

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ЛОКАЛЬНЫХ ИММУННЫХ НАРУШЕНИЙ У БОЛЬНЫХ С КАНДИДОЗНО- МИКОПЛАЗМЕННОЙ ИНФЕКЦИЕЙ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА

О. Гизингер, доктор биологических наук, профессор
Южно-Уральский государственный университет
Минздрава России, Челябинск
E-mail: ogizinger@gmail.com

Проведено клинико-иммунологическое обследование 70 женщин репродуктивного возраста с лабораторно подтвержденной кандидозно-микоплазменной инфекцией нижнего отдела уrogenитального тракта. Кроме изменений клинических показателей, у них выявлены дисфункции в системе клеточных факторов врожденного иммунитета: нарушение фагоцитарной активности, кислородзависимого метаболизма. Включение в комплексную схему их терапии аминодигидрофалазиндиона натрия (Галавит®) способствовало более выраженной нормализации клинической картины и бóльшим позитивным изменениям иммунологических показателей, чем в группе сравнения.

Ключевые слова: Галавит®, кандидозно-микоплазменная инфекция, уrogenитальный тракт, иммунитет, нейтрофильный гранулоцит.

В последнее десятилетие участились случаи реверсии клинических признаков или «клинической маскировки» условно-патогенных микроорганизмов, в частности кандидозно-микоплазменных ассоциаций, что обусловлено стабильно-устойчивым ростом доли вызванных ими инфекций в общей структуре заболеваемости, торпидным течением этих инфекций, склонностью к рецидивированию [1, 8–10]. Дисфункции иммунной системы, сопровождающие инфекционно-воспалительные процессы уrogenитального тракта, способствуют дополнительной активации условно-патогенной флоры, в частности облигатных и факультативных анаэробов, которые могут покидать естественные биотопы, проникать через тканевые барьеры во внутреннюю среду макроорганизма, колонизируя ее, и усиливать степень тяжести воспалительных процессов гениталий [2]. Одно из возможных направлений, повышающих эффективность патогенетической терапии заболеваний уrogenитального тракта, вызванных кандидозно-микоплазменными ассоциациями микроорганизмов, — использование иммуотропных препаратов и разработка адекватных методов направленной иммунотропной коррекции как части комплексной терапии [3, 4]. Клинические и экспериментальные исследования последних десятилетий свидетельствуют о возможности модуляции иммунных нарушений путем включения в схему терапевтических мероприятий препаратов, нормализующих течение иммунных реакций [5–7]. В стратегическом плане заслуживает внимание иммуномодулятор Галавит®, который представляет

собой производное аминифалгидрозида — 5-амино-1,2,3,4-тетра-гидрофалазин-1,4-диона натриевую соль. Интерес к возможности применения препарата Галавит® вызван широким спектром его иммунобиологической активности. Доказано, что препарат оказывает иммуномодулирующее и противовоспалительное действие [3]. Его основные фармакологические эффекты, выявленные при проведении доклинических испытаний, обусловлены способностью воздействовать на функционально-метаболическую активность макрофагов [3]. Препарат обратимо на 4–6 ч ингибирует избыточный синтез гиперактивными макрофагами фактора некроза опухоли- α (ФНО α), интерлейкина (ИЛ)-1, других провоспалительных цитокинов, активных форм кислорода, определяющих степень и цикличность воспалительных реакций [3, 7]. Кроме того, препарат стимулирует микробицидную функцию нейтрофильных гранулоцитов, усиливая фагоцитоз, повышая общую колонизационную резистентность организма к действию инфекционных агентов [3, 4]. Использование препарата в комплексных схемах терапии воспалительных заболеваний выявило его стабилизирующее влияние на абсолютное и относительное содержание CD3⁺-, CD4⁺-, СВ8⁺-лимфоцитов периферической крови; его применение приводило к нормализации картины периферической крови, что указывает на его противовоспалительное действие и открывает перспективы для его использования в терапии воспалительных заболеваний органов малого таза. Не менее важно для клинической практики отсутствие при применении препарата местных и общих побочных эффектов, аллергических реакций [3].

Нами изучена клинико-иммунологическая эффективность препарата Галавит® в комплексной терапии воспалительных заболеваний уrogenитального тракта, вызванных кандидозно-микоплазменными ассоциациями микроорганизмов. Было проведено краткосрочное исследование влияния комплексной терапии с использованием иммуномодулятора Галавит® на состояние факторов врожденной антимикробной защиты, цитокиновый профиль, содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови у 70 женщин в возрасте от 19 до 39 лет с сочетанной кандидозно-микоплазменной инфекцией. Исследование выполнено на базе областного кожно-венерологического диспансера Челябинска. Уреаплазмы (*Ureaplasma urealyticum* + *Mycoplasma hominis*) выявляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием тест-систем АмплиСенс производства Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва). Наличие грибов рода *Candida* подтверждено культуральным методом с посевом на среду Сабуро и проростковой пробой. Пациентки, включенные в исследование, дали письменное добровольное информированное согласие на участие в нем в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964), дополненной в 1975, 1983, 1989, 2000 и 2002 г. Основами законодательства Российской Федерации «Об охране здоровья граждан, правил проведения клинической практики в РФ» (Приказ Минздрава РФ №266 от 19.07.03, приказ Росздравнадзора №2325-Пр/06 от 17.10.06). Материалом для исследования служила периферическая кровь. Для анализа иммунологических показателей венозную кровь забирали в пробирки Вакуэт (Австрия), содержащие в качестве антикоагулянта гепарин в стандартном разведении. Общепринятыми методами подсчитывали общее количество лейкоцитов в крови. Поглотительную, лизосомальную способность, кислородзависимый метаболизм нейтрофильных гранулоцитов, макрофагов оценивали после выделения нейтрофилов, макрофагов на двойном градиенте феккола—

верографина. Поглотительную способность нейтрофилов периферической крови исследовали на модели поглощения частиц монодисперсного полистирольного латекса (диаметр 1 частицы – 1,7 мкм). С помощью иммерсионной микроскопии учитывали активность фагоцитоза – процент клеток, захвативших хотя бы 1 частицу латекса, интенсивность фагоцитоза – число поглощенных микросфер латекса в 100 подсчитанных клетках. Кислородзависимый метаболизм макрофагов периферической крови был изучен в реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) [2]. Содержание цитокинов (ИЛ1 α , ИЛ1 β , ИЛ8, ФНО α , интерферон – ИФН – γ), концентрацию IgA, IgM, IgG в периферической крови определяли с использованием соответствующих тест-систем для иммуноферментного анализа (ООО Цитокин, Санкт-Петербург; ООО Вектор-Бест, Новосибирск; Nuncultbiotechnology, Нидерланды). Для исключения сопутствующих инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), всем женщинам было проведено бактериологическое исследование на наличие гонококков и трихомонад согласно методическим рекомендациям Минздрава РФ «Стандартизация медицинской помощи больным гонококковой инфекцией» (Приказ №176 от 28.02.05) и положению Минздрава РФ «О мерах по предупреждению распространения заболеваний, передающихся половым путем (Приказ №291 от 30.07.01). У всех пациенток определяли количество этих возбудителей с помощью тест-системы Микоплазма-Дуо; титр $\geq 10^4$ КОЕ/мл считался диагностически значимым. Культуральной диагностике предшествовало бактериоскопическое исследование материала из заднего свода влагалища и цервикального канала. Микроскопии подвергались окрашенные по Граму и метиленовым синим мазки. Наличие грибов рода *Candida* устанавливали с использованием среды Сабуро и 5% кровяного агара; диагностически значимой считалась концентрация $\geq 10^3$ КОЕ/мл. Результаты подвергали статистической обработке с использованием пакета прикладных программ Statistica for Windows 7.0 с вычислением среднего арифметического и его стандартной ошибки. Достоверность различий средних величин оценивали с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни. Статистические процедуры, используемые для анализа качественных признаков, включали в себя построение таблиц сопряженности с вычислением одностороннего точного критерия Фишера. Различия считали значимыми при $p \leq 0,05$.

В зависимости от метода терапии (с применением иммуномодулятора или без него) 70 женщин с воспалительными заболеваниями нижнего отдела репродуктивного тракта, ассоциированными с генитальными микоплазмами (*U. urealyticum* + *M. hominis*) и грибами рода *Candida*, были разделены на 2 группы, сопоставимые по возрасту (средний возраст – $27,00 \pm 2,55$ года), отсутствию соматической патологии, клиническим проявлениям. Пациентки, включенные в группу стандартной (этиотропной) терапии ($n=30$), получали джозамицин – по 500 мг 2 раза в сутки – и дифлюкан – 150 мг однократно. В группе стандартной терапии + Галавит® ($n=40$) базисные терапевтические мероприятия дополнялись препаратом Галавит® – по 100 мг внутримышечно ежедневно, 5 инъекций. Группа сравнения была представлена 50 женщинами в возрасте от 17 до 35 лет, отобранными при профилактических осмотрах; они не имели в анамнезе декомпенсированных системных заболеваний, ВИЧ-инфекции, ИППП. Контроль элиминации возбудителей проводился культуральным методом и ПЦР через 4 и 8 нед после завершения лечения. Клинический эффект оценивали сразу после окончания лечения и через 30 дней.

Сбор клинико-anamnestических данных показал, что пациенток с воспалительными заболеваниями нижнего отдела репродуктивного тракта, вызванными уреамикоплазмами и грибами рода *Candida*, беспокоили боли внизу живота (44% больных), зуд половых органов умеренной интенсивности (99,2%), рези при мочеиспускании (81%). Патологические выделения отмечались у 100% инфицированных микоплазмами женщин, количество их было умеренным; выделения были гнойными, мутными и слизистыми. После окончания терапии с использованием иммуномодулятора жалобы отмечались у 2,8% пациенток, в группе стандартной терапии – у 19,7%.

В группе комбинированной терапии клиническое выздоровление, снижение титра грибов рода *Candida* и эрадикация микоплазм наступили в 99,15% случаев, тогда как в группе стандартной терапии – в 90,23% случаев. Мы предполагаем, что такой результат связан с тем, что при комплексной терапии по мере освобождения от уропатогена у организма остается больше возможностей для активации системы антиинфекционной защиты, что в конечном счете и влияет на эффективность терапии [7, 8, 12]. Приведенные данные позволяют рассматривать лечение с применением системной иммуномодулирующей терапии препаратом Галавит® как метод повышения клинической эффективности и неспецифической резистентности организма.

Для оценки иммунологической эффективности комплексной терапии генитальных микоплазмозов, сочетанных с кандидозной инфекцией нижнего отдела репродуктивного тракта, было проведено сравнение показателей факторов врожденного иммунитета периферической крови у пациенток, получавших терапию с использованием иммуномодулирующей терапии препаратом Галавит®, и леченных по стандартной схеме (табл. 1). Из табл. 1 видно, что до начала терапии у женщин обеих групп с кандидозно-микоплазменной инфекцией отмечалась дисфункция клеточных факторов врожденной противинфекционной защиты, выраженная в увеличении количества лейкоцитов в периферической крови, жизнеспособных нейтрофилов, усилении лизосомальной активности, повышении кислородзависимого метаболизма по НСТ-тесту, снижении функционального резерва, активности и интенсивности фагоцитоза нейтрофильных гранулоцитов и макрофагов. Дисбаланс в состоянии врожденных клеточных факторов антимикробной защиты послужил основанием для включения в комплексную терапию кандидозно-микоплазменной инфекции репродуктивного тракта иммуномодулирующей терапии препаратом Галавит®.

При включении в схему лечения препарата Галавит® (5 инъекций по 100 мг внутримышечно ежедневно) количество лейкоцитов снизилось с $10,41 \pm 0,59 \cdot 10^9$ до $5,31 \pm 0,3 \cdot 10^9$ /л, количество жизнеспособных нейтрофилов – с $7,22 \pm 0,50$ до $3,02 \pm 0,20$ %. После окончания комплексного лечения с использованием иммуномодулятора Галавит® выявлено снижение лизосомальной активности нейтрофилов периферической крови по отношению к показателю до начала терапии с $66,99 \pm 1,39$ до $18,01 \pm 1,13$ %. Анализ кислородзависимого метаболизма макрофагов периферической крови, изученного по НСТ-тесту показал, что в группе стандартной терапии уровень спонтанной НСТ-редуцирующей активности макрофагов периферической крови составил $33,99 \pm 1,33$ %, что оказалось на 17% выше показателя здоровых женщин – $28,72 \pm 1,40$ %. У пациенток, получавших терапию с применением препарата Галавит®, отмечалась нормализация спонтанной НСТ-редуцирующей активности макрофагов, и на момент завер-

Таблица 1

Состояние клеточных факторов периферической крови у женщин с сочетанной кандидозно-микоплазменной инфекцией нижнего отдела репродуктивного тракта при разных способах терапии (M±m)

Показатели	Здоровые женщины (n=50)	Группа стандартной терапии (n=30)		Группа стандартной терапии + Галавит® (n=40)	
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Лейкоциты, •10 ⁹ /л	6,33±0,29	10,91±0,59*	9,23±0,27	10,41±0,49*	5,31±0,30**
Нейтрофилы жизнеспособные, %	3,99±0,28	7,41±0,34*	5,9±0,17	7,22±0,50*	3,02±0,2**
Лейкоциты жизнеспособные, %	59,44±2,79	62,4±1,55*	60,1±2,2	63,52±1,70*	58,1±2,6**
Лизосомальная активность нейтрофилов, %	18,24±1,4	66,0±2,3*	30,6±1,12**	66,99±1,39*	18,01±1,13**
Лизосомальная активность нейтрофилов, у.е.	29,4±2,56	155,5±22,0*	45,4±2,12**	145,5±22,0*	37,4±2,50**
Активность фагоцитоза нейтрофилов, %	53,44±1,7	37,9±1,71*	47,12±1,74	39,9±1,71*	52,21±1,74**
Интенсивность фагоцитоза нейтрофилов, у.е.	2,25±0,16	1,57±0,03*	1,99±0,74	1,50±0,08*	2,29±1,12**
НСТ-тест МФ спонтанный, %	28,72±1,0	49,33±2,0*	33,99±1,33**	49,71±2,01*	28,02±1,30**
НСТ-тест спонтанный, у.е.	0,33±0,02	0,75±0,04*	0,37±0,02**	0,77±0,04*	0,35±0,02**
НСТ-тест индуцированный, %	52,52±1,9	62,8±2,0*	54,22±1,90	63,8±2,0*	53,52±1,90**
НСТ-тест индуцированный, у.е.	0,69±0,03	1,07±0,05*	0,75±0,04**	1,09±0,05*	0,71±0,03**
ФР	2,10±0,16	1,39±0,10*	1,41±0,16	1,42±0,10*	2,17±0,16**

Примечание. МФ – макрофаг; ФР – функциональный резерв фагоцитов; сравнение показателей разных групп проведено по критерию Манна–Уитни; достоверность различий здесь и в табл. 2: * – с группой здоровых; ** – с аналогичными показателями до лечения; везде p<0,05.

шения лечения данный показатель составил 28,02±1,30%. Таким образом, применение иммуномодулятора Галавит® в комплексе со стандартными этиопатогенетическими мероприятиями способствовало восстановлению активности и интенсивности кислородзависимого метаболизма нейтрофилов, макрофагов, фагоцитоза нейтрофилов, лизосомальной активности фагоцитов периферической крови. У пациенток с генитальной кандидозно-микоплазменной инфекцией нижнего отдела репродуктивного тракта, пролеченных по стандартной методике, к моменту проведения контрольного исследования отмечено нарастание дисфункций клеточных факторов врожденного иммунитета (нейтрофилов, макрофагов).

При изучении содержания в периферической крови ИЛ1α, ИЛ8, ФНОα, ИФНγ, IgA, IgM, IgG также выявлены достоверные различия между их концентрациями до начала лечения и после его завершения. Разнонаправленные изменения содержания в сыворотке крови инфицированных жен-

щин ИЛ1α и ФНОα, играющих важнейшую роль в реализации воспалительного ответа, могут быть причиной нарушений функциональной активности нейтрофилов и макрофагов. В процессе комплексной терапии эти показатели полностью нормализовались. Повышенная до начала лечения концентрация в сыворотке крови ИЛ8 после завершения лечения снизилась в обеих группах, однако в группе стандартной терапии + Галавит® процесс позитивных изменений иммунологических и клинических показателей был более выраженным, что, по нашему мнению, могло быть связано с нормализацией количества нейтрофилов и макрофагов, повлиявшей на снижение продукции ИЛ8. Сниженное до начала лечения содержание ИФНγ в сыворотке крови после комплексной терапии достоверно повышалось до 0,30±0,02 пг/мл.

В сыворотке крови инфицированных женщин до начала лечения было достоверно повышено содержание IgA, что могло быть вызвано активной продукцией антител в ответ

Таблица 2

Содержание иммуноглобулинов и цитокинов в сыворотке крови женщин с кандидозно-микоплазменной инфекцией нижнего отдела репродуктивного тракта при разных способах терапии (M±m)

Показатель	Здоровые женщины (n=50)	Группа стандартной терапии (n=30)		Группа стандартной терапии + Галавит® (n=40)	
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
IgA, г/л	0,67±0,08	1,99±0,2*	0,91±0,03**	1,81±0,2*	0,65±0,06**
IgM, г/л	0,24±0,03	0,23±0,15	0,25±0,02	0,30±0,2*	0,32±0,01**
IgG, г/л	3,28±0,3	5,40±0,78*	3,7±0,2**	4,86±0,8*	3,03±0,1**
ИЛ8, пг/мл	0,43±0,11	11,4±3,4*	5,44±0,1**	12,5±3,4*	4,47±0,11**
ИФНγ, пг/мл	0,03±0,003	0,012±0,001*	0,02±0,003**	0,01±0,001*	0,03±0,002**
ИЛ1α, пг/мл	3,31±0,21	0,17±0,03*	2,81±0,22**	0,2±0,05*	3,52±0,21**
ФНОα, пг/мл	19,22±1,53	1,43±0,41*	7,12±1,54**	1,4±0,51*	17,2±1,5**

на антигенную стимуляцию под влиянием инфекционного агента, усиливающуюся при воспалительном процессе. После комплексной терапии содержание IgA в сыворотке крови нормализовалось. Уровень IgG в сыворотке крови, повышенный до начала лечения, снизился после терапии с применением препарата Галавит® до $3,03 \pm 0,10$ г/л. Достоверных различий в содержании IgM в сыворотке крови до и после лечения в обеих группах не выявлено (табл. 2).

Таким образом, комплексная терапия (с применением препарата Галавит®) воспалительных заболеваний урогенитального тракта, возбудителями которых являются кандидозно-микоплазменные ассоциации микроорганизмов, активирует функции макрофагов с повышением показателей фагоцитоза, способствует устранению дисбаланса цитокиновой регуляции, что свидетельствует о сдвиге соотношения Th1/Th2 в сторону Th1 со стимуляцией преимущественно клеточного звена иммунитета.

Данные исследования позволяют заключить, что:

- включение препарата Галавит® в комбинированную схему лечения женщин с воспалительными заболеваниями нижнего отдела репродуктивного тракта, вызванными уреамикоплазмами и грибами рода *Candida*, способствует устранению значительного числа клинических проявлений;
- препарат Галавит® оказывает иммунокорректирующее действие на состояние факторов врожденной антимикробной защиты у больных с воспалительными заболеваниями урогенитального тракта, ассоциированными с уреамикоплазмами и грибами рода *Candida*: снижаются общее количество нейтрофилов, лизосомальная активность, нормализуются спонтанная и индуцированная НСТ-редуцирующая активность, функциональный резерв нейтрофилов макрофагов периферической крови, повышаются активность и интенсивность фагоцитоза этих клеток.

Литература

1. Гизингер О.А., Долгушин И.И., Летяева О.И. Факторы местного иммунитета репродуктивной системы у женщин с хламидийной инфекцией // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2005; 4: 65–9.

2. Гизингер О.А., Летяева О.И., Зиганшин О.Р. и др. Иммунобиологические дисфункции при осложненной хламидийной инфекции и методы их локальной иммунокоррекции // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2012; 2 (20): 145–55.

3. Латышева Т.В., Щербакова О.А. Новые возможности направленной иммунологической коррекции на примере отечественного иммуномодулятора «Галавит» // Росс. аллергол. журн. – 2004; 1: 77–81.

4. Тихомиров А.Л., Сарсания А.И. Современные подходы к лечению воспалительных заболеваний женских половых органов: метод. рекомендации для врачей акушеров-гинекологов / М., 2006; 32 с.

5. Федорова Ж.П., Миннулина Н.К. Роль условно-патогенной микрофлоры и микробных ассоциаций в инфицировании родовых путей // Казанский мед. журн. – 2011; 2: 112–4.

6. Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В. Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы / М., 2009; 352 с.

7. Хаитов Р.М., Ильина Н.И. Аллергология и иммунология. Национальное руководство / М., 2009; 656 с.

8. Bradshaw C., Jensen J., Tabrizi S. et al. Azithromycin failure in *Mycoplasma genitalium* urethritis // Emerg. Infect. Dis. – 2006; 12: 1149–52.

9. Nelyubov M. Cytokins in the pathogenesis of astrakhan spotted fever and North Asian scrub typhus: problems of immunocorrection // Bull. Exp. Biol. Med. – 2002; 134 (2): 165–7.

10. Pereyre S., Sirand-Pugnet P., Beven L. et al. Life on arginine for *Mycoplasma hominis*: clues from its minimal genome and comparison with other human urogenital mycoplasmas // PLoS Genet. – 2009; 5 (10): 6–7.

11. Stock I. Fungal diseases of vulva and vagina caused by *Candida* species // Med. Monatsschr. Pharm. – 2010; 33 (9): 324–33.

12. Sherrard J., Donders G., White D. European (IUSTI/WHO) Guideline on the Management of Vaginal Discharge [Electronic resource], 2011. Mode of access: <http://www.iusti.ru>.

PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF LOCAL IMMUNE DISORDERS IN PATIENTS WITH CANDIDA AND MYCOPLASMA GENITOURINARY TRACT INFECTION

Professor O. Gizinger, Biol. Dr.

South Ural State Medical University, Ministry of Health of Russia, Chelyabinsk

Clinical and immunological examinations were made in 70 reproductive-aged women with laboratorily verified Candida and Mycoplasma infection of the lower genitourinary tract. In addition to clinical changes, the patients were found to have dysfunctions in the cellular components of the innate immunity system: impairments in phagocytic activity and oxygen-dependent metabolism. Incorporation of aminodihydrophthalaldehyde sodium (Galavit®) into their combination treatment regimen contributed to more obvious normalization of clinical manifestations and more positive immunological changes than in the comparison group.

Key words: Galavit®, *Candida* and *Mycoplasma* infection, genitourinary tract, immunity, neutrophil granulocyte.