alpha$  (human neutrophil peptides), **HPV** – wirus ludzkiego brodawczaka (human papilloma virus), **HSV-2/HHV-2** – wirus opryszczki narządów płciowych (Herpes simplex virus type 2/human herpes virus type 2), **IFN** – interferon, **Ig** – immunoglobulina, **IL** – interleukina, **LGP2** – receptor LGP2 (laboratory of genetics and physiology-2), **LPS** – lipopolisacharyd, **MCP-1** – chemokina MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1), **MD-2** – białko MD-2 (myeloid differentiation protein 2), **MDA-5** – receptor MDA-5 (melanoma differentiation-associated gene 5), **mDC** – komórka dendrytyczna linii mieloidalnej (myeloid dendritic cell), **MHC** – główny układ zgodności tkankowej (major histocompatibility complex), **MIP-3 $\alpha$**  – chemokina MIP-3 $\alpha$  (macrophage inflammatory protein 3- $\alpha$ ), **NAP** – naturalne peptydy przeciwdrobnoustrojowe (natural antimicrobial peptides), **NET** – zewnątrzkomórkowe pułapki neutrofilów (neutrophil extracellular traps), **NF- $\kappa$ B** – czynnik jądrowy –  $\kappa$ B (nuclear factor  $\kappa$ B), **NK** – komórka naturalnie cytotoksyczna (natural killer), **NKT** – limfocyt NKT (natural killer T cell), **NLR** – receptory NOD podobne (NOD-like receptors), **PAMP** – molekularne wzorce związane z patogenami (pathogen-associated molecular patterns), **pDC** – komórka dendrytyczna linii plazmacytoidalnej (plasmacytoid dendritic cell), **PID** – zapalenie narządów miednicy mniejszej (pelvic inflammatory disease), **PRR** – receptory rozpoznające wzorce (pattern recognition receptors), **RIG-1** – receptor RIG-1 (retinoic acid inducible gene 1), **RLR/RLH** – receptory RIG-1 podobne (RIG-1 like receptors/RIG-1 helicases), **RT-PCR** – reakcja łańcuchowa polimerazy z odwrotną transkrypcją (reverse transcription - polymerase chain reaction), **sig** – immunoglobulina wydzielnicza (secretory immunoglobulin), **SLPI** – wydzielniczy inhibitor proteiny leukocytarnej (secretory leukocyte peptidase inhibitor), **TGF** – transformujący czynnik wzrostu (transforming growth factor), **TLR** – receptor Toll-podobny (Toll-like receptor), **TNF** – czynnik martwicy nowotworów (tumor necrosis factor), **VEPD** – komórki dendrytyczne nabłonka pochwy (vaginal epithelial DC), **VVC** – drożdżakowe zapalenie pochwy i sromu (vulvovaginal candidiasis), **WHO** – Światowa Organizacja Zdrowia (World Health Organization).

## WPROWADZENIE

W żeńskich wewnętrznych narządach płciowych wyróżniamy odcinek górny, w skład którego wchodzi macica, jajowody i jajniki oraz dolny obejmujący pochwę i szyjkę macicy. Ze względu na bliski kontakt ze środowiskiem zewnętrznym, w błonie śluzowej dolnych dróg rodnych wykształciło się wiele mechanizmów nieswoistych, biorących udział w odporności przeciw wielu mikroorganizmom. Stanowią one pierwszą linię obrony w chwili, gdy nie zdążyły jeszcze powstać swoiste mechanizmy. Wykazano, że zarówno wrodzone, jak i nabyte mechanizmy odporności są regulowane podczas cyklu menstruacyjnego przez hormony steroidowe, takie jak estrogeny i progesteron, dzięki czemu optymalizują warunki do migracji plemników, zapłodnienia, implantacji i ciąży.

W procesach aktywacji wrodzonej odpowiedzi immunologicznej rozpoznanie konkretnych antygenów nie jest konieczne, co pozwala na szybkie działanie, nie wymaga wstępnej aktywacji, rozwija się niezależnie od odpowiedzi swoistej, a receptory rozpoznające drobnoustroje są odziedziczone w niezmienionej postaci. Oprócz komórek wrodzonego układu odpornościowego, do mechanizmów nieswoistych zalicza się także bariery fizyczne, chemiczne i biologiczne występujące w dolnych drogach rodnych kobiety, pełniące równie ważną funkcję w zabezpieczeniu przed atakiem drobnoustrojów.

## BARIERY FIZYCZNE, CHEMICZNE I BIOLOGICZNE

Komórki nabłonkowe dolnych dróg rodnych oraz śluz stanowią pierwszą fizyczną barierę dla potencjalnych patogenów [112]. Pochwa i zewnętrzna część szyjki macicy kobiety jest pokryta wielowarstwowym nabłonkiem płaskim nierogowaciejącym, natomiast część wewnętrzną, czyli kanał szyjki macicy wyściela nabłonek jednowarstwowo walcowaty. Pomiędzy częścią zewnętrzną, a wewnętrzną szyjki macicy znajduje się ujście zewnętrzne, które stanowi przejście jednego nabłonka w drugi [90]. Komórki nabłonkowe walcowate są zdolne do wytwarzania śluzu, podobnie jak gruczoły śluzowe, znajdujące się we właściwej błonie śluzowej szyjki macicy. Ilość i jakość wydzielanego śluzu zależy od fazy cyklu menstruacyjnego i jest regulowana hormonalnie [90]. Śluz estrogenny (okołouwulacyjny) jest przejrzysty, wodnisty i charakteryzuje się małą lepkością, natomiast śluz gestagenny (prowulacyjny) jest nieprzejrzysty, mętny i lepki. Głównymi organicznymi składnikami śluzu są mucyny należące do rodziny glikoprotein o dużej masie cząsteczkowej, które stanowią fizyczną pułapkę dla patogenów w gęstej fazie żelu [50]. Dzięki temu śluz w sposób mechaniczny chroni błonę śluzową przed adhezją i przenikaniem drobnoustrojów, ale także jest usuwany wraz z nimi do środowiska zewnętrznego. Powierzchnia nabłonka pochwy i szyjki macicy oraz komórki wrodzonego układu odpornościowego oprócz chemokin i cytokin wydzielają do śluzu inne białka, dzięki którym może zwalczać wiele mikroorganizmów. Należą do nich takie substancje jak laktoferyna, lizozym, kalprotektyna, defenzyny, katelicyna, elafina,

SLPI (secretory leukocyte peptidase inhibitor) oraz HMG N2 (high mobility group nucleosomal-binding domain 2) [35]. Stwierdzono, że potrafią one efektywnie hamować wzrost bakterii Gram-dodatnich (np. *Staphylococcus aureus*), Gram-ujemnych (np. *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*), grzybów (np. *Candida albicans*) i wirusów (np. HIV-1) [113]. Do śluzu dostają się również związki wytwarzane przez bakterie zasiedlające dolne drogi rodne, komórki nabłonkowe, komórki podścieliska, a także komórki układu odpornościowego migrujące z macicy, szyjki macicy i pochwy [112]. Wydzielane są do niego także przeciwciała z klasy IgA oraz IgG wytwarzane przez limfocyty B [113].

## Mikroflora dolnego odcinka dróg rodnych

Jednym z ważniejszych mechanizmów odporności przeciw zakażeniom dolnych dróg rodnych jest mikroflora bakteryjna [102]. Głównie pochwa, ale też szyjka macicy jest skolonizowana przez wiele mikroorganizmów i stanowi dla nich swoistą niszę ekologiczną. Szyjka macicy jest najwyższym położonym narządem płciowym kobiety, w którym występują komensalne bakterie. Tworzy dla nich barierę przed wejściem do jamy macicy, która w fizjologicznych warunkach jest sterylna [100]. Wyizolowano około 50 gatunków mikroorganizmów zasiedlających pochwę [79]. Najczęściej występującymi mikroorganizmami w pochwie kobiet w wieku rozrodczym są bakterie z rodzaju *Lactobacillus*, a konkretnie gatunki *Lactobacillus crispatus* i *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus gasseri* [115]. W stanie fizjologicznym śluz znajdujący się w pochwie zawiera  $10^5$ – $10^7$  mikroorganizmów na mililitr, z czego *Lactobacillus* sp. stanowi 90% wszystkich bakterii [51]. Zmiany hormonalne, pH oraz zawartość glikogenu mogą wpływać na stopień adhezji *Lactobacillus* do komórek nabłonka i kolonizację pochwy [36]. Wzrost stężenia estrogenów powoduje zwiększone przyleganie pałeczek kwasu mlekowego do nabłonka pochwy [12] oraz zwiększa w jego komórkach zawartość glikogenu, który jest metabolizowany przez *Lactobacillus* do kwasu mlekowego, dzięki czemu pH w pochwie spada do 4,0–4,5 [106]. Kwaśne środowisko sprzyja wzrostowi bakterii kwasu mlekowego, natomiast utrudnia namnażanie i przeżycie mikroorganizmom nietolerującym niskiego pH. Wykazano również, że kwas mlekowy w pH=4 spowalnia dyfuzję HIV, poprzez zniesienie ujemnego ładunku z powierzchni wirusa. Niskie pH pozwala na adhezję HIV do komponentów śluzu. Kwas mlekowy zwiększa również uwalnianie TGF- $\beta$  przez nabłonek, a w połączeniu z kwasem poliryboinozylowo:polirybocytydylowym powoduje wzrost wydzielania IL-8 oraz IL-1 $\beta$  [73]. Wynika z tego, że kwas mlekowy zwiększa uwalnianie mediatorów z komórek nabłonkowych pochwy oraz pobudza przeciwwirusową odpowiedź immunologiczną [73].

Podobnie jak kwasy organiczne, również nadtlenek wodoru i bakteriocyny, wytwarzane przez *Lactobacillus* działają przeciwbakteryjne, przez co zmniejszają kolonizację innych gatunków, w tym chorobotwórczych [5]. Wykazano kliniczną zależność między obecnością *Lactobacillus*

wytwarzających  $H_2O_2$ , a spadkiem częstości występowania rzeżączki, bakteryjnego zakażenia pochwy (BV - *bacterial vaginosis*) oraz zakażenia HIV [93]. Badania przeprowadzone przez Ahmeda w 2010 r. wskazują na ochronną rolę mikroorganizmów pochwy, przeciw zakażeniom HIV. Wykazują, że *Escherichia coli*, *Veillonella parvula* i *Neisseria* hamują infekcję HIV-1 poprzez aktywację TLR-4 na powierzchni błony śluzowej [1].

Innymi, rzadszymi gatunkami, mogącymi występować w mniejszych ilościach w pochwie zdrowych kobiet są bakterie z rodzaju: *Atopobium*, *Gardnerella*, *Peptostreptococcus*, *Prevotella*, *Pseudomonas* i *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, *Atopobium*, *Peptococcus*, *Clostridium*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Eubacterium* oraz *Bacteroides* [71]. Niektóre z nich są bezwzględnie lub fakultatywnymi beztlenowcami związanymi z występowaniem bakteryjnego zakażenia pochwy [64]. Gdy liczba *Lactobacillus* drastycznie spadnie, liczba przedstawicieli powyższych gatunków może wzrosnąć, powodując rozwój zakażeń.

Istotne znaczenie w składzie mikroflory bakteryjnej pochwy ma przekwitanie. Kobiety w okresie menopauzy, ze względu na spadek poziomu estrogenów, wykazują zmniejszoną liczbę *Lactobacillus* w dolnych drogach rodnych [48], przez co są bardziej podatne na zakażenie [83].

#### KOMÓRKI BIORĄCE UDZIAŁ W NIESWOISTYCH MECHANIZMACH ODPORNOŚCI

Do wrodzonych mechanizmów odporności w dolnych drogach rodnych zalicza się aktywność komórek układu odpornościowego, takich jak neutrofile, makrofagi, komórki dendrytyczne oraz komórki NK, a także komórki nabłonkowe. Stanowią one pierwszą linię obrony przed patogenami oraz umożliwiają rozwój odpowiedzi swoistej.

#### Komórki nabłonkowe

Komórki nabłonkowe dolnych dróg rodnych pełnią istotną rolę w odporności wrodzonej. Często są pierwszymi komórkami kontaktującymi się z mikroorganizmami, ponieważ w warunkach fizjologicznych liczba komórek układu odpornościowego w pochwie jest niewielka [26]. Oprócz tworzenia bariery mechanicznej dla patogenów i wytwarzania śluzu, wykazują także inne działania, mające na celu eliminację czynnika zakaźnego z organizmu. Zaliczamy do nich pobudzenie śmierci zakażonych komórek w wyniku apoptozy lub nekrozy, uwalnianie substancji cytotoksycznych, wytwarzanie różnorodnych związków, będących chemoatraktantami i aktywatorami leukocytów (np. chemokiny, cytokiny, prostaglandyny, białka szoku cieplnego), aktywację i wzmacnianie reakcji ostrej fazy zapalenia oraz regulowanie i pobudzenie humoralnej i komórkowej odpowiedzi immunologicznej [76]. Istnieją różnice w pełnionych funkcjach immunobiologicznych między komórkami nabłonkowymi wyścielającymi różne odcinki dolnych dróg rodnych, co może wynikać z ist-

nijącego kontaktu ze środowiskiem zewnętrznym (pochwa, zewnętrzna część szyjki macicy) bądź jego braku (wewnętrzna część szyjki macicy) [25].

Szybka odpowiedź odporności wrodzonej na patogeny wymaga dużej swoistości w rozróżnianiu zakażeń bakteryjnych, wirusowych, grzybiczych bądź pasożytniczych, podobnie jak endogennych ligandów pochodzących z uszkodzonych komórek [76]. Komórki nabłonkowe, endotelialne oraz układu odpornościowego mają na swojej powierzchni receptory (pattern recognition receptors - PRRs), dzięki którym rozpoznają molekularne wzorce związane z patogenami (pathogen-associated molecular patterns - PAMPs), występujące na mikroorganizmach. Do PRR zalicza się receptory Toll-podobne - TLRs (Toll-like receptors), receptory NOD-podobne - NLRs (NOD-like receptors) oraz receptory RIG-1-podobne - RLRs (RIG-1-like receptors), zwane również jako RLH (RIG-1-like helicases). Do rodziny tych ostatnich zalicza się helikazy RNA, takie jak RIG-1 (retinoic acid inducible gene 1) i MDA-5 (melanoma differentiation-associated gene 5) oraz LGP2 (laboratory of genetics and physiology-2). Wykazano współdziałanie między poszczególnymi TLR oraz między TLR a innymi receptorami rozpoznającymi wzorce związane z patogenami [105].

Receptory Toll-podobne wraz z naturalnymi peptydami przeciwdrobnoustrojowymi (natural antimicrobial peptides - NAPS) są głównymi mediatorami wrodzonego układu odporności [112]. TLRs są to białka transbłonowe, które wykazują między sobą podobieństwo strukturalne. Receptory Toll-podobne rozpoznają wiele wzorców związanych z patogenami i generują powstawanie sygnałów wewnątrzkomórkowych za pośrednictwem czynnika jądrowego -  $\kappa B$  (NF- $\kappa B$  - nuclear factor  $\kappa B$ ), w wyniku czego dochodzi do uwalniania cytokin i chemokin. Związanie TLR z produktami mikroorganizmów ułatwia aktywację swoistej odpornościowej odpowiedzi immunologicznej, zarówno typu komórkowego, jak i humoralnego [56].

Receptory Toll-podobne można podzielić na TLR znajdujące się na powierzchni komórki (rozpoznające PAMPs), do których zalicza się TLR-1, TLR-2, TLR-4, TLR-5, TLR-6 oraz na TLR występujące wewnątrzkomórkowo w endosomach (rozpoznające kwasy nukleinowe), w skład których wchodzi TLR-3, TLR-7, TLR-8, TLR-9 [76]. Tabela 1 przedstawia poszczególne ludzkie PRRs oraz ich ligandy.

Nabłonek pochwy w warunkach *in vitro* wykazuje ekspresję TLRs i NLRs, które po stymulacji pośredniczą w uwalnianiu mediatorów prozapalnych, takich jak cytokiny, chemokiny oraz białka przeciwdrobnoustrojowe [56].

Komórki nabłonkowe pochwy i zewnętrznej części szyjki macicy wykazują ekspresję mRNA TLR-1, -2, -3, -5, -6 i -9, natomiast nie wykryto w nich ekspresji TLR-4 i MD-2, co może sugerować, że nabłonek jest zdolny do reagowania z bakteriami Gram-ujemnymi, mimo braku możliwości rozpoznawania endotoksyny [24]. Jest to prawdopodobnie związane z występowaniem komensalnej flory bak-

Tabela 1. Ludzkie PRRs i ich ligandy

PRR	Położenie TLR w komórce	Ligand
TLR-1	błona komórkowa	triacylowane lipopeptydy (bakterie, mikobakterie), glikolipidy ( <i>Treponema maltophilum</i> ), modulina
TLR-2	błona komórkowa	peptydoglikan (bakterie Gram-dodatnie), poryny ( <i>Weisseria</i> ), lipoarabinomannan (mikobakterie), fosfolipomannan (drożdżaki), hemaglutynina (wirus odry), kwas lipotejchowy (bakterie Gram-dodatnie), zymosan (drożdżaki), glikolipidy ( <i>Treponema maltophilum</i> )
TLR-3	endosomy	Poli I:C, dsRNA (wirusy), endogenne mRNA
TLR-4	błona komórkowa	LPS (bakterie Gram-ujemne), mannan, glikoinozytofosfolipidy, białka otoczki wirusów, HSP60, HSP70, kwas hialuronowy, fibrynogen
TLR-5	błona komórkowa	flagellina (bakterie)
TLR-6	błona komórkowa	diacylowe lipopeptydy ( <i>Mycoplasma</i> ), modulina,
TLR-7	endosomy	ssRNA (wirusy RNA)
TLR-8	endosomy	ssRNA (wirusy RNA)
TLR-9	endosomy	CpG-DNA (bakterie)
TLR-10	?	?
NOD1	cytoplazma	kwas mezo-diaminopimelinowy (peptydoglikan bakterii Gram-ujemnych)
NOD2	cytoplazma	dipeptyd muramyłowy (bakterie)

teryjnej w dolnych drogach rodnych [24,81]. Nabłonek wewnętrznej części szyjki macicy wykazuje ekspresję takich samych receptorów Toll-podobnych jak pochwa i zewnętrzna część szyjki macicy, poza TLR-5 [24]. Ekspresja TLR-2 w tym nabłonku jest większa niż w zewnętrznej części szyjki macicy [81]. Komórki nabłonkowe zewnętrznej i wewnętrznej części szyjki macicy wykazują również ekspresję TLR-7, -8 i -9, NOD1 (NLRC1) i NOD2 (NLRC2) natomiast nie wykryto w nich TLR-10 [44].

Znany jest wpływ zmian stężenia hormonów płciowych podczas cyklu menstruacyjnego na ekspresję TLR w górnym odcinku żeńskich narządów płciowych, natomiast brakuje informacji na ten temat w odcinku dolnym. W fazie wydzielniczej w endometrium wzrasta ekspresja TLR-2, -3, -4, -5, -6 i -9 cyklu, natomiast ich ekspresja jest mniejsza w pozostałych fazach, co może wskazywać, że podobne zmiany zachodzą również w dolnych drogach rodnych u kobiet [76]. Przeprowadzone na myszach badania przez Yao i wsp. wykazują, że dochodzi do wzrostu ekspresji TLR-1-10 w komórkach nabłonkowych pochwy w fazie diestrus lub po podaniu Depo-Provera (pochodna progesteronu), co również sugeruje wpływ hormonów na ekspresję TLRs w dolnych drogach rodnych u kobiet [117].

Komórki nabłonkowe pochwy spontanicznie wydzielają IL-1 $\beta$ , IL-8, TGF- $\beta$  oraz SLPI, natomiast w wyniku pobu-

żenia PRRs, oprócz wzrostu wytwarzania tych substancji, dochodzi również do uwalniania innych cytokin i białek przeciwdrobnoustrojowych, np. w obecności kwasu poli-ryboinozyłowo:polirybocytydyłowego zostaje wydzielona IL-6 oraz następuje wzrost wydzielania IL-8 w następstwie pobudzenia TLR-3 [73]. Innym przykładem jest FLS-1, który jako agonista heterodimeru TLR2/6 indukuje wydzielanie prozapalnych cytokin i chemokin w komórkach nabłonkowych pochwy i szyjki macicy, podobnie jak *Mycoplasma genitalium* [49]. Następnym przykładem jest flagellina (białko wici bakteryjnych), która po połączeniu z TLR-5 również powoduje wzrost ekspresji prozapalnych cytokin i chemokin przez komórki nabłonkowe dolnych dróg rodnych [49]. Z kolei kwas lipotejchowy, będący ligandem TLR-2, hamuje zakażenie ludzkim wirusem cytomegalii w wewnętrznej części szyjki macicy, przez pobudzenie wytwarzania IFN- $\beta$ , co może wskazywać na ochronną rolę komensalnej flory bakteryjnej pochwy [45]. Agonistą TLR-7 jest m.in. imikwimod, który indukuje wytwarzanie IL-8 w kulturach komórek szyjki macicy, podobnie jak CL075, będący ligandem dla TLR-8 oraz oligonukleotyd CpG – agonista TLR-9 [44].

## Neutrofile

Neutrofile to najliczniejsze leukocyty, należące do granulocytów, które tworzą pierwszą linię obrony przed patogenami. Powstają w szpiku kostnym, po czym przedostają



się do krwi, w której stanowią 40–75% wszystkich białych krwinek [112]. Po opuszczeniu naczyń krwionośnych przechodzą do tkanek, gdzie pełnią swoje liczne funkcje.

Granulocyty obojętnochłonne są uznawane za komórki wrodzonego układu odpornościowego, które mają istotne znaczenie w obronie głównie przeciwko bakteriom, ale także grzybom, pierwotniakom, czy też wirusom, dzięki obecności różnych receptorów rozpoznających drobnoustroje, w tym TLR-1,-2, -4, -5, -6, -7, -8, -9 i -10 (wszystkich z wyjątkiem TLR-3) [46]. Po związaniu się z PAMPs, neutrofile wykazują działanie przeciwwakacyjne i prozapalne, które zawiązują zdolnościom do fagocytozy, wytwarzania peptydów przeciwdrobnoustrojowych, enzymów proteolitycznych, cytokin i chemokin, a także wytwarzaniu „siec-pułapek” zwanych NETs (neutrophil extracellular traps) oraz wytwarzania reaktywnych form tlenu [6]. Mimo ważnej roli, jaką odgrywają w zwalczaniu patogenów, substancje wytwarzane przez granulocyty są potencjalnie toksyczne również dla otaczających komórek gospodarza, co mogłoby doprowadzić do uszkodzenia okolicznych tkanek w przypadku nadmiernej bądź długotrwałej aktywacji neutrofilów. W celu uniknięcia negatywnych następstw takiego działania, granulocyty są usuwane z ustroju zaraz po spełnieniu swoich funkcji odpornościowych [42]. Podstawowym mechanizmem jest pobudzenie neutrofilów do apoptozy, a następnie ich sfagocytowanie przez makrofagi [92].

Neutrofile są obecne w każdym odcinku żeńskich narządów płciowych u zdrowych kobiet, a ich liczba zmienia się wraz z umiejscowieniem – najwięcej granulocytów występuje w jajowodach, a najmniej w pochwie [39,112]. Kontakt ze środowiskiem zewnętrznym i występowanie komensalnej flory bakteryjnej, mogłyby wskazywać, że pochwa powinna być miejscem największej stałej migracji neutrofilów, jednak tak nie jest. Przypuszczalnie wskazuje to na dodatkowe funkcje granulocytów obojętnochłonnych, poza funkcjami odpornościowymi. Przykładem są badania przeprowadzone na myszach, które wykazują, że neutrofile napływające do pochwy biorą udział w utrzymaniu cyklu rujowego przez regulację poziomu hormonów płciowych [87]. Jednoznacznie wiąże się to z udziałem granulocytów obojętnochłonnych w przebudowie nabłonka dolnych dróg rodnych. Brak neutrofilów powoduje zatrzymanie cyklu w fazie diestrus (cienki nabłonek), co prawdopodobnie wynika z zahamowania migracji granulocytów obojętnochłonnych do pochwy w fazie metestrus [87]. Jest to faza, w której fizjologicznie następuje największy napływ neutrofilów do błony śluzowej pochwy u myszy, co jest związane ze znacznym wzrostem stężenia MIP-2, chemokiny odpowiedzialnej za migrację granulocytów obojętnochłonnych [87].

Nie wiadomo w jaki sposób neutrofile wpływają na stężenie estrogenów i progesteronu. Przeprowadzone badania wskazują na przypuszczalną rolę wydzielanych przez neutrofile peptydów opioidowych, które regulują steroidogenezę w komórkach jajników myszy, a zastosowanie antagonisty peptydów opioidowych skutkuje zablokowaniem cyklu rujowego [88]. Nie wiadomo jednak, czy ilość

uwolnianych peptydów opioidowych przez granulocyty obojętnochłonne jest wystarczająca do wytwarzania hormonów steroidowych w jajniku, dlatego konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań [88].

Liczba granulocytów obojętnochłonnych w pochwie nie jest stała i zmienia się podczas cyklu płciowego, chociaż poznano przypadki kobiet, u których nie zauważono zmian w liczbie neutrofilów w pochwie podczas cyklu [8]. Charakteryzuje je obecność zwiększonego stężenia IL-8 w pochwie, a tym samym większa liczba granulocytów obojętnochłonnych, co wskazuje, że chemokina ta umożliwia neutrofilom przechodzenie przez nabłonek [8]. GM-CSF, wytwarzany przez nabłonek dróg rodnych, wykazuje synergistyczne działanie z IL-8, przez co zwiększa chemotaksję neutrofilów [97]. W przypadku szyjki macicy zaobserwowano dużą liczbę neutrofilów niezależnie od fazy cyklu [87]. Dodatkowo, podczas zakażenia znacznie wzrasta w niej liczba granulocytów obojętnochłonnych, w wyniku zwiększonego wydzielania IL-8 przez komórki szyjki macicy w odpowiedzi na czynniki patogenne, takie jak LPS [110]. Oprócz IL-8 zaobserwowano także duże stężenie mRNA dla CXCL3 (Gro- $\gamma$ ), CXCL5 (ENA-78) i CXCL6 (GCP-2) wydzielanych przez komórki szyjki macicy [112].

### Komórki NK

Komórki NK (natural killers – NK) odpowiadają za zjawisko naturalnej, niewymagającej wstępnej aktywacji, cytotoxiczności. Przejawia się ona w stosunku do komórek z obniżoną ekspresją MHC klasy I, co jest charakterystyczne dla komórek zakażonych wirusami i komórek nowotworowych. Większość komórek NK wywołuje lizę komórek docelowych poprzez wydzielanie ziaren cytolitycznych zawierających perforynę i granzymy. Uczestniczą również w procesach immunoregulacji. Wyróżnia się dwie podstawowe subpopulacje komórek NK. Pierwszą z nich są komórki o umiarkowanej ekspresji CD56 i dużej ekspresji CD16 (CD56<sup>dim</sup>CD16<sup>+</sup>; NK1), drugą subpopulacją są komórki o dużej ekspresji CD56 i niemające CD16 (CD56<sup>high</sup>CD16<sup>-</sup>; NK2). NK1 wydzielają po aktywacji duże ilości IFN- $\gamma$  i mają silne właściwości cytotoxiczne, natomiast NK2 wytwarzają GM-CSF, TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-5 oraz IL-13, a ich zdolność do zabijania komórek docelowych jest znacznie słabsza [99]. We krwi obwodowej człowieka dominują NK2.

Komórki NK znajdują się we wszystkich odcinkach żeńskich narządów płciowych, jednak najwięcej badań dotyczy ich funkcji w macicy, a dokładniej roli w oddziaływaniu matki na płód [75]. W zależności od miejsca występowania stanowią różny odsetek leukocytów, który waha się między 10 a 30% [39]. Podobnie jak inne komórki odporności odpowiedzi nieswoistej, podlegają regulacji hormonalnej podczas cyklu menstruacyjnego. Badania wykazują, że w wyniku działania estrogenów, liczba komórek NK może być mniejsza z zachowaniem funkcji bądź większa, przy jednoczesnym obniżeniu ich aktywności cytotoxicznej [43]. Prawdopodobnie zmniejsza się wtedy ilość wydzielanego IFN- $\gamma$ , co przyczynia się do osłabienia aktywności przeciwwirusowej.

Tabela 2. Peptydy przeciwdrobnoustrojowe wydzielane przez komórki wrodzonego układu odporności dolnych dróg rodnych

Komórki	Peptydy przeciwdrobnoustrojowe (AMP)
Neutrofile	laktoferyna, lizozym, HNP- 1 -3, elafina, katelicydyna (LL37), kalprotektyna
Makrofagi	HNP- 1 -3, HBD-1 - 4
Komórki NK	
Komórki dendrytyczne	HBD-1 - 4
Komórki nabłonkowe	HBD-1 – 4, MIP-3α, elafina, SLPI, katelicydyna (LL37), kalprotektyna

### Makrofagi i komórki dendrytyczne

Makrofagi i komórki dendrytyczne (dendritic cell – DC) należą do komórek prezentujących antygen (antigen presenting cells – APC), przez co są łącznikiem między odpornością wrodzoną, a nabytą. Hormony płciowe regulują prezentację antygenów przez DC oraz liczbę makrofagów i innych APC w pochwie i szyjce macicy [114]. Ich liczba znacznie wzrasta podczas fazy menstruacyjnej cyklu płciowego [61]. Komórki dendrytyczne są uznawane za jedyne profesjonalne komórki prezentujące antygen. Ich główną funkcją jest wychwycenie antygeny, napływ do węzłów limfatycznych i jego prezentacja limfocytom Th, w kontekście MHC klasy II. Taki mechanizm występuje także w dolnych drogach rodnych, np. podczas zakażenia HIV. Makrofagi występują w każdym odcinku dróg rodnych, stanowiąc tam około 10% leukocytów [39]. Mają właściwości żerne i są również zdolne do prezentacji antygeny, ale w dużo mniejszym stopniu niż DC. Ważną cechą, która je odróżnia od DC jest brak zdolności migracji do węzłów chłonnych i prezentacji antygeny dziewczym limfocytom T w przeciwieństwie do DC makrofagi w warunkach fizjologicznych charakteryzują się niewielką ekspresją cząsteczek MHC klasy II, jednak podczas aktywacji są zdolne do ich syntetyzowania. Dodatkowo, w obecności IFN-γ, makrofagi eliminują patogeny za pośrednictwem fagocytozy.

Głównymi DCs występującymi w stanie fizjologicznym w błonie śluzowej narządów płciowych są komórki Langerhansa, leżące między komórkami nabłonkowymi oraz DC leżące pod nabłonkiem [119]. Według niektórych naukowców należy wyróżnić je jako komórki dendrytyczne nabłonka pochwy (vaginal epithelial DC – VEPD). Są to komórki występujące między komórkami nabłonka dolnych dróg rodnych, które różnią się fenotypowo od komórek Langerhansa [54]. W czasie zakażenia bądź stanu zapalnego do dróg rodnych z krwi obwodowej przedostają się komórki DC linii plazmacytoidalnej (pDC) oraz mieloidalnej (mDC) [54,66]. Podczas aktywacji pDC wytwarzają duże ilości IFN-α/β i wykazują ekspresję TLR-9, w wyniku czego hamują rozwój zakażenia wirusowego. Bariera fizyczna, jaką tworzy nabłonek uniemożliwia zakażenie komórek dendrytycznych od strony światła pochwy. Jednak zmiany hormonalne podczas cyklu płciowego, a konkretnie

wzrost stężenia progesteronu powoduje pocienienie warstwy nabłonka, co może potencjalnie zwiększyć ryzyko zakażenia HIV. W tabeli 2 przedstawiono AMP wydzielane przez komórki odpowiedzi nieswoistej.

### NIESWOISTA ODPOWIEDŹ IMMUNOLOGICZNA W WYBRANYCH ZAKAŻENIACH DOLNEGO ODCINKA DRÓG RODNYCH

#### Wirus opryszczki typu 2 (HSV-2)

HSV-2 (HHV-2) jest wirusem DNA z rodziny *Herpesviridae*, który wywołuje opryszczkę narządów płciowych, jedną z najczęstszych chorób przenoszonych drogą płciową. Zakażenie HSV-2 w populacji ogólnej wynosi 10-60% i jest wyższe w krajach rozwijających się, gdzie może sięgać 80% [40]. Kobiety są bardziej podatne na zakażenie HSV-2 niż mężczyźni [63]. Przy występowaniu HSV-2 trzykrotnie wzrasta ryzyko zakażenia HIV, co wiąże się z zaburzeniami integralności błony śluzowej pochwy [34]. Wirus opryszczki narządów płciowych zwiększa również ryzyko zachorowań na inne choroby przenoszone drogą płciową, podobnie jak duża liczba partnerów seksualnych, czy wczesny wiek inicjacji seksualnej [40].

Głównymi komórkami atakowanymi przez wirusa są komórki nabłonkowe dolnych dróg rodnych. Wrodzony układ odpornościowy dolnych dróg rodnych dysponuje mechanizmami, które umożliwiają obronę przed wirusami, w tym przed HSV-2. Występują różnice w odpowiedzi immunologicznej między zakażeniem pierwotnym a nawracającym, co jest klinicznie zobrazowane przez znacznie dłuższy czas występowania zmian w przypadku zakażenia pierwotnego [15]. Stwierdzono, że wydzielina pochwy i szyjki macicy wykazuje aktywność przeciw HSV-2, częściowo dzięki obecności HNP-1-3 [59]. Inne badania potwierdzają te wyniki, dodatkowo wskazując na przeciwwirusowe działania innych defenzyn, takich jak HNP-4, HD5, HD6 i HBD3 [47]. Rola HNP-4, HD6 i HBD3 opiera się głównie na zabezpieczeniu przed wiązaniem wirusa i jego przenikaniem do komórek, natomiast HNP-1-3 oraz HD5 dodatkowo hamują działania HSV-2 wewnątrz komórki [47]. Laktoferyna i lizozym także uczestniczą w odporności przeciw HSV-2 [57]. Podczas zakażenia dochodzi również do podwyższenia stężenia wielu chemokin w pochwie, takich jak CXCL1, CXCL9,

CXCL10, CCL2, CCL3, CCL5, odpowiadających za rekrutację komórek układu odpornościowego (neutrofilów, makrofagów, komórek NK), które ograniczają rozprzestrzenianie się HSV-2 i aktywują mechanizmy swoiste [104].

Neutrofile, jako najliczniejsze leukocyty w pochwie, prawdopodobnie również są zaangażowane w odpowiedź przeciw HSV-2, aczkolwiek ich rola nie jest dobrze poznana. Badania przeprowadzone na mysim modelu opryszczki narządów płciowych wskazują, że u myszy pozbawionych granulocytów obojętnochnych nie zwiększa się częstość występowania zakażenia, co sugeruje że niewielka populacja neutrofilów w pochwie myszy dzikich jest nieskuteczna w obronie przed HSV-2 [72]. Ci sami autorzy przedstawiają, że neutrofile w pochwie są zaangażowane w obronę organizmu przed wirusem, ale tylko podczas pierwotnego zakażenia, a myszy pozbawione neutrofilów wykazują znacznie wyższą mianą HSV-2 [72]. Jak dotąd nie do końca poznano mechanizm aktywności przeciwwirusowej granulocytów obojętnochnych. Badania przeprowadzone na modelu *in vitro* wskazują, że neutrofile wiążą wiriony HSV-2 bądź komórki zakażone wirusem i zabijają je poprzez mechanizmy zależne lub niezależne od tlenu [98]. Wydzielają również przeciwwirusowe cytokiny, takie jak TNF- $\alpha$ , IFN- $\alpha$  oraz IFN- $\gamma$ , co także wskazuje na ich rolę w odporności przeciwko HSV-2 [72]. Komórki NK i NKT również wydzielają IFN- $\gamma$  w odpowiedzi na IL-15, pochodzącą z zakażonych komórek lub makrofagów [3]. Zbadano także, że myszy z niedoborem receptora IFN typu I lub komórek NK wykazywały wyższą replikację wirusa opryszczki narządów rozrodczych niż myszy dzikie i nie wykryto u nich wzrostu poziomu IFN- $\gamma$  w odpowiedzi na zakażenie [38]. Może to świadczyć o roli receptora IFN- $\alpha/\beta$  w aktywacji komórek NK podczas zakażenia HSV-2 [38].

Komórki dendrytyczne również uczestniczą w odporności przeciw HSV-2. Glikoproteiny HSV-2 aktywują TLR-2 na komórkach dendrytycznych, a następnie TLR-9 w endosomach na skutek połączenia z wirusowym materiałem genetycznym [89]. W efekcie pobudzenia TLR-9, komórki dendrytyczne wydzielają IFN- $\alpha$ , który pełni funkcje w odporności przeciwwirusowej [66]. Mysi model zakażenia wirusem opryszczki narządów płciowych pozwala na zbadanie migracji komórek dendrytycznych do zakażonego nabłonka pochwy. Komórki dendrytyczne podśluzówki CD11c<sup>+</sup> wędrują w szybkim tempie do nabłonka zakażonego HSV-2, a następnie do węzłów chłonnych, gdzie prezentują antygen wirusowy za pomocą MHC klasy II limfocytom Th1, które w efekcie wytwarzają IFN- $\gamma$  [119]. Natomiast badania nad komórkami dendrytycznymi linii plazmocytoidalnej (CD11c<sup>-</sup>) wykazały, że nie są one niezbędne do aktywacji limfocytów Th1, o czym świadczy pobudzenie Th1 bez obecności pDC [67]. Prawdopodobnie pDC pełnią rolę głównie w odporności nieswoistej *in situ* podczas zakażenia HSV-2 przez wzmożone wytwarzanie IFN- $\alpha$  [67].

## Wirus brodawczaka ludzkiego (HPV)

Wirus brodawczaka ludzkiego (human papilloma virus – HPV) jest wirusem DNA należącym do rodziny *Papillomaviridae*. HPV przenosi się drogą płciową i może doprowadzić

do powstania raka szyjki macicy, który jest istotną przyczyną śmierci kobiet na całym świecie. Szacuje się, że około 80% kobiet nabywa wirusa w czasie swojego życia, a 5-10% z nich nie udaje się usunąć go z organizmu, co doprowadza do rozwoju choroby [91]. Pozostała część zakażonych kobiet eliminuje HPV z układu rozrodczego, dzięki istnieniu mechanizmów odpornościowych [91]. Ponad 40 typów HPV powoduje zakażenia dróg płciowych u ludzi, z czego 15 stwarza wysokie ryzyko rozwoju raka szyjki macicy [91,120]. Najczęstszą przyczyną choroby nowotworowej są HPV-16 i -18, które powodują około 70% przypadków raka szyjki macicy na świecie [16]. Zakażenie HPV zazwyczaj przebiega bezobjawowo, dlatego ważne są regularne badania cytologiczne, w celu wykrycia ewentualnej choroby. Obecnie dostępna jest również szczepionka przeciw HPV-16 i -18, która zapewnia minimum 5-letnią odporność [91].

W dolnych drogach rodnych kobiety wykształciły się mechanizmy odporności nieswoistej przeciwko zakażeniu HPV. W stanach przedrakowych liczba komórek dendrytycznych i NK w szyjce macicy wzrasta wraz z postępem zachodzących zmian, ale wraca do prawidłowego poziomu po kancerogenezie [68]. Świadczy to o wzmożeniu lokalnych funkcji immunologicznych w stanach przedrakowych, natomiast stadium raka szyjki macicy doprowadza do utraty tej ochrony. Podobnie stwierdzono, że TNF- $\alpha$  i TGF- $\beta$ , wytwarzane przez zakażone keratynocyty, zmniejszają ekspresję genów E6/E7 HPV-16 lub -18 w komórkach, które nie uległy jeszcze transformacji nowotworowej, podczas gdy postępowanie kancerogenezy zmniejsza wrażliwość zakażonych komórek na te cytokiny [69]. Według badań przeprowadzonych przez Bucka i wsp., ludzkie defenzyny HNP-1-3 oraz HD-5 są silnymi antagonistami zakażenia wirusem brodawczaka ludzkiego, ze szczególnym znaczeniem HD-5 przeciwko HPV przenoszonym drogą płciową [7]. Stężenie tych substancji w dolnych drogach rodnych jest wystarczające do zahamowania zakażenia HPV *in vitro*, co może wskazywać, że zapewniają one ochronę również w warunkach *in vivo* [7]. Przedstawione wyniki mogą stanowić wyjaśnienie wysokiego odsetka kobiet, u których dochodzi do naturalnego usunięcia wirusa z organizmu.

## Bakteryjne zakażenie pochwy

Bakteryjne zakażenie pochwy (bacterial vaginosis - BV) to najczęstsza przyczyna dysfunkcji układu moczowo-płciowego u kobiet w wieku reprodukcyjnym, której etiologia nie jest do końca poznana [14]. Zwykle przebiega bezobjawowo i jest zespołem zaburzeń wywołanych przez liczne mikroorganizmy, charakteryzujący się wzrostem pH (pH>4,5) w pochwie, spadkiem liczby bakterii z rodzaju *Lactobacillus* wytwarzających H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oraz dużym wzrostem bakterii fakultatywnie bądź beztlenowych [14]. Są nimi: *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella* sp., *Bacteroides* sp., *Mobiluncus* sp., *Mycoplasma hominis*, *Atopobium vaginae*, *Megasphaera* sp., *Peptostreptococcus* sp., *Clostridium* sp., *Leptotrichia* sp., *Peptoniphilus* sp. oraz *Eggerthella* sp. [79]. Gatunkiem, który występuje w 88-98% klinicznie zdiagnozowanych przypadków BV u kobiet jest *Gardnerella vaginalis*, która odgrywa istotną rolę w jego patogeniezie



[2]. Jednak została ona zdiagnozowana w pochwie 50-70% zdrowych kobiet, dlatego też nie jest swoistym markerem w rozpoznaniu BV, podobnie jak *Atopobium vaginae* [33]. Według Fredricksa i wsp. bardziej swoiste dla BV są drobnoustroje *Megasphaera*, *Leptotrichia* oraz *Eggerthella* [33].

Przyjmuje się, że typową cechą BV jest brak stanu zapalnego błony śluzowej pochwy, dlatego jest nazwany zakażeniem (*vaginosis*), a nie zapaleniem (*vaginitis*) [62]. Prawdopodobnie jest to związane z zahamowaniem napływu leukocytów podczas tego zakażenia, czego przyczyną może być wzrost stężenia różnych substancji bakteryjnych [9]. Stwierdzono, że bardziej swoiste wpływają one na poziom IL-8 niż IL-1 $\beta$  [10]. Wykazano, że swoiste proteazy wytwarzane przez bakterie mogą być odpowiedzialne za rozpad IL-8, a cytolizyna pochodząca z *G. vaginalis* hamuje wytwarzanie chemokiny przez komórki (w tym neutrofile) [11]. W przeciwieństwie do komensalnych *Lactobacillus*, których liczba w BV jest dużo mniejsza, *G. vaginalis* nie indukuje podwyższenia poziomu HBD-2 i IL-8, a jedynie wpływa na niewielki wzrost stężenia IL-1 $\beta$  [107]. Zwiększenie koncentracji IL-1 $\beta$  jest na tyle małe, że nie dochodzi do pobudzenia wydzielania HBD-2 (human beta defensin-2) i IL-8. Powoduje to spadek stężenia IL-8 odpowiadającej za chemotaksję leukocytów, głównie neutrofilów, dlatego też ich liczba nie ulega zwiększeniu, co wyjaśnia również niski poziom HNP (human neutrophil peptides) [9,10,107]. Brak migracji leukocytów jest także związany z obniżeniem się poziomu SLPI u kobiet z BV w stosunku do zdrowych [78]. Dochodzi natomiast do podwyższenia poziomu laktoferyny i wspomnianej IL-1 $\beta$ , co może wskazywać, że układ odpornościowy stara się chronić organizm przed patogenami [9,78]. Jednakże udowodniono korelację między wzrostem stężenia IL-1 $\beta$  i TNF- $\alpha$  w przebiegu BV, a zwiększeniem prawdopodobieństwa zakażenia HIV, dlatego taki mechanizm działania wrodzonego układu odpornościowego nie jest do końca skuteczny w ogólnym ujęciu ochrony dolnych dróg rodnych [103]. Niektórzy naukowcy sugerują, że podczas przebiegu BV, oprócz podwyższonego stężenia IL-1 $\beta$  dochodzi również do wzrostu IL-1 $\alpha$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , a nawet IL-8 oraz zwiększenia chemotaksji leukocytów, co może wskazywać na związek między BV a rozwojem stanu zapalnego [109]. Inni autorzy, którzy także stwierdzili wzrost liczby leukocytów w pochwie i rozwój stanu zapalnego w przebiegu BV sugerują, że może mieć to związek ze współistnieniem innych zakażeń dolnych dróg rodnych, bądź nie uwzględnili w swoich badaniach możliwości istnienia innych chorób, co może skutkować błędnymi wnioskami w stosunku do bakteryjnego zakażenia pochwy [20].

### ***Chlamydia trachomatis***

*Chlamydia trachomatis* to wewnątrzkomórkowa bakteria, która jest jedną z najczęstszych przyczyn chorób przenoszonych drogą płciową. Może wywoływać zapalenie cewki moczowej, szyjki macicy oraz zapalenie narządów miednicy mniejszej (pelvic inflammatory disease – PID). W 70% przypadków u kobiet zakażenie przebiega bezobjawowo, przez co jest niezauważone, powodując poważne uszkodzenia dróg rodnych, doprowadzając nawet

do niepłodności [70]. Według WHO w 1999 r. w Europie Wschodniej stwierdzono prawie 3 mln przypadków zakażeń chlamydiami wśród dorosłych, natomiast w ciągu roku dochodzi do ponad 90 mln zakażeń na świecie [85]. Badania wskazują na występowanie współzakażenia HSV-2, czy *Neisseria gonorrhoeae* u osób z *C. trachomatis* [30,108].

Zakażenie dróg rodnych chlamydiami wywołuje reakcje ze strony wrodzonych mechanizmów odpornościowych. W śluzie pochwowym stwierdzono duże stężenie HBD1 i HBD2 w odpowiedzi na *C. trachomatis* [111]. Komórki nabłonkowe odgrywają zasadniczą rolę w odporności przeciwko tej bakterii [101]. W wyniku obecności w ich wnętrzu *Chlamydia trachomatis*, wydzielają zwiększone ilości IL-8, IL-1 $\alpha$ , IL-6, GM-CSF oraz GRO $\alpha$  (CXCL1), co powoduje chemotaksję lub aktywację komórek wrodzonego układu odpornościowego, takich jak neutrofile czy makrofagi [82]. Wzrost wytwarzania IL-8 może być związany ze wzrostem IL-1 $\alpha$ , bądź niezależnie od niego [82]. Komórki dendrytyczne również mogą ulegać zakażeniu chlamydiami, ze względu na ich występowanie wśród komórek nabłonka. Obydwa rodzaje komórek wytwarzają IL-12 i IL-18 w wyniku zakażenia, co doprowadza do pobudzenia komórek NK [52]. Reagują one wydzielaniem IFN- $\gamma$ , który prawdopodobnie sprzyja eliminacji chlamydii oraz aktywuje makrofagi do uwalniania mediatorów zapalnych, w wyniku czego dochodzi do pobudzenia fibroblastów i zwiększonego wytwarzania kolagenu [52,84]. Zakażone komórki nabłonkowe wykazują także zmniejszoną ekspresję MHC klasy I, w wyniku czego komórki NK doprowadzają do ich lizy [53]. Zakażenie *C. trachomatis* powoduje wzrost wytwarzania TNF- $\alpha$  w szyjce macicy, który pełni podobne funkcje do IFN- $\gamma$  w jej zwalczaniu [84]. Badania przeprowadzone przez Darville'a i wsp. dowodzą, że mysie makrofagi pozbawione TLR-2 (TLR-2 $^{-/-}$ ) wydzielają znacznie mniejsze ilości TNF- $\alpha$  i IL-6 w porównaniu do myszy szczepu dzikiego, natomiast myszy z deficytem TLR-4 (TLR-4 $^{-/-}$ ) charakteryzowały się wzrostem uwalniania tych cytokin [18]. Oznacza to, że TLR-2 wpływa na zwiększenie wydzielania cytokin przez makrofagi, a TLR-4 zmniejsza ich uwalnianie. Wyniki te wskazują na ważną rolę TLR-2 we wrodzonych mechanizmach odporności przeciwko *C. trachomatis*, natomiast obecność TLR-4 może powodować osłabienie przekazywania sygnałów za pośrednictwem TLR-2 bądź zmniejszać jego ekspresję [18]. Inne badania wskazują, że LPS pochodzący z bakterii pobudza makrofagi do uwalniania cytokin prozapalnych, ale ze względu na to, że głównymi komórkami atakowanymi przez bakterie są komórki nabłonkowe, które słabiej reagują na LPS, nie odgrywa on dużej roli w indukowaniu odpowiedzi immunologicznej [101].

Neutrofile odgrywają ważną rolę w kontroli wczesnego stadium zakażenia chlamydiami. Granulocyty obojętne i makrofagi, występujące w drogach rodnych myszy, mogą odpowiadać za pierwotne uwalnianie TNF- $\alpha$ , który zwiększa chemotaksję innych neutrofilów [17]. Wraz z monocytami napływają w dużej liczbie do miejsca zakażenia w przeciągu 1-2 dni od czasu wtargnięcia patogenu, gdzie ułatwiają jego eliminację. Ponadto, ciała elementarne chlamydii (elementary bodies – EB) są także chemo-

taktyczne dla neutrofilów, po części w wyniku aktywacji granulocytów poprzez składową dopełniacza - C5a oraz odpowiadają za uwalnianie HNP-2 z granulocytów [118].

### *Neisseria gonorrhoeae*

*Neisseria gonorrhoeae* (dwoinka rzeżączki) to zewnątrzkomórkowa Gram-ujemna bakteria, która wywołuje rzeżączkę, należąca do chorób przenoszonych drogą płciową. Zakażenie dotyka ponad 60 milionów ludzi na świecie, głównie w krajach słabo rozwiniętych [37]. U kobiet atakuje komórki szyjki macicy, wywołując zapalenie, które najczęściej przebiega bezobjawowo, ale może skutkować przewlekłymi dysfunkcjami górnego odcinka żeńskich narządów płciowych [21]. Długotrwałe zakażenie prowadzi do zapalenia narządów miednicy mniejszej (PID), a w konsekwencji do niepłodności bądź ciąży pozamaciczných. Jedna na 10 kobiet cierpi z powodu PID, a w 40% przypadków czynnikiem etiologicznym jest *N. gonorrhoeae* [21]. Ponadto rzeżączka zwiększa podatność na zakażenie HIV-1, przez zaburzenie integralności błony śluzowej oraz nasilenie lokalnej ekspresji wirusowego RNA [13].

Zakażenie *N. gonorrhoeae* wywołuje silną odpowiedź zapalną wywołaną przez neutrofile, które stanowią pierwszą linię obrony podczas zakażenia. W niektórych przypadkach, mimo obecności dużej liczby granulocytów obojętnochłonnych, zakażenie postępuje, co wskazuje na powstanie mechanizmów obronnych bakterii przeciwko odporności gospodarza. Badania wykazują, że dwoinka rzeżączki może przetrwać i dzielić się wewnątrz neutrofilów. Poznano dwa sposoby ucieczki bakterii przed układem immunologicznym [60]. Pierwszym są czynniki zjadliwości *N. gonorrhoeae* (białka Opa, pile, lipooligosacharyd), które bronią patogen przed tlenowymi i pozatlenowymi mechanizmami zabijania przez neutrofile. Drugim sposobem jest modulowanie zdolności fagocytarnych granulocytów i wydzielania przez nich substancji przeciwbakteryjnych. Zauważono również że *N. gonorrhoeae* pobudza neutrofile do aktywności oksydacyjnej tylko w fagolizosomach, natomiast pozakomórkowo nie wykazuje takich właściwości. Prawdopodobnie wyjaśnia to możliwości przeżycia bakterii na zewnątrz komórek w obecności dużej liczby granulocytów [31].

Badania przeprowadzone przez Fichorova i wsp. wskazują, że podczas zakażenia dwoinką rzeżączki dochodzi do wzmoczonego uwalniania IL-1, IL-6 oraz IL-8 przez komórki dolnych dróg rodnych. Obecność IL-8 mogłaby wskazywać na wzmoczoną rekrutację neutrofilów do miejsca zakażenia, natomiast Hedges i wsp. nie zauważyli wzrostu wydzielania tych cytokin, co dodatkowo zostało poparte innym doświadczeniem z użyciem RT-PCR [21]. W tym przypadku brak wydzielania IL-8 przeczy napływowi granulocytów, który jest obserwowany w obecności *N. gonorrhoeae*. Wyjaśnieniem tego mogą być kolejne badania, wskazujące, że za migrację neutrofilów odpowiada IL-17 pochodząca z limfocytów Th17 [22].

Podczas zakażenia dwoinką rzeżączki zauważono także, że ludzkie  $\beta$ -defezyny 1-4 (HBD-1 - 4) oraz SLPI, wydziela-

ne przez komórki nabłonkowe szyjki macicy, zapobiegają zakażeniu i hamują wzrost *N. gonorrhoeae* [113].

### *Candida albicans*

*Candida albicans* jest gatunkiem bezotoczkowego grzyba zaliczanego do drożdżaków (*Saccharomycetes*). W warunkach fizjologicznych zasiedla pochwę u 20% zdrowych kobiet, dlatego często jest zaliczany do komensalnej flory występującej w dolnych drogach rodnych [113]. 80-95% przypadków drożdżakowego zapalenia pochwy i sromu (vulvovaginal candidiasis - VVC) jest wywołana tym gatunkiem, a 75% kobiet w wieku rozrodczym przynajmniej raz w ciągu życia zostaje dotkniętych tą przypadłością, którą zalicza się do chorób przenoszonych drogą płciową [113]. Prawdopodobieństwo wystąpienia VVC wzrasta podczas fazy lutealnej cyklu menstruacyjnego, w czasie stosowania antykoncepcji hormonalnej bądź podczas antybiotykoterapii oraz u diabetyków [4,29].

Niewiele badań wskazuje na rolę wrodzonego układu immunologicznego w odporności przeciwko *C. albicans* w pochwie [27]. Brakuje informacji na temat komórek NK, makrofagów i komórek dendrytycznych [77]. Badania *in vitro* dotyczące roli komórek nabłonkowych pochwy w odporności przeciw *C. albicans*, wskazują że hamują one wzrost drożdżaka, ale mechanizmy działania nie są dokładnie poznane [77]. Więcej doniesień powstało w oparciu o doświadczenia wykonane na modelu kandydozy przewodu pokarmowego bądź drożdżycy systemowej, w której wrodzony układ odpornościowy odgrywa dużą rolę w ochronie organizmu. Badania przeprowadzone na VVC dotyczą najczęściej mechanizmów odporności nabytej, która wydaje się mieć większe znaczenie w przypadku drożdżycy dolnych narządów rodnych, co może wynikać z ich specyficznego charakteru.

Komórkami dominującymi w pierwszej fazie zakażenia *C. albicans* we krwi są neutrofile [4]. Natomiast podczas zakażenia w pochwie, obserwuje się napływ granulocytów obojętnochłonnych, przy czym badania *in vivo* wskazują, że nie wywołują one stanu zapalnego i nie odgrywają roli w eliminacji patogenu [29]. Ciekawe jest to, że w warunkach *in vitro* neutrofile zabijają komórki drożdżaka. Może mieć to związek z przypuszczalnym występowaniem mechanizmów immunoregulacyjnych w pochwie, które zapobiegają temu w naturalnych warunkach [29]. Stwierdzono także, że wzrost liczby granulocytów w pochwie może być zależny jedynie od zmian w poziomie hormonów płciowych i nie jest związany z obecnością *C. albicans*, dlatego nie obserwuje się reakcji obronnej neutrofilów [29]. Wiadomo jednak, że do zakażenia drożdżakiem dochodzi najczęściej w fazie lutealnej, gdy nabłonek pochwy jest znacznie cieńszy, czyli bardziej podatny na przenikanie patogenów [4]. W tej fazie również liczba granulocytów jest wysoka, co mogłoby wyjaśniać niewłaściwe powiązanie wzrostu liczby neutrofilów w pochwie z zakażeniem *C. albicans*. Inni naukowcy biorą pod uwagę pojawienie się symptomów choroby bądź ich brak, co według nich ma znaczenie w migracji komórek zapalnych do pochwy. Badania Fidela i wsp. wskazują, że liczba neu-

trofilów jest wyższa u kobiet, u których wystąpiły objawy kandydozy pochwy, w porównaniu z bezobjawowym przebiegiem zakażenia [28]. Ten i kolejne eksperymenty z ostatnich lat wskazują, że granulocyty obojętnochłonne nie pełnią funkcji obronnej podczas VVC, lecz ich zwiększony naciek doprowadza do niszczenia komórek nabłonka i odpowiada za wystąpienie objawów kandydozy [28].

### *Trichomonas vaginalis*

*Trichomonas vaginalis* (rzęsitek pochwowy) to beztlenowy pierwotniak z grupy wiciowców (*Flagellata*), żyjący pozakomórkowo. Powoduje rzesistkowicę, należącą do chorób przenoszonych drogą płciową, która w 10-50% przypadków u kobiet przebiega bezobjawowo [74]. Według WHO w 2005 r. stwierdzono 285 mln nowych przypadków zakażeń *T. vaginalis* wśród dorosłych (15-49 lat), głównie u kobiet [116] rzesistek pochwowy zwiększa ryzyko przenoszenia i zakażenia HIV 1,5-3 razy [65]. Może również powodować wiele innych powikłań, takich jak zapalenie narządów miednicy mniejszej, niepłodność, przedwczesny poród [23].

Zakażenie *T. vaginalis* jest często nawracające, bez wytworzenia trwałej odporności, dlatego nieswoiste mechanizmy obronne pełnią tutaj główną rolę [23]. Duże znaczenie ma zaburzenie fizjologicznych warunków mikrośrodowiska pochwy. Wzrost pH do 6,5 i więcej zwiększa ryzyko zakażenia rzesistkiem [20].

Neutrofile odgrywają główną rolę podczas zakażenia rzesistkiem, ale wciąż mało jest doniesień na temat

przyczyny ich migracji i sposobu w jaki pobudzają odpowiedź zapalną w czasie ostrego zakażenia [86]. Uważa się, że chemoatraktanty wydzielane w miejscu obecności rzesistka pełnią ważną funkcję w napływie leukocytów. Prawdopodobnie są nimi IL-8 i leukotrien B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>), których wysoki poziom stwierdzono w pochwie u kobiet z objawami rzesistkowicy [94]. Leukotrien B<sub>4</sub> to czynnik aktywujący neutrofile, pochodzący z *T. vaginalis* bądź z samych neutrofilów, które uwalniają go pod wpływem odpowiedzi humoralnej podczas zakażenia pasożytem [95]. Badania wykazują, że zarówno neutrofile, jak i monocyty wydzielają IL-8 w odpowiedzi na *T. vaginalis* [86,96]. Oprócz funkcji chemotaktycznej, IL-8 pobudza neutrofile do degranulacji, wybuchu tlenowego oraz aktywności 5-lipooksygenazy [96]. Najnowsze badania wskazują również na rolę tlenku azotu (NO), wydzielanego przez granulocyty obojętnochłonne w odpowiedzi na sygnały purynergiczne stymulowane przez rzesistka pochwowego [32]. Lipopolisacharyd (LPS) rzesistka jest silnym czynnikiem pobudzającym uwalnianie NO [32]. Aktywowane makrofagi również wydzielają NO na skutek obecności *T. vaginalis*, na co wskazują wcześniejsze doniesienia [80]. Tlenek azotu jest jednym z najbardziej powszechnych związków odpowiadających za migrację leukocytów i zmiany w funkcjonowaniu mechanizmów immunologicznych. Prawdopodobnie bierze udział w pobudzaniu granulocytów obojętnochłonnych do migracji i pełnienia przez nie funkcji odpornościowych, takich jak tlenowe mechanizmy zabijania drobnoustrojów, czy fagocytoza, a jego działalność może ostatecznie doprowadzić do uszkodzenia tkanek [32].

### PIŚMIENICTWO

- [1] Ahmed N., Hayashi T., Hasegawa A., Furukawa H., Okamura N., Chida T., Masuda T., Kannagi M.: Suppression of human immunodeficiency virus type 1 replication in macrophages by commensal bacteria preferentially stimulating Toll-like receptor 4. *J. Gen. Virol.*, 2010; 91: 2804-2813
- [2] Aroutcheva A.A., Simoes J.A., Behbakht K., Faro S.: Gardnerella vaginalis isolated from patients with bacterial vaginosis and from patients with healthy vaginal ecosystems. *Clin. Infect. Dis.*, 2001; 33: 1022-1027
- [3] Ashkar A.A., Rosenthal K.L.: Interleukin-15 and natural killer and NKT cells play a critical role in innate protection against genital herpes simplex virus type 2 infection. *J. Virol.*, 2003; 77: 10168-10171
- [4] Barousse M.M., Espinosa T., Dunlap K., Fidel P.L.Jr.: Vaginal epithelial cell anti-Candida albicans activity is associated with protection against symptomatic vaginal candidiasis. *Infect. Immun.*, 2005; 73: 7765-7767
- [5] Boris S., Suárez J.E., Vázquez F., Barbés C.: Adherence of human vaginal lactobacilli to vaginal epithelial cells and interaction with uropathogens. *Infect. Immun.*, 1998; 66: 1985-1989
- [6] Borregaard, N.: Neutrophils: from marrow to microbes. *Immunology*, 2010; 33: 657-670
- [7] Buck C.B., Day P.M., Thompson C.D., Lubkowski J., Lu W., Lowy D.R., Schiller J.T.: Human  $\alpha$ -defensins block papillomavirus infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 1516-1521
- [8] Cauci S., Driussi S., De Santo D., Penacchioni P., Iannicelli T., Lanzafame P., De Seta F., Quadrifoglio F., de Aloysio D., Guaschino S.: Prevalence of bacterial vaginosis and vaginal flora changes in peri- and postmenopausal women. *J. Clin. Microbiol.*, 2002; 40: 2147-2152
- [9] Cauci S., Driussi S., Guaschino S., Isola M., Quadrifoglio F.: Correlation of local interleukin-1beta levels with specific IgA response against Gardnerella vaginalis cytolyisin in women with bacterial vaginosis. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2002; 47: 257-264
- [10] Cauci S., Guaschino S., De Aloysio D., Driussi S., De Santo D., Penacchioni P., Quadrifoglio F.: Interrelationships of interleukin-8 with interleukin-1 $\beta$  and neutrophils in vaginal fluid of healthy and bacterial vaginosis positive women. *Mol. Hum. Reprod.*, 2003; 9: 53-58
- [11] Cauci S., Monte R., Driussi S., Lanzafame P., Quadrifoglio F.: Impairment of the mucosal immune system: IgA and IgM cleavage detected in vaginal washings of a subgroup of patients with bacterial vaginosis. *J. Infect. Dis.*, 1998; 178: 1698-1706
- [12] Chan R.C., Bruce A.W., Reid G.: Adherence of cervical, vaginal and distal urethral normal microbial flora to human uroepithelial cells and the inhibition of adherence of gram-negative uropathogens by competitive exclusion. *J. Urol.*, 1984; 131: 596-601
- [13] Chen A., Boulton I.C., Pongoski J., Cochrane A., Gray-Owen S.D.: Induction of HIV-1 long terminal repeat-mediated transcription by Neisseria gonorrhoeae. *AIDS*, 2003; 17: 625-628
- [14] Cribby S., Taylor M., Reid G.: Vaginal microbiota and the use of probiotics. *Interdiscip. Perspect. Infect. Dis.*, 2008; 2008: 256490



- [15] Cunningham A.L., Mikloska Z.: The Holy Grail: immune control of human herpes simplex virus infection and disease. *Herpes*, 2001; 8 Suppl 1: 6A-10A
- [16] Cutts F.T., Franceschi S., Goldie S., Castellsague X., de Sanjose S., Garnett G., Edmunds W.J., Claeys P., Goldenthal K.L., Harper D.M., Markowitz L.: Human papillomavirus and HPV vaccines: a review. *Bull. World Health Organ.*, 2007; 85: 719-726
- [17] Darville T., Andrews C.W. Jr., Laffoon K.K., Shymasani W., Kishen L.R., Rank R.G.: Mouse strain-dependent variation in the course and outcome of chlamydial genital tract infection is associated with differences in host response. *Infect. Immun.*, 1997; 65: 3065-3073
- [18] Darville T., O'Neill J.M., Andrews C.W. Jr., Nagarajan U.M., Stahl L., Ojcius D.M.: Toll-like receptor-2, but not Toll-like receptor-4, is essential for development of oviduct pathology in chlamydial genital tract infection. *J. Immunol.*, 2003; 171: 6187-6197
- [19] Donders G.G.: Definition and classification of abnormal vaginal flora. *Best. Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, 2007; 21: 355-373
- [20] Donders G.G., Vereecken A., Bosmans E., Dekeersmaecker A., Salembier G., Spitz B.: Definition of a type of abnormal vaginal flora that is distinct from bacterial vaginosis: aerobic vaginitis. *BJOG*, 2002; 109: 34-43
- [21] Edwards J.L., Apicella M.A.: The molecular mechanisms used by *Neisseria gonorrhoeae* to initiate infection differ between men and women. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2004; 17: 965-981
- [22] Feinen B., Jerse A.E., Gaffen S.L., Russell M.W.: Critical role of Th17 responses in a murine model of *Neisseria gonorrhoeae* genital infection. *Mucosal Immunol.*, 2010; 3: 312-321
- [23] Fichorova R.N.: Impact of *T. vaginalis* infection on innate immune responses and reproductive outcome. *J. Reprod. Immunol.*, 2009; 83: 185-189
- [24] Fichorova R.N., Cronin A.O., Lien E., Anderson D.J., Ingalls R.R.: Response to *Neisseria gonorrhoeae* by cervicovaginal epithelial cells occurs in the absence of toll-like receptor 4-mediated signaling. *J. Immunol.*, 2002; 168: 2424-2432
- [25] Fichorova R.N., Desai P.J., Gibson F.C., Genco C.A.: Distinct pro-inflammatory host responses to *Neisseria gonorrhoeae* infection in immortalized human cervical and vaginal epithelial cells. *Infect. Immun.*, 2001; 69: 5840-5848
- [26] Fichorova R.N., Tucker L.D., Anderson D.J.: The molecular basis of nonoxynol-9-induced vaginal inflammation and its possible relevance to human immunodeficiency virus type 1 transmission. *J. Infect. Dis.*, 2001; 184: 418-428
- [27] Fidel P.L. Jr.: Distinct protective host defenses against oral and vaginal candidiasis. *Med. Mycol.*, 2002; 40: 359-375
- [28] Fidel P.L. Jr., Barousse M., Espinosa T., Ficarra M., Sturtevant J., Martin D.H., Quayle A.J., Dunlap K.: An intravaginal live *Candida* challenge in humans leads to new hypotheses for their immunopathogenesis of vulvovaginal candidiasis. *Infect. Immun.*, 2004; 72: 2939-2946
- [29] Fidel P.L. Jr., Luo W., Steele C., Chabain J., Baker M., Wormley F. Jr.: Analysis of vaginal cell populations during experimental vaginal candidiasis. *Infect. Immun.*, 1999; 67: 3135-3140
- [30] Forward K.R.: Risk of coinfection with *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in Nova Scotia. *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.*, 2010; 21: e84-e86
- [31] Fox K.K., Thomas J.C., Weiner D.H., Davis R.H., Sparling P.F., Cohen M.S.: Longitudinal evaluation of serovar-specific immunity to *Neisseria gonorrhoeae*. *Am. J. Epidemiol.*, 1999; 149: 353-358
- [32] Frasson A.P., De Carli G.A., Bonan C.D., Tasca T.: Involvement of purinergic signaling on nitric oxide production by neutrophils stimulated with *Trichomonas vaginalis*. *Purinergic Signal*, 2012; 8: 1-9
- [33] Fredricks D.N., Fiedler T.L., Thomas K.K., Oakley B.B., Marrazzo J.M.: Targeted PCR for detection of vaginal bacteria associated with bacterial vaginosis. *J. Clin. Microbiol.*, 2007; 45: 3270-3276
- [34] Freeman E.E., Weiss H.A., Glynn J.R., Cross P.L., Whitworth J.A.: Herpes simplex virus 2 infection increases HIV acquisition in men and women: systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *AIDS*, 2006; 20: 73-83
- [35] Frew L., Stock S.J.: Antimicrobial peptides and pregnancy. *Reproduction*, 2011; 141: 725-735
- [36] Galask R.P.: Vaginal colonization by bacteria and yeast. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1988; 158: 993-995
- [37] Gerbase A.C., Rowley J.T., Mertens T.E.: Global epidemiology of sexually transmitted diseases. *Lancet*, 1998; 351: S2-S4
- [38] Gill N., Chenoweth M.J., Verdu E.F., Ashkar A.A.: NK cells require type I IFN receptor for antiviral responses during genital HSV-2 infection. *Cell Immunol.*, 2011; 269: 29-37
- [39] Givan A.L., White H.D., Stern J.E., Colby E., Gosselin E.J., Guyre P.M., Wira C.R.: Flow cytometric analysis of leukocytes in the human female reproductive tract: a comparison of fallopian tube, uterus, cervix, and vagina. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 1997; 38: 350-359
- [40] Gupta R., Warren T., Wald A.: Genital herpes. *Lancet*, 2007; 370: 2127-2137
- [41] Hakakha M.M., Davis J., Korst L.M., Silverman N.S.: Leukorrhea and bacterial vaginosis as in-office predictors of cervical infection in high-risk women. *Obstet. Gynecol.*, 2002; 100: 808-812
- [42] Hallett J.M., Leitch A.E., Riley N.A., Duffin R., Haslett C., Rossi A.G.: Novel pharmacological strategies for driving inflammatory cell apoptosis and enhancing the resolution of inflammation. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2008; 29: 250-257
- [43] Hao S., Zhao J., Zhou J., Hu Y., Hou Y.: Modulation of 17 $\beta$ -estradiol on the number and cytotoxicity of NK cells in vivo related to MCM and activating receptors. *Int. Immunopharmacol.*, 2007; 7: 1765-1775
- [44] Hart K.M., Murphy A.J., Barrett K.T., Wira C.R., Guyre P.M., Pioli P.A.: Functional expression pattern recognition receptors in tissues of the human female reproductive tract. *J. Reprod. Immunol.*, 2009; 80: 33-40
- [45] Harwani S.C., Lurain N.S., Zariffard M.R., Spear G.T.: Differential inhibition of human cytomegalovirus (HCMV) by Toll-like receptor ligands mediated by interferon-beta in human foreskin fibroblasts and cervical tissue. *Virology*, 2007; 4: 133
- [46] Hayashi F., Means T.K., Luster A.D.: Toll-like receptors stimulate human neutrophil function. *Blood*, 2003; 102: 2660-2669
- [47] Hazrati E., Galen B., Lu W., Wang W., Ouyang Y., Keller M.J., Lehner R.L., Herold B.C.: Human  $\alpha$ - and  $\beta$ -defensins block multiple steps in herpes simplex virus infection. *J. Immunol.*, 2006; 177: 8658-8666
- [48] Heinemann C., Reid G.: Vaginal microbial diversity among postmenopausal women with and without hormone replacement therapy. *Can. J. Microbiol.*, 2005; 51: 777-781
- [49] Herbst-Kralovetz M.M., Quayle A.J., Ficarra M., Greene S., Rose W.A., Chesson R., Spagnuolo R.A., Pyles R.B.: Quantification and comparison of Toll-like receptor expression and responsiveness in primary and immortalized human female lower genital tract epithelia. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2008; 59: 212-224
- [50] Hickey D.K., Patel M.V., Fahey J.V., Wira C.R.: Innate and adaptive immunity at mucosal surfaces of the female reproductive tract: stratification and integration of immune protection against the transmission of sexually transmitted infections. *J. Reprod. Immunol.*, 2011; 88: 185-194
- [51] Hill J.A.: Cytokines in human reproduction. Wiley-IEEE, 2000
- [52] Hook C.E., Matyszak M.K., Gaston J.S.: Infection of epithelial and dendritic cells by *Chlamydia trachomatis* results in IL-18 and IL-12 production, leading to interferon-gamma production by human natural killer cells. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2005; 45: 113-120



- [53] Hook C.E., Telyatnikova N., Goodall J.C., Braud V.M., Carmichael A.J., Wills M.R., Gaston J.S.: Effects of Chlamydia trachomatis infection on the expression of natural killer (NK) cell ligands and susceptibility to NK cell lysis. *Clin. Exp. Immunol.*, 2004; 138: 54-60
- [54] Iijima N., Linehan M.M., Saeland S., Iwasaki A.: Vaginal epithelial dendritic cells renew from bone marrow precursors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 19061-19066
- [55] Islam A., Safdar A., Malik A.: Bacterial Vaginosis. *J. Pak. Med. Assoc.*, 2009; 59: 601-604
- [56] Iversen M.B., Ank N., Melchjorsen J., Paludan S.R.: Expression of type III interferon (IFN) in the vaginal mucosa is mediated primarily by dendritic cells and displays stronger dependence on NF- $\kappa$ B than type I IFNs. *J. Virol.*, 2010; 84: 4579-4586
- [57] Jenssen H., Sandvik K., Andersen J.H., Hancock R.E., Gutteberg T.J.: Inhibition of HSV cell-to-cell spread by lactoferrin and lactoferricin. *Antiviral. Res.*, 2008; 79: 192-198
- [58] Jimenez-Flores R., Mendez-Cruz R., Ojeda-Ortiz J., Muñoz-Molina R., Balderas-Carrillo O., de la Luz Diaz-Soberanes M., Lebecque S., Saeland S., Daneri-Navarro A., Garcia-Carranca A., Ullrich S.E., Flores-Romo L.: High-risk human papilloma virus infection decreases the frequency of dendritic Langerhans' cells in the human female genital tract. *Immunology*, 2006; 117: 220-228
- [59] John M., Keller M.J., Fam E.H., Cheshenko N., Hogarty K., Kasowitz A., Wallenstein S., Carlucci M.J., Tuyama A.C., Lu W., Klotman M.E., Lehrer R.I., Herold B.C.: Cervicovaginal secretions contribute to innate resistance to herpes simplex virus infection. *J. Infect. Dis.*, 2005; 192: 1731-1740
- [60] Johnson M.B., Criss A.K.: Resistance of Neisseria gonorrhoeae to neutrophils. *Front. Microbiol.*, 2011; 2: 77
- [61] Kaul R., Pettengell C., Sheth P.M., Sunderji S., Biringer A., MacDonald K., Walmsley S., Rebbapragada A.: The genital tract immune milieu: an important determinant of HIV susceptibility and secondary transmission. *J. Reprod. Immunol.*, 2008; 77: 32-40
- [62] Koneman E.W.: Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 6th ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro 2008
- [63] Langenberg A., Corey L., Ashley R., Leong W., Straus S.: A prospective study of new infections with herpes simplex virus type 1 and type 2. *N. Engl. J. Med.* 1999; 341: 1432-1438
- [64] Larsen B., Monif G.R.: Understanding the bacterial flora of the female genital tract. *Clin. Infect. Dis.*, 2001; 32: e69-e77
- [65] Lazenby G.B.: Trichomonas vaginalis screening and prevention in order to impact the HIV pandemic: Isn't it time we take this infection seriously? *Infect. Dis. Rep.*, 2011; 3: 12-14
- [66] Lund J., Sato A., Akira S., Medzhitov R., Iwasaki A.: Toll-like receptor 9-mediated recognition of herpes simplex virus-2 by plasmacytoid dendritic cells. *J. Exp. Med.*, 2003; 198: 513-520
- [67] Lund J.M., Linehan M.M., Iijima N., Iwasaki A.: Cutting edge: plasmacytoid dendritic cells provide innate immune protection against mucosal viral infection in situ. *J. Immunol.*, 2006; 177: 7510-7514
- [68] Ma C., Zhang W.Y., Wang J.D.: Expressions of Th, DC, NK cells in cervical tissue and the relationship with immune functions. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2009; 89: 1650-1653
- [69] Majewski S., Malejczyk J., Jablonska S.: The role of cytokines and other factors in HPV infection and HPV-associated tumors. *Papillomavirus Report*, 1996; 7: 143-154
- [70] Marks E., Tam M.A., Lycke N.Y.: The female lower genital tract is a privileged compartment with IL-10 producing dendritic cells and poor Th1 immunity following Chlamydia trachomatis infection. *PLoS Pathog.*, 2010; 6: e1001179
- [71] Martín R., Soberón N., Vázquez F., Suárez J.E.: Vaginal microbiota: composition, protective role, associated pathologies, and therapeutic perspectives. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, 2008; 26: 160-167
- [72] Milligan G.N., Bourne N., Dudley K.L.: Role of polymorphonuclear leukocytes in resolution of HSV-2 infection of the mouse vagina. *J. Reprod. Immunol.*, 2001; 49: 49-65
- [73] Mossop H., Linhares I.M., Bongiovanni A.M., Ledger W.J., Witkin S.S.: Influence of lactic acid on endogenous and viral rna-induced immune mediator production by vaginal epithelial cells. *Obstet. Gynecol.*, 2011; 118: 840-846
- [74] Mullick S., Watson-Jones D., Beksinska B., Mabey D.: Sexually transmitted infections in pregnancy: prevalence, impact on pregnancy outcomes, and approach to treatment in developing countries. *Sex. Transm. Infect.*, 2005; 81: 294-302
- [75] Murphy S.P., Hanna N.N., Fast L.D., Shaw S.K., Berg G., Padbury J.F., Romero R., Sharma S.: Evidence for participation of uterine natural killer cells in the mechanisms responsible for spontaneous preterm labor and delivery. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2009; 200: 308.e1-e9
- [76] Nasu K., Narahara H.: Pattern recognition via the Toll-like receptor system in the human female genital tract. *Mediators Inflamm.*, 2010; 2010: 976024
- [77] Nomanbhoy F., Steele C., Yano J., Fidel P.L. Jr.: Vaginal and oral epithelial cell anti-Candida activity. *Infect. Immun.*, 2002; 70: 7081-7088
- [78] Novak R.M., Donoval B.A., Graham P.J., Boksa L.A., Spear G., Hershov R.C., Chen H.Y., Landay A.: Cervicovaginal levels of lactoferrin, secretory leukocyte protease inhibitor, and RANTES and the effects of coexisting vaginosis in human immunodeficiency virus (HIV)-seronegative women with a high risk of heterosexual acquisition of HIV infection. *Clin. Vaccine Immunol.*, 2007; 14: 1102-1107
- [79] Oakley B.B., Fiedler T.L., Marrazzo J.M., Fredricks D.N.: Diversity of human vaginal bacterial communities and associations with clinically defined bacterial vaginosis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008; 74: 4898-4909
- [80] Park G.C., Ryu J.S., Min D.Y.: The role of nitric oxide as an effector of macrophage-mediated cytotoxicity against Trichomonas vaginalis. *Korean J. Parasitol.*, 1997; 35: 189-195
- [81] Pioli P.A., Amiel E., Schaefer T.M., Connolly J.E., Wira C.R., Guyre P.M.: Differential expression of Toll-like receptors 2 and 4 in tissues of the human female reproductive tract. *Infect. Immun.*, 2004; 72: 5799-5806
- [82] Rasmussen S.J., Eckmann L., Quayle A.J., Shen L., Zhang Y.X., Anderson D.J., Fierer J., Stephens R.S., Kagnoff M.F.: Secretion of pro-inflammatory cytokines by epithelial cells in response to Chlamydia infection suggests a central role for epithelial cells in chlamydial pathogenesis. *J. Clin. Invest.*, 1997; 99: 77-87
- [83] Raz R., Colodner R., Rohana Y., Battino S., Rottensterich E., Wasser I., Stamm W.: Effectiveness of estriol-containing vaginal pessaries and nitrofurantoin macrocrystal therapy in the prevention of recurrent urinary tract infection in postmenopausal women. *Clin. Infect. Dis.*, 2003; 36: 1362-1368
- [84] Reddy B.S., Rastogi S., Das B., Salhan S., Verma S., Mittal A.: Cytokine expression pattern in the genital tract of Chlamydia trachomatis positive infertile women - implication for T-cell responses. *Clin. Exp. Immunol.*, 2004; 137: 552-558
- [85] Russell M.W., Mestecky J.: Tolerance and protection against infection in the genital tract. *Immunol. Invest.*, 2010; 39: 500-525
- [86] Ryu J.S., Kang J.H., Jung S.Y., Shin M.H., Kim J.M., Park H., Min D.Y.: Production of interleukin-8 by human neutrophils stimulated with Trichomonas vaginalis. *Infect. Immun.*, 2004; 72: 1326-1332
- [87] Sasaki S., Nagata K., Kobayashi Y.: Regulation of the estrous cycle by neutrophil infiltration into the vagina. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2009; 382: 35-40
- [88] Sasaki S., Tamaki Y., Nagata K., Kobayashi Y.: Regulation of the estrous cycle by neutrophils via opioid peptides. *J. Immunol.*, 2011; 187: 774-780

- [89] Sato A., Linehan M.M., Iwasaki A.: Dual recognition of herpes simplex viruses by TLR2 and TLR9 in dendritic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 17343-17348
- [90] Sawicki W.: *Histologia*. Wydanie 4. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2005
- [91] Schwarz T.F., Leo O.: Immune response to human papillomavirus after prophylactic vaccination with AS04-adjuvanted HPV-16/18 vaccine: improving upon nature. *Gynecol. Oncol.*, 2008; 110: S1-S10
- [92] Serhan C.N., Brain S.D., Buckley C.D., Gilroy D.W., Haslett C., O'Neill L.A., Perretti M., Rossi A.G., Wallace J.L.: Resolution of inflammation: state of the art, definitions and terms. *FASEB J.*, 2007; 21: 325-332
- [93] Sewankambo N., Gray R.H., Wawer M.J., Paxton L., McNaim D., Wabwire-Mangen F., Serwadda D., Li C., Kiwanuka N., Hillier S.L., Rabe L., Gaydos C.A., Quinn T.C., Konde-Lule J.: HIV-1 infection associated with abnormal vaginal flora morphology and bacterial vaginosis. *Lancet*, 1997; 350: 546-550
- [94] Shaio M. F., Lin P.R.: Leukotriene B4 levels in the vaginal discharges from cases of trichomoniasis. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 1995; 89: 85-88
- [95] Shaio M. F., Lin P. R.: Influence of humoral immunity on leukotriene B4 production by neutrophils in response to *Trichomonas vaginalis* stimulation. *Parasite Immunol.*, 1995; 17: 127-133
- [96] Shaio M.F., Lin P.R., Liu J.Y., Yang K.D.: Generation of interleukin-8 from human monocytes in response to *Trichomonas vaginalis* stimulation. *Infect. Immunol.*, 1995. 63: 3864-3870
- [97] Shen L., Smith J.M., Shen Z., Hussey S.B., Wira C.R., Fanger M.W.: Differential regulation of neutrophil chemotaxis to IL-8 and fMLP by GM-CSF: lack of direct effect of oestradiol. *Immunology*, 2006; 117: 205-212
- [98] Smith J.W., Jachimowicz J.R., Bingham E.L.: Binding and internalization of herpes simplex virus-antibody complexes by polymorphonuclear leukocytes. *J. Med. Virol.*, 1986; 20: 151-163
- [99] Sochocka M.: Rozpoznawanie patogenów przez wrodzony system odporności. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 676-687
- [100] Sparks R.A., Purrier B.G., Watt P.J., Elstein M.: The bacteriology of the cervix and uterus. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 1977; 84: 701-704
- [101] Stephens R.S.: The cellular paradigm of chlamydial pathogenesis. *Trends Microbiol.*, 2003; 11: 44-51
- [102] Strömbeck L.: Vaginal commensal bacteria: Interactions with cervix epithelial and monocytic cells and influence on cytokines and secretory leukocyte protease inhibitor, SLPI. University of Gothenburg, Gothenburg 2008
- [103] Sturm-Ramirez K., Gaye-Diallo A., Eisen G., Mboup S., Kanki P.J.: High levels of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta in bacterial vaginosis may increase susceptibility to human immunodeficiency virus. *J. Infect. Dis.*, 2000; 182: 467-473
- [104] Thapa M., Carr D.J.: Chemokines and chemokine receptors critical to host resistance following genital herpes simplex virus type 2 (HSV-2) infection. *Open Immunol. J.*, 2008; 1: 33-41
- [105] Trinchieri G., Sher A.: Cooperation of Toll-like receptor signals in innate immune defence. *Nat. Rev. Immunol.*, 2001; 7: 179-190
- [106] Vallor A.C., Antonio M.A., Hawes S.E., Hillier S.L.: Factors associated with acquisition of, or persistent colonization by, vaginal lactobacilli: role of hydrogen peroxide production. *J. Infect. Dis.*, 2001; 184: 1431-1436
- [107] Valore E.V., Wiley D.J., Ganz T.: Reversible deficiency of antimicrobial polypeptides in bacterial vaginosis. *Infect. Immunol.*, 2006; 74: 5693-5702
- [108] Vanover J., Sun J., Deka S., Kintner J., Duffour M.M., Schoborg R.V.: Herpes simplex virus co-infection-induced *Chlamydia trachomatis* persistence is not mediated by any known persistence inducer or anti-chlamydial pathway. *Microbiology*, 2008; 154: 971-978
- [109] Wasiela M., Krzemiński Z., Kalinka J., Brzezińska-Błaszczak E.: Correlation between levels of selected cytokines in cervico-vaginal fluid of women with abnormal vaginal bacterial flora. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 2005; 57: 327-333
- [110] Watari M., Watari H., Fujimoto T., Yamada H., Nishihira J., Strauss J.F., Fujimoto S.: Lipopolysaccharide induces interleukin-8 production by human cervical smooth muscle cells. *J. Soc. Gynecol. Investig.*, 2003; 10: 110-117
- [111] Wiechuła B., Cholewa K., Ekiel A., Romanik M., Dolezych H., Martirosian G.: HBD-1 and hBD-2 are expressed in cervico-vaginal lavage in female genital tract due to microbial infections. *Ginekol. Pol.*, 2010; 81: 268-271
- [112] Wira C.R., Fahey J.V., Sentman C.L., Pioli P.A., Shen L.: Innate and adaptive immunity in female genital tract: cellular responses and interactions. *Immunol. Rev.*, 2005; 206: 306-335
- [113] Wira C.R., Ghosh M., Smith J.M., Shen L., Connor R.I., Sundstrom P., Frechette G.M., Hill E.M., Fahey J.V.: Epithelial cell secretions from the human female reproductive tract inhibit sexually transmitted pathogens and *Candida albicans* but not *Lactobacillus*. *Mucosal Immunol.*, 2011; 4: 335-342
- [114] Wira C.R., Rossoll R.M.: Antigen-presenting cells in the female reproductive tract: influence of sex hormones on antigen presentation in the vagina. *Immunology*, 1995; 84: 505-508
- [115] Witkin S.S., Linhares I.M., Giraldo P.: Bacterial flora of the female genital tract: function and immune regulation. *Best. Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.*, 2007; 21: 347-354
- [116] World Health Organisation: Prevalence and incidence of selected sexually transmitted infections *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, syphilis and *Trichomonas vaginalis*. Methods and results used by WHO to generate 2005 estimates. Geneva 2005
- [117] Yao X.D., Fernandez S., Kelly M.M., Kaushic C., Rosenthal K.L.: Expression of Toll-like receptors in murine vaginal epithelium is affected by the estrous cycle and stromal cells. *J. Reprod. Immunol.*, 2007; 75: 106-119
- [118] Yasin B., Harwig S.S., Lehrer R.I., Wagar E.A.: Susceptibility of *Chlamydia trachomatis* to protegrins and defensins. *Infect. Immunol.*, 1996; 64: 709-713
- [119] Zhao X., Deak E., Soderberg K., Linehan M., Spezzano D., Zhu J., Knipe D.M., Iwasaki A.: Vaginal submucosal dendritic cells, but not Langerhans cells, induce protective Th1 responses to herpes simplex virus-2. *J. Exp. Med.*, 2003; 197: 153-162
- [120] Zur Hausen H.: Roots and perspectives of contemporary papillomavirus research. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 1996; 122: 3-13

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.