

Экстракорпоральная антибиотикотерапия и иммунотерапия в лечении хронических персистирующих урогенитальных инфекций у гинекологических больных

Е. Р. Черных, А. А. Останин, Н. А. Хонина, А. Н. Дробинская, Н. М. Пасман, С. И. Безменова, С. Г. Дёмина, С. Д. Никонов, А. В. Дударева

НИИ клинической иммунологии СО РАМН;

Городская клиническая больница № 1;

Муниципальная специализированная детская больница № 5, Новосибирск

Оценка иммунного статуса у больных с хронической урогенитальной инфекцией показала лабораторные признаки вторичного иммунодефицита по смешанному типу с преимущественным поражением Т-клеточного звена иммунитета и системы нейтрофилов, выраженный дефицит моноцитов, высоко экспрессирующих HLA-DR антигены, а также угнетение пролиферативной активности Т-клеток в ответ на митогенную стимуляцию, что и явилось основанием для проведения экстракорпоральной антибиотико- и иммунотерапии (ЭИТ) этим пациентам. Экстракорпоральная иммунотерапия (ЭИТ) основана на выделении из крови мононуклеарных клеток, стимуляции их *in vitro* интерлейкином-2 и возврате пациенту. У 95 % пациенток и их партнёров основной, 1-й клинической группы после проведении пяти сеансов ЭИТ достигнут положительный клинический эффект, подтверждённый результатами лабораторных и иммунологических исследований. В контрольной группе пациенток после курса антибактериальной терапии излечения удалось добиться лишь у 58,3 %. Результаты исследования доказали высокую эффективность ЭИТ, которая может быть рекомендована в качестве метода выбора при неэффективности традиционных методов лечения хронической персистирующей урогенитальной инфекции.

Актуальность оптимизации терапии урогенитальной инфекции обусловлена ростом числа хронических персистирующих форм, устойчивых к традиционным методам терапии, что обусловлено, с одной стороны, изменением вирулентности микроорганизмов, с другой стороны, снижением противоинфекционного иммунитета у пациентов [1—3, 5, 7—9]. Угнетение клеточного иммунитета может быть связано со следующими механизмами: активной супрессией, опосредованной действием противовоспалительных и Th2 цитокинов; делецией иммунокомпетентных клеток вследствие их гибели (апоптоза); индукцией анергии [10—13, 21]. Повышение резистентности возбудителей, в свою очередь, определяется изменением этиологической структуры урогенитальной инфекции: возрастанием роли условно-патогенных микроорганизмов, в том числе грамотрицатель-

© Коллектив авторов, 2005

ных бактерий и неспорообразующих анаэробов; преобладанием микробных ассоциаций, обладающих более выраженными патогенными свойствами, чем монокультуры (возрастание вирулентности в результате синергидного действия): хламидии + микоплазмы + трихомоны; микоплазмы + анаэробы и т. д.; возрастанием роли простейших, грибов и вирусов.

Цель исследования: изучение эффективности метода сочетанной экстракорпоральной антибиотико- и иммунотерапии (ЭИТ) у гинекологических больных с хронической персистирующей урогенитальной инфекцией.

Метод ЭИТ был ранее апробирован при лечении хирургической инфекции и гнойно-септических послеоперационных осложнений в акушерско-гинекологической и хирургической клиниках (патент № 2000111634/14 (012134)

от 10.05.2000). Взаимодействие антибиотика с нейтрофилами может происходить тремя путями: 1) связывание с клеточной мембраной (имипенемы, β -лактамы); 2) проникновение в клетку (клиндамицин); 3) накопление в цитоплазме или фаголизосомах (макролиды, фторхинолоны). Используя фагоцитирующие клетки как носитель антибиотика, можно существенным образом повысить концентрацию антибиотика в очаге воспаления.

Существует синергизм между бактерицидной активностью антибиотика и бактерицидной активностью самих нейтрофилов. При недостаточной бактерицидной активности нейтрофилов эффективность антибактериальной терапии снижается. Антибиотики могут сорбироваться на мембранах эритроцитов, трансформируясь в иммобилизованную форму, что позволяет снизить их быстрое выведение из кровотока. Бактерицидная активность и захват антибиотиков могут быть усилены под воздействием ряда провоспалительных цитокинов: интерлейкина-1, интерлейкина-2, интерлейкина-6 и т. д. [9, 12—16, 19]. Сотрудниками НИИ клинической иммунологии СО РАМН экспериментально были разработаны оптимальные условия применения цитокинов для активации взаимодействия фагоцитирующих клеток с антибиотиком. Эти разработки послужили основой для создания нового метода, сочетающего в себе элементы антибактериальной и иммуностимулирующей терапии.

Материал и методы

Обследовано 106 пациенток с хронической персистирующей урогенитальной инфекцией (УГИ). Средний возраст пациенток составил $26 \pm 5,8$ лет, партнёров $32,7 \pm 4,6$ лет. Верификация диагноза УГИ и контроль излеченности проводились тремя диагностическими методами: бактериологическим, ПИФ и ПЦР, у части пациентов ($n=26$) иммуногистохимиче-

ским исследованием с моноклональными антителами (на хламидиоз, уреаплазмоз).

В 1-ю клиническую группу вошли гинекологические больные с хронической персистирующей УГИ ($n=82$), неоднократно (от 2 до 8 раз) леченные ранее различными препаратами, которым нами проведено лечение с использованием ЭАИТ. Микст-инфекцию (от двух до шести возбудителей) имели 68 больных (82 %) этой группы. В зависимости от возбудителя применена ЭАИТ со следующими антибактериальными препаратами: цефобид, ровамицин, авелокс, клацид, амоксиклав, метронидазол.

Пациенты 2-й контрольной группы — гинекологические больные, леченные традиционными методами, с использованием современных антибактериальных препаратов ($n=24$). Пациентки как первой, так и второй групп лечились вместе с половыми партнёрами. Проводилось исследование иммунологического статуса пациенток до и после лечения.

При проведении иммунологических исследований из венозной цельной или гепаринизированной крови выделяли стандартными методами лейкоцель, сыворотку, мононуклеарные клетки (МНК). Мононуклеарные клетки в концентрации $0,1 \times 10^6$ /лунку культивировали при 37°C в CO_2 -инкубаторе в 96-луночных круглодонных планшетах в среде RPMI-1640 (Sigma, США), дополненной 0,3 мг/мл L-глутамина, 5 мМ HEPES-буфера, 100 мкг/мл гентамицина и 10 % инактивированной сыворотки доноров АВ (IV) группы. Для стимуляции клеток использовали конканавалин А (КонА, 15 мкг/мл, Sigma) и растворимые моноклональные анти-CD3 антитела (анти-CD3-mAT ICO-90) («Медбиоспектр», Москва) в концентрации 1 мкг/мл. Интенсивность пролиферации оценивали через 72 ч по включению 3Н-тимидина (1 $\mu\text{Кю}$ /лунку).

Методом проточной цитофлюориметрии (FACSCalibur, Becton Dickinson), ис-

пользуя соответствующие моноклональные антитела («Сорбент-сервис», Москва), определяли содержание различных субпопуляций лимфоцитов (CD3+, CD4+ и CD8+Т-лимфоцитов, CD20+В-лимфоцитов), а также относительное количество моноцитов, высоко экспрессирующих HLA-DR антигены (HLA-DRhigh моноциты).

Экстракорпоральная иммунотерапия основана на выделении из крови мононуклеарных клеток, стимуляции их *in vitro* интерлейкином-2 (ИЛ-2) и возврате пациенту. Количество процедур: от 3-х до 7-и, количество ИЛ-2-активированных клеток $0,6—2,0 \times 10^9$.

Результаты исследования и обсуждение

Для того чтобы охарактеризовать состояние иммунитета у больных с хронической урогенитальной инфекцией, был проведён сравнительный анализ иммунологических параметров в исследуемой группе по отношению к нормативным показателям доноров крови (табл. 1) Из представленных данных видно, что у пациенток с хронической рецидивирующей урогенитальной

инфекцией регистрируется лимфопения, дефицит моноцитов, высоко экспрессирующих HLA-DR антигены ($33,0 \pm 3,6$ % против $54,6 \pm 2,7$ %; $pU < 0,01$ в группе здоровых доноров), а также угнетение пролиферативной активности Т-клеток в ответ на митогенную стимуляцию (32770 ± 3400 против 59240 ± 3990 ; $pU < 0,01$; в группе доноров) Таким образом, проведённая оценка иммунитета у пациенток с хронической урогенитальной инфекцией показала наличие у них Т-лимфоцитарно-моноцитарного иммунодефицита, явившегося показанием для проведения экстракорпоральной антибиотико- и иммунотерапии.

Результаты лечения. У 95 % пациенток ($n=78$) и их партнёров основной, 1-й клинической группы после проведении пяти сеансов ЭАИТ достигнут положительный клинический эффект, подтверждённый результатами лабораторных и иммунологических исследований: бактериологическим контролем (излеченность трихомониаза), ПИФ и ПЦР (хламидиоз, уреаплазмоз, микоплазмоз). У 5 % больных с микст-инфекцией ($n=4$) излечение от хронической УГИ достигнуто после повторного курса ЭАИТ. При проведении ЭАИТ пациентам отмечена

Таблица 1. Сравнительная характеристика иммунитета здоровых доноров и больных с хронической персистирующей урогенитальной инфекцией до и после проведения ЭАИТ

Показатель	Доноры ($n=20$)	Динамика показателей в процессе лечения	
		Больные с хронической УГИ до лечения ($n=47$)	Больные после проведения ЭАИТ ($n=45$)
Абс. лимфоцитоз, $\times 10^9/\text{л}$	$1,85 \pm 0,09$	$1,53 \pm 0,5^*$	$1,74 \pm 0,12^{**}$
CD3 Т-лимфоциты, %	$66,8 \pm 1,0$	$63,4 \pm 3,4$	$68,0 \pm 2,4$
CD4 Т-лимфоциты, %	$38,8 \pm 1,3$	$31,9 \pm 3,6$	$39,0 \pm 2,3$
CD8 Т-лимфоциты, %	$26,0 \pm 1,0$	$23,7 \pm 2,9$	$28,3 \pm 2,1$
CD4/CD8	$1,63 \pm 0,09$	$1,92 \pm 0,4$	$1,62 \pm 0,14$
CD20 В-клетки, %	$11,0 \pm 0,9$	$13,6 \pm 2,8$	$11,8 \pm 1,2$
HLA-DRhigh моноциты, %	$54,6 \pm 2,7$	$33,0 \pm 3,6^*$	$52,5 \pm 2,8^{**}$
Пролиферация, имп/мин			
Спонтанная	1630 ± 215	1490 ± 180	1690 ± 130
КонА-индуцированная	59240 ± 3990	$32770 \pm 3400^*$	$56840 \pm 2380^{**}$
ИБКонА	$36 \pm 3,2$	$19,3 \pm 3,0^*$	$34,1 \pm 2,8^{**}$
Анти-CD3-индуцированная	34730 ± 1950	$25280 \pm 3070^*$	$34980 \pm 29600^{**}$
ИБCD3-мАТ	$31,0 \pm 2,6$	$21,4 \pm 1,7^*$	$29,3 \pm 1,9^{**}$

Примечание. * — $pU < 0,01$ — достоверность различий по сравнению со здоровыми донорами;
** — $pU < 0,01$ — достоверность различий показателей пациенток с УГИ до и после ЭАИТ (PU — непараметрический критерий Вилкоксона—Манна—Уитни).

хорошая переносимость метода, отсутствие побочных эффектов, которые бы заставили прекратить терапию. В контрольной группе пациенток после курса антибактериальной терапии излечения удалось добиться лишь у 58,3 % (n=14). После проведения экстракорпоральной антибиотико- и иммунотерапии у всех пациенток отмечена положительная динамика иммунологических показателей: нормализация показателя содержания лимфоцитов (табл. 1), повышение HLA-DRhigh моноцитов с $33,0 \pm 3,6$ до $52,5 \pm 2,8$ % (pU < 0,01); восстановление пролиферативной активности (возрастание показателя КонА-индуцированной пролиферации с 32770 ± 3400 до 56840 ± 2380 имп/мин; pU < 0,01).

Выводы

1. ЭАИТ характеризуется высокой эффективностью, хорошей переносимостью и может быть рекомендована в качестве метода выбора при неэффективности традиционных методов лечения хронической персистирующей урогенитальной инфекции.

2. Преимуществами метода ЭАИТ являются: снижение курсовой дозы антибиотика; возможность проведения монотерапии антибиотиками широкого спектра; иммунокорректирующий эффект метода, позволяющий достичь результата у больных, рефрактерных к предыдущим курсам парентерально вводимых антибиотиков.

ЛИТЕРАТУРА

- Алексеев А. А., Белобородов В. Б., Гельфанд Б. Р. и др. Рекомендации по классификации, диагностике, профилактике и лечению сепсиса // *Consilium medicum*. 2002. Приложение 1. С. 10—12.
- Иванников Н. Ф., Уткин Е. В., Орлов А. Б., Еремин А. И. Современные принципы интенсивной терапии гнойно-септических осложнений после операции кесарева сечения // *Анест. и реаниматол.* 2000. № 3. С. 54—56.
- Интенсивная терапия. М., 1998.
- Колесниченко А. П., Грицан А. И., Грицан Г. В., Скоробогатов А. Ю. Возможности интенсивной терапии синдрома системного воспалительного ответа при гнойно-септических осложнениях в акушерстве и гинекологии // *Анест. и реаниматол.* 2003. № 2. С. 34—37.
- Лукач В. Н. Акушерско-гинекологический сепсис: оценка тяжести состояния и интенсивная терапия // *Вест. инт. терапии.* 2000. № 4. С. 34—36.
- Новикова О. Н., Орлов А. Б., Ушакова Г. А., Иванников Н. Ф., Попова Н. Б. Эфферентные методы в терапии послеродовых и послеоперационных осложнений // *Анест. и реаниматол.* 2003. № 2. С. 52—54.
- Норкин М. Н., Леплина О. Ю., Тихонова М. А., Тюрин И. Н. и др. Роль апоптоза и анергии Т-клеток в патогенезе гнойно-септических заболеваний // *Мед. иммунология.* 2000. Т. 2, № 1. С. 35—42.
- Останин А. А., Зайнутдинов Ю. Г., Стрельцова Е. И., Овечкин А. В. и др. Хирургический сепсис. II. Эффективность иммунотерапии рекомбинантным интерлейкином-2 // *Вест. хирургии.* 2002. Т. 161, № 4. С. 79—84.
- Останин А. А., Леплина О. Ю., Тихонова М. А., Шевела Е. Я. и др. Цитокин-опосредованные механизмы развития системной иммуносупрессии у больных с гнойно-хирургической патологией // *Цитокины и воспаление.* 2002. Т. 1, № 1. С. 38—45.
- Серов В. Н., Пасман Н. М., Бурухина А. Н. и др. Синдром системной воспалительной реакции при критических состояниях в акушерской клинике // *Актуальные вопросы акушерства и гинекологии.* 2001/2002. Т. 1, № 1. С. 85—86.
- Симбирцев А. С., Попович А. М. Сфера применения рекомбинантного интерлейкина-1 бета при лечении больных с иммунодефицитными состояниями при травме и сепсисе // *Анест. и реаниматол.* 1996. № 4. С. 76—78.
- Черных Е. Р., Леплина О. Ю., Тихонова М. А. и др. Цитокиновый баланс в патогенезе системного воспалительного ответа: новая мишень иммунотерапевтических воздействий при лечении сепсиса. // *Мед. иммунология.* 2001. Т. 3, № 3. С. 415—429.
- Bone R. C., Balk R. A., Cerra F. B. et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis // *Chest.* 1992. Vol. 101. P. 1644—1655.
- Bone R. C., Godzin C. J., Balk R. A. Sepsis: a new hypothesis for pathogenesis of the disease process // *Chest.* 1997. Vol. 112. P. 235—243.
- Cogos C. A., Drosou E., Bassaris H. P., Skoutelis A. Pro- versus anti-inflammatory cytokine profile in patients with severe sepsis: a marker for prognosis and future therapeutic options. // *J. Infect. Dis.* 2000. Vol. 181, № 1. P. 176—180.
- Entrican G. Immune regulation during pregnancy and host-pathogen interactions in infectious abortion // *J. Comp. Pathol.* 2002. Vol. 126. P. 79—94.
- Kox W. J., Bone R. C., Krausch D. et al. Interferon-gamma in the treatment of compensatory anti-inflammatory response syndrome. A new approach: proof of principle // *Arch. Intern. Med.* 1997. Vol. 157, № 4. P. 389—393.
- Langer-Gould A., Garren H., Slansky A. Late pregnancy suppresses relapses in experimental autoimmune encephalomyelitis: evidence for a suppressive pregnancy-related serum factor // *J. Immunol.* 2002. Vol. 169. P. 1084—1091.
- Lim K. J., Odukoya O. A., Ajjan R. A. The role of T-helper cytokines in human reproduction // *Fertil. Steril.* 2000. Vol. 73. P. 136—142.
- Ostanin A. A., Nikonov S. D., Chernykh E. R. Cytokine-based immunotherapy of severe and generalized surgical infections // *Crit. Care International.* 1996. № 11—12. P. 13—17.

Chernykh E. R., Ostanin A. A., Honina N. A., Drobinskaya A. N., Pasman N. M., Bezmenova S. I., Demina S. G., Nikonov S. D., Dudareva A. V.

Extra corporal antibiotic- and immunotherapy in treatment of patients suffering by chronic recidivist urogenital infections

Evaluation of the immunological features of patients suffering by chronic recidivist urogenital infections was shown of the laboratory sings of secondary immunodeficiency. We revealed T-cell and monocytes immunodeficiency, reducing of T-cells activity proliferation Positive clinical and immunological effect was achieved after use of extra corporal antibiotic- and immunotherapy in treatment. Obtained data suggest should be allowed for optimization of extra corporal antibiotic- and immunotherapy in treatment of patients suffering by chronic recidivist genital infections.