

Клинико-микробиологическая, иммунологическая оценка эффективности использования Протефлазида в комплексной терапии воспалительных заболеваний гениталий у женщин

О.В. Ромащенко, А.В. Руденко, С.Л. Рыбалко, Л.А. Лебедь, В.В. Белоголовская, Н.Я. Спивак, Л.Ф. Яковенко

Институт урологии АМН Украины

Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины

Использование Протефлазида в комплексной терапии воспалительных заболеваний гениталий, обусловленных бактериально-вирусной инфекцией, патогенетически обосновано и отличается большей клинической, микробиологической, иммунологической эффективностью в сравнении с традиционными методами лечения данной патологии.

Ключевые слова: воспалительные заболевания гениталий, бактериально-вирусная инфекция, лечение, Протефлазид.

В современных условиях лечение воспалительных заболеваний гениталий и мочевой системы связано со значительными трудностями:

- преобладает ассоциированный характер поражения мочеполовых органов инфекционными возбудителями «новой генерации» – преимущественно хламидиями, моликутами, вирусами;
- последним характерен высокий тропизм к клеткам цилиндрического и промежуточного эпителия;
- персистенция возбудителя в самих клетках.

Последняя особенность позволяет вышеперечисленным возбудителям переживать период активного лечения и обуславливает в некоторой степени неэффективность его проведения, особенно при латентном течении воспалительного процесса.

Учитывая распространенность хронических форм воспалительных заболеваний гениталий, возникает необходимость в переоценке традиционных подходов в лечении данной патологии с использованием современных этиологически и патогенетически обусловленных препаратов.

В этой связи препараты растительного происхождения, обладающие иммуностропным действием, представляют особый интерес, обусловленный способностью последних воздействовать на определенные звенья патологического процесса [1]. Среди таких средств особое место занимает препарат Протефлазид производства отечественной фирмы «Экофарм», обладающий выраженной противовирусной активностью, проявляющейся как *in vitro*, так и *in vivo* по отношению к вирусу герпеса, ветряночного стоматита [2, 3]. Известно, что некоторые препараты могут проявлять противовирусную активность как на уровне специфического торможения вирус-специфических синтезов, так и на уровне вирус-специфических ферментативных реакций. К тому же, противовирусная активность препаратов может реализоваться на уровне системы интерферона (ИФН) или моделирования иммунной системы организма.

Объективным отражением функционального состояния ИФН являются показатели ИФН-статуса. В норме ИФН-статус организма, как правило, характеризуется низкими концентрациями ИФН в сыворотке крови ($4 \leq$ ЕД/мл) и выраженной способностью лейкоцитов синтезировать ИФН-гамма *in vitro* в ответ на адекватную индукцию. Следует отметить, что появление в крови циркулирующего ИФА свидетельствует о наличии в организме в данный момент острого или обострения хронического воспалительного процесса [4].

Установлено, что у женщин с хроническими воспалительными заболеваниями гениталий ИФН-статус характеризуется резким угнетением, а в некоторых случаях, и полным отсутствием гамма-ИФН продуцирующей способности лейкоцитов, что характерно для гинекологических больных с хронической рецидивирующей вирусной инфекцией, осложненной хламидиозом [5].

В настоящее время известно немало индукторов интерферона, которые широко используются как в лечении вирусных заболеваний человека, так и воспалительных заболеваний гениталий бактериально-вирусной этиологии. Так, отмечен дозозависимый эффект воздействия ИФН-гамма на хламидии: высокие уровни данного цитокина полностью задерживают рост хламидий, а низкие уровни – индуцируют развитие морфологически аномальных внутриклеточных форм [6].

К наиболее перспективным соединениям из серии индукторов ИФН относятся препараты, индуцирующие ИФН 1- и 2-го типов. Как известно, некоторые флавоноиды могут быть индукторами ИФН или взаимодействовать с компонентами системы ИФН [7-9].

Следует учитывать также проапоптозные и апоптозные свойства препаратов, используемых в лечении как вирусных, бактериально-вирусных, так и бактериальных инфекций. Роль механизма апоптоза в элиминации пораженных инфицированных клеток и противостояние вирусам и бактерий многих групп процессам апоптоза в клетках активно изучается. Причем, процессы апоптоза, связанные с компонентами системы ИФН в клетках, непосредственно с системой 2-5-олигоденилатсинтетазы, являются ведущим эффекторным звеном, опосредующим воздействие ИФН в клетках [10]. В этом аспекте значительный интерес представляют данные о том, что многие из флавоноидов могут быть индукторами апоптоза в клетках [11]. Проведенные нами ранее

исследования подтвердили это предположение и показали, что препарат Протефлазид позволяет стимулировать продукцию ИФН как *in vitro*, так и *in vivo* и является индуктором как альфа-, так и гамма-ИФН. Протефлазид индуцирует синтез ИФН в умеренных титрах уже через 3 часа после введения препарата. Вместе с тем, данный препарат проявляет проапоптотический эффект на модели апоптоза, индуцированного цитотоксическими препаратами, относящимися к ингибиторам ДНК-топоизомеразы II [12].

Интерферонотропная и апоптозомодулирующая способность препарата Протефлазид имеет существенное значение в механизмах противовирусной и противобактериальной активности и может, на наш взгляд, быть использована в терапии воспалительных заболеваний гениталий вирусно-бактериальной этиологии.

Представленные характеристики препарата Протефлазид были взяты нами за основу при разработке комплекса противовоспалительной терапии хронических воспалительных заболеваний гениталий, обусловленных бактериально-вирусной инфекцией у женщин. План проведения исследований был согласован с автором препарата В.П. Атаманюком.

Целью работы является проведение клинико-микробиологической и иммунологической оценки эффективности использования препарата Протефлазид в комплексной терапии воспалительных заболеваний гениталий.

Материалы и методы

В динамике наблюдения (до и через 1, 3 месяца после лечения) было проведено клинико-микробиологическое и иммунологическое (до и через 3, 6 месяцев после лечения) обследование 60 женщин в возрасте от 18 до 38 лет с хроническими воспалительными заболеваниями органов малого таза давностью от 2 до 6 лет.

Микробиологическое исследование включало выявление бактерий различных таксономических групп, грибов в пробах патологического материала [13, 14]. Для диагностики хламий применяли реакцию иммунофлюоресценции (ПИФ или РНИФ), полимеразную цепную реакцию (ПЦР), цитоскопию соскобов из цервикального канала, уретры. Уровни специфических иммуноглобулинов к хламидийному антигену в сыворотке крови определяли с помощью ИФА [15, 16]. В пробах крови устанавливали наличие антител к вирусам группы герпеса (1- и 2-го типов), цитомегаловирусу [17].

Состояние иммунитета у обследованных женщин оценивалось путем определения показателей клеточного, гуморального иммунитета и неспецифической резистентности организма [18]. Исследование показателей ИФН-статуса включало определение: титров циркулирующего в крови ИФН – сывороточного интерферона (сИФН); уровня продукции ИФН- α лейкоцитами периферической крови при его индукции *in vitro* вирусом болезни Ньюкасла, штамм Канзас; уровня продукции ИФН- γ лимфоцитами периферической крови при его индукции *in vitro* фитогемагглютинином. Титрование ИФН проводили по общепринятой методике [19].

Результаты исследований и их обсуждение

При обследовании пациенток с хроническими воспалительными заболеваниями органов малого таза использовали общие принципы дифференциальной диагностики воспалительных заболеваний гениталий с учетом данных анамнеза, клинико-гинекологического обследования.

Продолжительность заболевания у 8 (13,6%) пациенток не превышала 2 лет, у 46 (76,4%) – была от 2 до 4 лет и у 6 (10,0%) – от 4 до 5 лет. Воспалительные заболевания органов малого таза у обследованных женщин в большинстве случаев протекали латентно.

При гинекологическом обследовании у всех пациенток были выявлены различные патологические изменения со стороны гениталий: у 60 обследованных женщин был установлен хронический сальпингит, у 42 (70,0%) из них в сочетании с оофоритом, у 24 (46,7%) – изменения со стороны шейки матки в виде эрозий и эндоцервицитов, у 11 (18,3%) – кольпиты.

Использование современных диагностических методов показало, что в этиологическом спектре воспалительных заболеваний внутренних половых органов преобладали (независимо в монокультуре или в ассоциации) инфекционные возбудители, передающиеся половым путем «новой генерации»: хламидии – у 33 (55,0%), уреаплазмы – у 24 (40,0%), микоплазмы – у 25 (41,6%), гарднереллы – у 11 (18,3%), трихомонады – у 7 (11,6%), грибы – у 20 (33,3%), вирус герпеса 2-го типа – у 7 (11,6%), традиционные бактерии с высоким микробным числом – у 11 (18,3%) больных. В 98,3% случаев микроорганизмы выявлялись во множественных (двух- и трехкомпонентных) микробных ассоциациях (рис. 1).

Кроме определения возбудителя, выявления его антигена различными методами, были установлены повышенные и значащие титры антител к *Chl. trachomatis* (от 1:40 до 1:80) – у 11 (18,3%), цитомегаловирусу (от 1:400 до 1:1200) – у 4 (6,7%), к вирусу герпеса 2-го типа (от 1:400 до 1:800) – у 7 (11,7%).

Анализ полученных результатов проведенного иммунологического обследования показал, что изменения в системе иммунитета характеризовались достоверным снижением соотношения CD4⁺/CD8⁺ (иммунорегуляторный индекс) до 1,18±0,21 (в контроле 2,56±0,35; p<0,05) за счет достоверного повышения относительного содержания CD8⁺-клеток (Т-супрессоры/цитотоксические клетки) в периферической крови (29,1±3,3%, в контроле 13,1±1,6%, p<0,05). В гуморальном звене иммунитета наблюдались достоверное снижение концентрации IgG (5,9±0,8 г/л, в контроле 11,5±1,8 г/л, p<0,05) и тенденция к повышению уровней циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови (см. рис. 1).

Было установлено достоверное снижение показателя фагоцитарного числа нейтрофилов ($3,21 \pm 0,4$ усл. ед., в контроле $7,1 \pm 2,4$ усл. ед., $p < 0,05$), а также тенденция к снижению показателей фагоцитарного числа (моноциты) и функционального резерва нейтрофилов (рис. 2).

Показатели ИФН-статуса характеризовались повышением сывороточного ИФН ($6,58 \pm 1,1$ Ед/мл, в контроле $3,0 \pm 1,9$ Ед/мл, $p < 0,05$) в сочетании со снижением способности клеток периферической крови к синтезу ИФН- α (в 5,8 раза) и ИФН- γ (в 4,2 раза) *in vitro* в ответ на адекватную индукцию, в сравнении с контролем ($p < 0,05$) (рис. 3).

На основании проведенных исследований и с учетом рекомендаций ВОЗ нами выделены принципы этапности лечения воспалительных заболеваний гениталий, обусловленных микст-инфекцией, у женщин: ранняя диагностика заболевания; выявление и лечение сопутствующей соматической патологии; этиологическое обоснование антибактериальной терапии с учетом микробного числа и индивидуальной чувствительности к препарату; проведение коррекции иммунологических нарушений в организме в зависимости от индивидуальных особенностей; восстановление нормобиоценоза влагалища; профилактика возникновения рецидивов заболевания; одновременное обследование и лечение полового партнера (партнеров); клинический, микробиологический контроль эффективности проведенной терапии через 1, 3 месяца и иммунологический через 3, 6 месяцев после лечения.

Протефлазид назначали для внутреннего приема каплями, нанесенными на кусочек сахара (или пищевой крахмал) по схеме: первая неделя – по 5 капель три раза в день, вторая и третья недели – по 10 капель трижды в день и четвертая неделя – по 8 капель трижды в день. Длительность приема Протефлазида в комплексной противовоспалительной терапии составила 28 дней.

Параллельно во влагалище вводили тампоны с лекарственной смесью, в состав которой включали Протефлазид. Для приготовления такой смеси 3 мл Протефлазида разводили в 20 мл физиологического раствора, вводили во влагалище марлевый тампон, смоченный приготовленным раствором дважды в сутки в течение 10 дней.

На основании проведенных иммунологических исследований и с учетом патогенетических механизмов действия данного препарата, через неделю от начала приема Протефлазида назначалась антибактериальная, десенсибилизирующая, противокандидозная терапия.

Обследованные больные в зависимости от применения терапевтического комплекса были распределены на две группы:

I – 30 женщин с хроническими воспалительными заболеваниями гениталий, обусловленными микст-инфекцией, которые получали традиционную противовоспалительную терапию;

II – 30 женщин с хроническими воспалительными заболеваниями гениталий, обусловленными микст-инфекцией, которые получали противовоспалительную терапию с включением Протефлазида.

Оценка эффективности лечения проводилась через 1 и 3 месяца после лечения при:

1) отсутствии этиологического фактора (факторов) воспалительного процесса;

2) исчезновении клинических признаков воспаления (болевых ощущений, выделений из половых путей, гиперемии слизистой влагалища, шейки матки, пастозности, тяжести придатков, а также болезненности при их смещении);

3) отсутствии рецидивов заболевания в период наблюдения.

Следует отметить, что при проведении базисной терапии состояние обследованных женщин сохранялось стабильным на протяжении всего курса лечения, у 3 (10,0%) больных в первые 2-3 дня наблюдалась субфебрильная температура ($37,1-37,3^\circ$).

При проведении комплексной противовоспалительной терапии с Протефлазидом, через 2-3 дня от начала приема препарата у 7 (23,3%) больных отмечалось значительное усиление выделений из половых путей, причем, у 3 (10,0%) – с примесями редкого гноя. У 3 (10,0%) женщин этой же группы имело место усиление болей в нижних отделах живота и повышение температуры тела до $37,5^\circ$, что свидетельствует об обострении хронического воспалительного процесса органов малого таза, который протекал латентно.

Таким образом, не применяя традиционных препаратов, обостряющих хронический воспалительный процесс, при использовании Протефлазида обострение хронического сальпинго-оофорита отмечалось у 14 (46,6%) больных. Вышеперечисленные признаки обострения хронического воспалительного процесса гениталий исчезали в течение 2-3 дней на фоне терапии с Протефлазидом и до конца лечения не возобновлялись.

Использование вагинальных тампонов с лекарственной смесью, в состав которой входил Протефлазид, характеризовалось развитием краевой и мозаической эпителизации эрозированной поверхности шейки матки к концу лечения у 8 (26,2%) больных и полной эпителизации – у 6 (20%).

Среди 14 (46,6%) пациенток I группы с хроническим сальпинго-оофоритом и фоновыми заболеваниями шейки матки, получающих базисную терапию, позитивные локальные изменения были отмечены лишь в 2 (6,7%) случаях и требовали более активных дополнительных терапевтических действий.

Положительная клиническая динамика при лечении воспалительных заболеваний гениталий, обусловленных микст-инфекцией, установлена у 63,3% больных, получивших базисную терапию, и у 83,3% – после проведения комплексного противовоспалительного лечения с включением Протефлазида ($p < 0,05$).

Положительный микробиологический результат наблюдался у 18 (60,0%) пациенток через 1, 3 месяца после проведения базисной терапии. Однако у 12 (40,0%) женщин этой же группы потребовалось проведение

дополнительных терапевтических действий. При микробиологическом исследовании через 3 месяца после окончания традиционной противовоспалительной терапии у этих женщин повторно определялись двухкомпонентные микробные ассоциации: хламидии с моликутами – у 3 (10,0%), хламидии, микоплазмы, уреаплазмы с грибами – у 9 (30,0%).

После проведения курса комплексной противовоспалительной терапии с Протефлазидом, этиологические факторы воспалительного процесса не определялись у 25 (83,3%) обследованных женщин II группы, однако у 5 (16,7%) пациенток этой же группы сохранялись следующие микробные возбудители: хламидии, микоплазмы и уреаплазмы в монокультуре.

При использовании традиционных антибактериальных средств в терапии воспалительных заболеваний гениталий у женщин с воспалительными заболеваниями гениталий через 3 месяца после окончания лечения наблюдалась значительная дестабилизация иммунного гомеостаза: повышение титров сывороточного ИФН ($10,8 \pm 1,96$ Ед/мл, в контроле $3,0 \pm 1,9$ Ед/мл, $p < 0,05$), спонтанной ($27,3 \pm 1,4\%$, в контроле $15,0 \pm 4,2\%$, $p < 0,05$) и индуцированной продукции ФНО ($48,8 \pm 5,5\%$, в контроле $31,6 \pm 5,3\%$, $p < 0,05$), а также угнетение способности клеток периферической крови к продукции ИФН- α ($8,0 \pm 4,6$ Ед/мл, в контроле $50,4 \pm 8,5$ Ед/мл, $p < 0,05$) и ИФН- γ ($4,0 \pm 1,96$ Ед/мл, в контроле $19,4 \pm 6,8$ Ед/мл, $p < 0,05$) *in vitro* в ответ на адекватную индукцию, снижение соотношения CD4+/CD8+ ($1,57 \pm 0,2$, в контроле $2,56 \pm 0,35$, $p < 0,05$) и концентрации IgG в сыворотке крови ($6,26 \pm 1,1$ г/л, в контроле $11,5 \pm 1,8$ г/л, $p < 0,05$).

Включение Протефлазида в комплексную терапию воспалительных заболеваний гениталий у женщин сопровождалось восстановлением до уровней нормы титров сывороточного ИФН, продукции ФНО, функциональной активности фагоцитирующих клеток, показателей клеточного и гуморального иммунитета уже через 3 месяца после окончания лечения. Сниженной относительно нормы оставалась способность клеток периферической крови к продукции ИФН- α и ИФН- γ *in vitro* в ответ на адекватную индукцию (на 35,1 и 39,5% от значений нормы, соответственно), что требовало дополнительного назначения Протефлазида. Однако через 6 месяцев после окончания лечения показатели иммунитета у пациенток, в схему терапии которых был включен Протефлазид, не отличались от контрольных (рис. 5).

Частота возникновения рецидивов заболевания при проведении базисной терапии составляла 16,6%, а при использовании Протефлазида – 5,0% ($p < 0,05$), что требовало проведения дополнительных терапевтических действий.

Итак, использование Протефлазида в комплексной терапии воспалительных заболеваний гениталий, обусловленных микст-инфекцией, патогенетически обосновано и отличается большей клинической, микробиологической, иммунологической эффективностью в сравнении с традиционными методами лечения данной патологии.

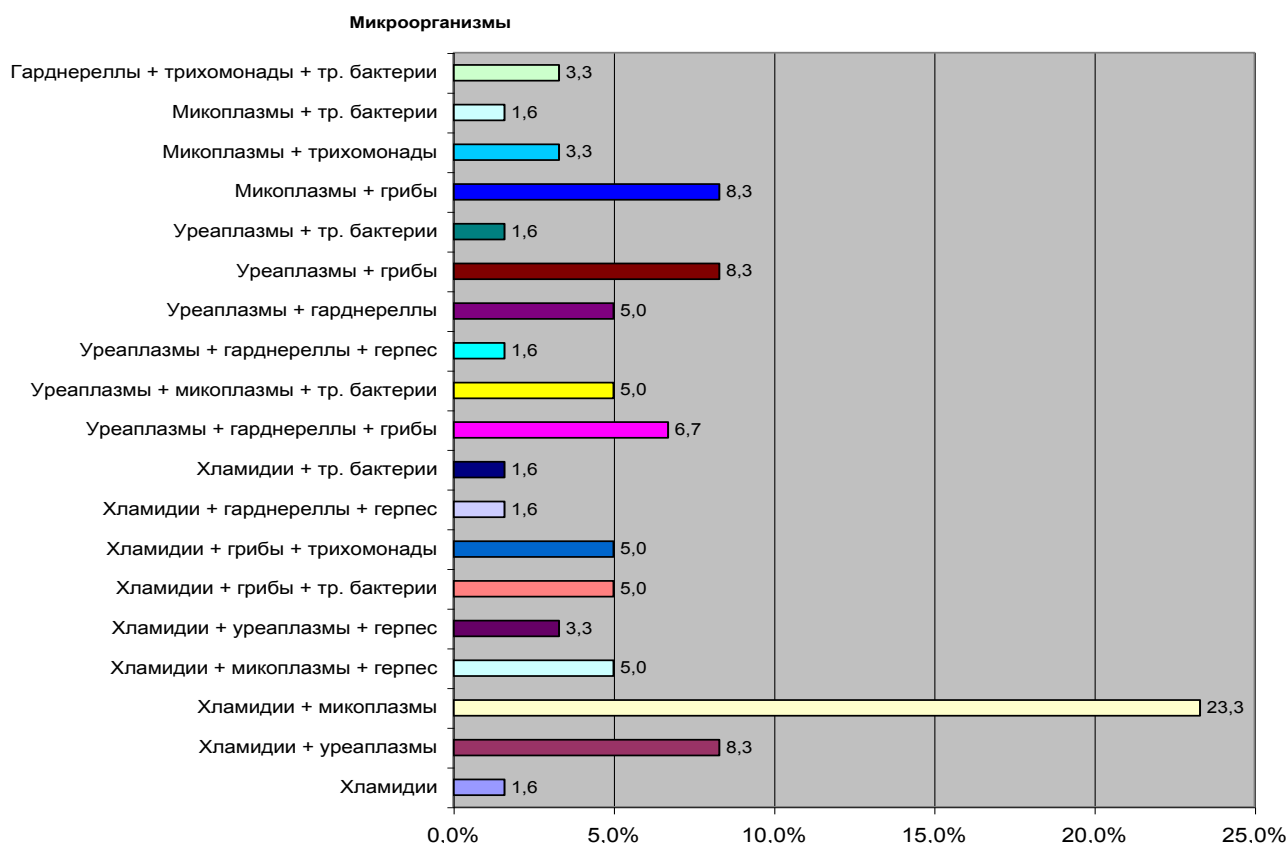


Рис.1. Микробиологический спектр возбудителей, выделенных из половых путей женщин с хроническими воспалительными заболеваниями гениталий

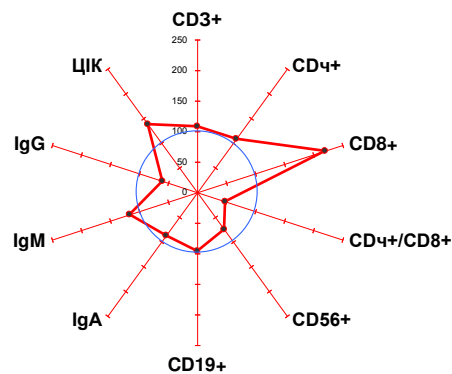


Рис.2. Показатели клеточного и гуморального иммунитета у женщин с воспалительными заболеваниями гениталий

Значение показателей представлено в процентном соотношении к норме, принятой за 100% (радиус круга).

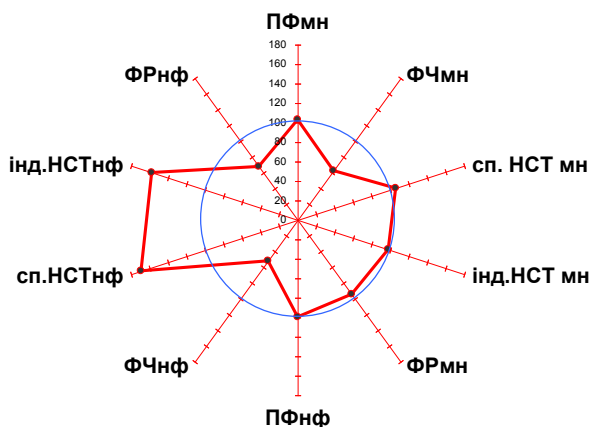


Рис.3. Показатели функциональной активности моноцитов и нейтрофилов в периферической крови у женщин с хроническими воспалительными заболеваниями гениталий

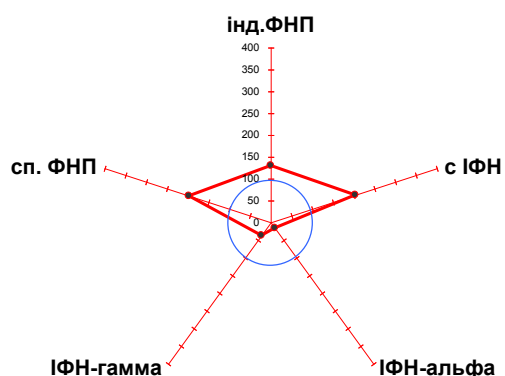


Рис.4. Показатели интерферонового статуса и продукции фактора некроза опухолей у женщин с хроническими воспалительными заболеваниями гениталий

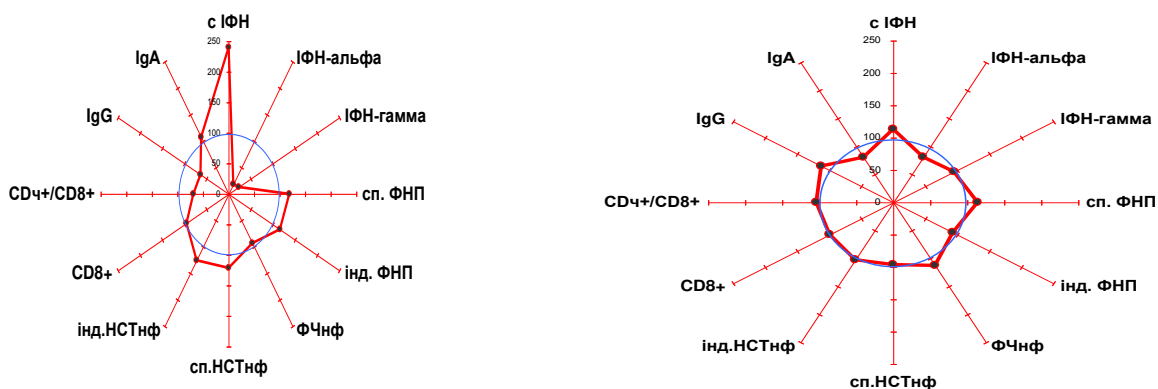


Рис.5. Показатели иммунитета у женщин с хроническими воспалительными заболеваниями гениталий через 6 месяцев

а) – после проведения традиционной терапии;

б) – после терапии с включением Протелазид

Клініко-мікробіологічна, імунологічна оцінка ефективності використання Протефлазиду в комплексній терапії запальних захворювань геніталій у жінок

О.В. Ромащенко, А.В. Руденко, С.Л. Рибалко, Л.О. Лебідь, В.В. Білоголовська, М.Я. Співак, Л.Ф. Яковенко

Використання Протефлазиду в комплексній терапії запальних захворювань геніталій, зумовлених бактеріально-вірусною інфекцією, патогенетично обґрунтовано та відрізняється більшою терапевтичною ефективністю порівняно з традиційними методами лікування за даними клінічного, мікробіологічного, імунологічного обстеження жінок з досліджуваною патологією.

Ключові слова: запальні захворювання геніталій, бактеріально-вірусна інфекція, лікування, Протефлазид.

The clinicomicrobiological and immunological assessment of the efficacy of the use of Proteflazid in complex therapy of the inflammatory diseases of genitals of women

O. V. Romashchenko, A. V. Rudenko, S. L. Rybalko, L. A. Lebed, V. V. Bilogolovskaya, N. Ya. Spivak, L. F. Jakovenko

Use of proteflazid in complex therapy of inflammatory diseases of the genitals caused by a mixt-infection contamination pathogenetically is proved and differs the big clinical, microbiologic, immunological efficacy in comparison with the traditional methods of treatment of this pathology.

Key words: the inflammatory diseases of the genitals, bacterially-viral infection, treatment, Proteflazid.

ЛИТЕРАТУРА

1. Vermani K., Gard S. Herbal medicines for sexually transmitted diseases and AIDS. J. Ethnopharmacol. 2002; 80 (1): 49–66.
2. Рибалко С.Л., Дядюн С.Т., Атаманюк В.П. та ін. Вивчення антигерпетичної активності протефлазиду. Вісник Вінницького державного медичного університету 2002; 6 (2): 350–354.
3. Дюдюн С.Т., Рибалко С.Л., Завелевич М.П. та ін. Нешкідливість препарату Протефлазид: дослідження кісткового мозку мишей та в культурах клітин. Вісник Вінницького державного медичного університету 2002; 6 (2): 273–276.
4. Анкирская А.С. Проблемы хронической (персистирующей) хламидийной инфекции. Акушерство и гинекология 1999; 3: 8–10.
5. Глазкова Л.К., Алипов О.Э. Практические аспекты персистирующей хламидийной инфекции. ИППП 1999; 4: 29–34.
6. Возианов А.Ф., Дранник Г.Н., Руденко А.В., Дриянская В.Е., Ващенко В.В., Сухих Р.Е., Федорук Г.В. Девиация функциональной активности Т-хелперов I и II типов как фактор иммунопатогенеза хронического урогенитального хламидиоза. International journal on immunorehabilitation 2000; 2 (1): 95–101.
7. Ohnishi E., Bannai H. Quercetin potentiates TNF-activity. Antiviral Res. 1993; 22 (4): 327–331.
8. Romero I., Peaz A., Ferruello A., et al. Polyphenols in red wine inhibit the proliferation and induce apoptosis of LNCaP cells. VJU Int. 2002; 89 (9): 950–954.
9. Залевич М.П., Дюдюн С.Т., Рибалко С.Л. та ін. Інтерферогенна та апоптоз-модуюча активність препарату Протефлазид. Вісник Вінницького державного медичного університету 2002; 6 (2): 281–283.
10. Лабораторные методы исследования в клинике. Меньшиков В.В. (ред.). М: Медицина; 1987.
11. Орфила Ж. Современное состояние лабораторной диагностики хламидиозов. В: Актуальные микробиологические и клинические проблемы хламидийной инфекции. Г: НИИЭМ им.Н.Ф. Гамалеи АМН СССР; 1990: 9–14.
12. Castelli J., Wood K.A., Youle R.J. A system in viral infection and apoptosis. Biomed Pharmacoter. 1998; 52 (9): 386–390.
13. Шманек Т.П., Новиков Э.А., Гаврюшкин А.В. Сравнительная оценка активности полимеразной цепной реакции и реакции иммунофлюоресценции при диагностике урогенитальных инфекций. Микробиологический журнал 1998; 1: 86–88.
14. Руденко А.В., Кругликов В.Т. Иммуноферментный анализ 30-летней диагностической практики. Лабораторная диагностика 1999; 3: 11–20.
15. Козлова В.И., Пухнер А.Ф. Вирусные, хламидийные и микоплазменные заболевания гениталий: Руководство для врачей. Г: Филин; 1997.
16. Грачева М.П. Определение бактерицидной силы альвеолярных макрофагов с помощью НСТ-теста. ЖМЭИ 1984; 2: 87–89.
17. Кулаков В.И., Сухих Г.Т., Ванько Л.В. Иммунология репродукции. ВРАМН 1999; 4: 44–48.
18. Матвеева Н.К., Файзуллин Л.З., Альварес М.В. и др. Особенности состояния иммунной системы у женщин с воспалительными заболеваниями гениталий хламидийной и вирусной этиологии. Акушерство и гинекология 1995; 1: 45–47.
19. Григорян С.С., Ершов Ф.И. Методические принципы определения интерферонового статуса. В: Система интерферона в норме и при патологии. М: Медицина; 1996: 147–155.